# UNIDAD DE INFORMACION MEDIO AMBIENTAL (U I M A) BIBLIOTECA ESPECIALIZADA

## UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLOGICAS Y AGROPECUARIAS



"DISPONIBILIDAD NUTRICIONAL DE TRES ESPECIES SILVESTRES DE Lupinus (LEGUMINOSAE) DEL ESTADO DE JALISCO".

TRABAJO QUE CON CARACTER DE T E S | S | S | S | S | P R E S E N T A : EL C. BIOL. MARIO ALBERTO RUIZ LOPEZ PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS DE LA NUTRICION ANIMAL DIRECTOR DE TESIS: DR. HUGO CASTAREDA VAZQUEZ A S E S O R E S : M.C. ESTHER ALBARRAN RODRIGUEZ M.C. VIRGILIO ZUNIGA PARTIDA GUADALAJARA, JALISCO AGOSTO DE 1993.



#### DEDICATORIA

A DIOS POR CONCEDERME VIVIR

CON AMOR A MI ESPOSA E HIJOS: MARTHA, ALBETO RAYMUNDO Y GIOVANNI ABRAHAM. Por su comprensión y amor estimulante.

CON CARIÑO Y TODO MI RESPETO A MIS PADRES Y HERMANAS: ESTHELA Y MARIO, MARTHA ANGELICA, YOLANDA, ALMA GLORIA Y ESTHELA, Por su apoyo en los momentos más dificiles y darme ejemplo de honradéz y trabajo.

#### **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad de Guadalajara, por haberme dado la oportunidad de haberme formado en sus aulas y brindarme la oportunidad de serlre útil a la sociedad.

A la Mtra. Luz Maria Villarreal de Puga, M.C. Martín P. Tena Meza asi como a la M.C. Laura Guzmán Dávalos, por haberme brindado las facilidades para la elaboración de esta tesis.

A mi director y asesores de tesis: Dr. Hugo Castañeda V., M.C. Esther Albarran y M.C. Virgilio Zuñiga P. por su colaboración y orientación al presente trabajo.

A mis amigos y compañeros del laboratorio de biotecnología: Fransisco, Conrado, Jesús, Ramón y todos aquellos que de alguna manera contribuyeron a la realización del trabajo.

A la Ing. Jaqueline y al Sr. Tino Granata por su colaboración en la descripción taxonómica y ayuda en la elaboración gráfica de la tesis.



EL PRESENTE TRABAJO FORMA PARTE DEL PROYECTO TITULADO "INCORPORACION DE LEGUMINOSAS SILVESTRES DE GRANO A LA ALIMENTACION HUMANA Y/O ANIMAL". QUE FUE APROBADO POR LA SECRETARIA DE EDUCACION PUBLICA, MEDIANTE EL CONVENIO NO 91-01-14-001-982.

### CONTENIDO

	PAGINA
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
JUSTIFICACION	30
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	31
HIPOTESIS	32
OBJETIVO GENERAL	33
OBJETIVOS PARTICULARES	33
MATERIAL Y METODOS	34
RESULTADOS	46
DISCUSION	73
CONCLUSIONES	90
BIBLIOGRAFIA	91

#### RESUMEN

presente trabajo se estudio la localización y En el distribución en el Estado de Jalisco de las especies del género Lupinus, para conocer las tres más abundantes y accesibles, aunado a esto se obtuvieron datos climatológicos de las localidades donde se realizaron las colectas de los especimenes para conocer los, parametros de precipitación pluvial y temperatura y establecer su viabilidad de cultivo. En base al número de localidades donde crecen y a la abundancia dentro de las mismas, L. exaltatus, L. reflexus y L. mexicanus fueron las especies con mayor distribución en Jalisco y apropiadas para el estudio. L. exaltatus colectada en el municipio de Sn. Gabriel a 2,000 msnm con una precipitación pluvial y temperatura media anual de 741.6 mm y 12.1°C respectivamente, *L. reflexus* se colectó en Cd. Guzmán a 2940 msnm con 695.4 mm y 19.5°C de precipitación y tempertura media anual, L. mexicanus se colectó en Yahualiaca a 1750 msnm con precipitación y temperatura media anual de 693.1 y 18.4°C. A las plantas colectadas se separó el follaje, vainas y semillas para practicarles por separado un análisis químico proximal, fracciones de fibra y digestibilidad "in situ", en las tres especies; resaltando el alto contenido de proteínas en las semillas de las tres especies con 38.4, 38.8 y 36.7 % respectivamente, así como su digestibilidad (67.3, 55.2 y 69.4%) superior al leguminosas silvestres reportadas. En las semillas se evaluó el contenido de aminoácidos resultando aceptables y notandose la deficiencia en metionina, cistina y triptófano entre otros. La presencia de sustancias tóxicas y antinutricionales en las semillas como hemaglutininas, inhibidores de la tripsina y glucósidos cianogénicos (como HCN) no fue significativo para causar alguna alteración toxicológica, sin embargo se cuantificaron altos porcentajes de alcaloides (1.4, 2.1 y 8.4%) que podrían ocasionar algún problema si no son disminuidos o eliminados para su utilización en la alimentación humana o animal.

## INTRODUCCIÓN

La producción intensiva de proteína animal en los países subdesarrollados es baja, debido principalmente al alto costo de convertir la proteína vegetal en animal, lo que ocasiona una malnutrición y desnutrición que afecta al 60% de la población, por tal motivo diversos estudios se han encaminado a obtener alimentos de origen vegetal, ricos en proteínas y de bajo costo 50.

Esta creciente demanda de alimentos para consumo humano y animal hace necesario aumentar la producción agrícola de cultivos convencionales y no convencionales en un futuro cercano.

De los vegetales que más prometen por su alto contenido proteínico, se encuentran las especies de la Familia Leguminosae 115.

Después de las gramíneas las leguminosas son la segunda fuente de alimento para el hombre y sus animales domésticos; por lo que en las últimas décadas se han invertido grandes recursos para la producción de arroz, trigo, maíz, sorgo y cebada, mientras que sólo dos leguminosas, la soya y el cacahuate han recibido atención adecuada 115.

Las leguminosas han desempeñado un papel importante en la dieta de millones de personas y para muchas de ellas constituyen la fuente principal de proteínas. En la alimentación, convinar cereales y leguminosas da lugar a una mezcla de proteínas de buena calidad, ya que las proteínas de las gramíneas cubren la carencia de aminoácidos en la leguminosas. El hombre durante siglos ha utilizado empíricamente este proceso, al incorporar en su dieta

estos vegetales simultáneamente; un ejemplo es la ingestión de maíz y frijol realizada en nuestro país 35, 115.

Las leguminosas se cultivan en todo el mundo, desde los trópicos hasta las zonas templadas y áridas, aportando un 20% del total de proteínas a nivel mundial, por lo que constituyen una fuente nutricional importante %.

De las 18,000 especies de leguminosas que existen en el mundo, menos de 20 son cultivadas y aprovechadas totalmente, por lo que existe un potencial de aprovechamiento enorme para la alimentación humana o animal.

Algunas leguminosas presentan la ventaja de contener altos niveles de proteína de buena calidad y de aceite comestible, además de la habilidad de fijar el nitrógeno atmosférico mejorando con ésto la fertilidad de los suelos.

Las especies del género Lupinus (lupinos) reúnen estas características, por lo que sus semillas han sido consideradas como una buena fuente proteíca para humanos y animales  $^{73}$ .

Debido a ésto actualmente se han domesticado y cultivado ampliamente las siguientes especies: L. albus (lupino blanco), L. angustifolius (lupino azul), L. luteus (lupino amarillo) y L. mutabilis (tarwi). Las tres primeras son Europeas y la última es nativa de América del Sur. Especies de Norteamérica como L. perennis y L. pilosus también se utilizan aunque en menor cantidad y probablemente otras especies fueron empleadas como alimento por el hombre 59, 65, 81.

El principal producto de estas leguminosas es la semilla cuya composición química varía según la especie, los valores reportados son los siguientes <sup>68, 103, 145</sup>:

Análisis químico proximal de cuatro especies de Lupinus

			M.S.	*P.C.	E.E.	F.C.	C. E	.L.N.
L.	albus	%	91.9	39.0	11.0	6.5	4.1	39.4
L.	luteus		90.0	42.0	5.0	16.5	3.6	32.9
L.	angustifolius		88.2	34.1	6.0	15.0	3.3	41.7
L .	mutabilis		90.2	43.4	18.0	9.0	3.6	26.4

<sup>\*</sup> Promedios expresados en base seca (semilla completa).

M.S.= materia seca, P.C.= proteína cruda, E.E.= extracto etéreo, F.C.= fibra cruda, C.= cenizas, E.L.N.= extracto libre de nitrógeno.

Las proteínas de estas leguminosas pueden alcanzar valores superiores al 40%, casi el doble de la mayoría de las leguminosas consumidas por el hombre y los animales domésticos y semejante a la soya.

El contenido de grasa o aceite también es alto, hasta un 20% en *L. mutabilis*, que es similar al de la soya y mayor que el resto de las leguminosas (a excepción del *Arachis hypogaea* o cacahuate con 40%) <sup>51</sup>.

La composición de macro y micro minerales ha sido investigado por diversos autores y encontraron que las semillas tienen bajos niveles de calcio concentrado en la testa y valores aceptables de fósforo que se encuentra en el grano, Hove (citado por Hill, 1977) no encontró fósforo en la testa de *L. angustifolius y L. luteus*) <sup>73</sup>.

En el siguiente cuadro se puede apreciar el contenido de macro y microminerales en semillas de algunos lupinos <sup>73</sup>.

Macro M (%)	L. albus	L. angustifolius	L. luteus	L.mutabilis
Calcio	0.03-0.24	0.19-0.26	0.06-0.27	0.18
Magnesio	0.12-0.26	0.13-0.31	0.19-0.28	0.43
Fósforo	0.18-0.58	0.27-0.40	0.36-0.79	0.88
Potasio	1.06	0.85-1.15	1.07	1.63
Sodio	0.95	0.06	0.03	1.21
Micro M (mg/	kg)			
Aluminio	10	15	15	12
Boro	16	16	16	20
Cobalto	0.04-1.45	1	0.02-0.7	*
Cobre	3.5-14.2	1.2-7.0	1.4-18.1	6.6
Hierro	10-120	55-75	58-150	76
Manganeso	164-3397	10-89	10-180	56
Molibdeno	1.0-6.7	0.1-6.1	1.0-13.4	*
Zinc	28	34-43	54-72	59

<sup>\*</sup> No detectados

Las semillas de los lupinos contienen del 28.4 al 46.3% de carbohidratos; la cáscara o cubierta presenta el mayor contenido (70-80%), pero la mayoría de éstos son polisacáridos estructurales. El contenido de almidón es muy bajo, del 0.3 al 7.3%, sin embargo son ricos en constituyentes de paredes celulares <sup>28</sup>.

Se ha determinado la presencia de azucares como sucrosa, rafinosa, estaquiosa, verbascosa y alfa-galactósidos de alto peso molecular.

L. luteus y L. angustifolius son ricos en hemicelulosa y existe además xilosa, arabinosa y pequeñas cantidades de galactosa y ácido urónico, además de glucosa, ramnosa y fucosa <sup>28</sup>.

En semillas de L. albus y L. luteus el mayor componente polisacarido es el beta-(1-4)-galactan, una mezcla de D-galactosa, L-arabinosa y ácido galacturónico  $^{28}$ .

Además se ha encontrado otro tipo de compuestos energéticos, tales como polifenoles (presentes en L. arboreus y L.nootkatensis en un 13 y 8.6% respectivamente) e hidrocarburos (0.5 y 0.3% en las mismas especies) en forma de goma y cera  $^{136}$ .

De la fibra total presente en las semillas, cerca del 85% se encuentra en la testa; esta fibra contiene niveles bajos de lignina (0.3-0.4%), altos niveles de celulosa (44-51%) y de 12 a 14% de hemicelulosa.

La fracción lipídica de las semillas consiste principalmente de ácidos grasos insaturados, en un rango del 83 al 91% del total de los ácidos grasos, como se puede apreciar a continuación:

Composición de ácidos grasos en semillas de lupinos 51, 119.

% Ac. grasos L	. albus	L. angustifolius	L. luteus	L.mutabilis
Palmítico(16:0)	8.3	10.2	6.3	10.7
Esteárico(18:0)	2.5	5.5	2.4	7.3
Oleíco(18:1)	55.0	32.9	25.4	50.9
Linoleíco(18:2)	17.7	43.5	49.4	28.1
Linolénico(18:3)	9.1	5.0	8.3	2.4
Araquídico(20:0)	2.8	0.7	2.0	0.9
Behénico(22:0)	2.7	1.7	6.0	0.6
Epúdico(22:1)	2.4	0.0		0.0

A la proteína de los lupinos en un principio se le llamó conglutina. Posteriormente ésta fue separada en alfa y beta conglutina, a las que se estimó el contenido de nitrógeno en un 17.42 y 18.36% respectivamente.

Después se calculó que el contenido de nitrógeno varía desde un 5.3 para *L. angustifolius* a 7.2% para *L. luteus*. Debido a ésto Hove (citado por Hill, 1977) sugiere que el valor de 5.05 debe ser usado en lugar del convencional 6.25 para estas especies.

Una gran cantidad del nitrógeno no proteíco, consiste en péptidos cortos, aumentando considerablemente el nitrógeno aminado (11.3, 16.9 y 17.4% del nitrógeno total en L. angustifolius, L. albus y L. luteus respectivamente) 73.

La digestibilidad aparente del nitrógeno en rumiantes para L. mutabilis es superior al 80%, similar al de la caseína (87.1%) y mayor al de otras leguminosas como el frijol, chícharo y habas, que

presentan valores abajo del 80% 4.

Los aminoácidos limitantes en estas especies son los azufrados al igual que en la mayoría de leguminosas, sin embargo son ricos en otros aminoácidos esenciales como la isoleucina, leucina y arginina <sup>73</sup>

Golovchenko <u>et al</u> (citados por Hill, 1977) crearon variedades de *L. albus* (mutante Kiev), con el doble de contenido de lisina y posteriormente mejoraron el contenido de aminoácidos sulfurados <sup>73</sup>.

A continuación se puede observar el contenido de aminoácidos en semilla de lupinos en referencia al patron de la FAO <sup>11, 65</sup>.

Aminoácido	L. albus L.	luteus L.	angustifolius L	. mutabilis	FAO
Isoleucina	* 3.8-5.7	3.2-6.2	3.8-4.3	4.3-4.8	3.5
leucina	6.3-9.1	6.1-10.2	6.5-7.3	7.0-7.4	4.0
lisina	3.0-5.8	3.8-6.4	4.8-5.3	5.3-6.0	5.5
metionina	0.3-0.7	0.57-0.8	0.6	0.4	2.2
cistina	1.6-2.5	1.8-2.88	1.3-2.4	1.2-1.6	-
met + cist	2.3-2.8	2.3-3.0	2.3-3.1	2.4-2.7	3.5
fenilalanina	a 3.5-4.5	3.5-4.4	3.7-4.1	3.4-4.3	-
tirosina	4.2-5.2	3.4-3.8	2.7-5.2	3.5	-
fen + tir	8.1-8.9	6.9-7.1	6.6-8.9	7.9	6.0
valina	3.4-5.0	2.9-4.6	3.2-4.0	3.5-4.2	4.0
treonina	3.0-4.7	2.7-4.0	3.2-3.5	3.5-44.0	4.0
triptófano	0.8-1.3	0.8-1.0	0.9	0.7	1.0
alanina	2.83-3.1	2.5-4.3	* *	* *	-
tirosina	4.4	2.3-4.3	**	3.6	•
arginina	9.4-10.3	28.4	8.9	**	-
ác. aspárti	co 9.4-11.4	12.8-15.0	**	**	-
glutamina	20.8-30.8	22.5-24.58	8 **	**	-
glicina	3.26-3.4	2.8-4.58	**	**	-
histidina	1.88-3.1	2.7-8.8	2.9	**	-
prolina	3.8-4.62	3.3-4.77	**	* *	-
serina	3.78-4.8	3.5-6.54	**	**	-

<sup>\*</sup> g/16 g de Nitrógeno

<sup>\*\*</sup> Valores no determinados.

En general todos las proteínas de los lupinos presentan una baja Relación de Eficiencia Proteíca (P.E.R.), del 0.70 y con semilla amarga no hay crecimiento, pero al adicionarles metionina este valor aumenta hasta un 2.09, 3.05, 2.30 y 2.89 en L. angustifolius, L. mutabilis, L. Luteus y L. albus respectivamente (valores similares al de la caseína, de 2.5); los valores en semillas crudas y extraídas con agua son similares, por lo que estos tratamientos no mejoran ni disminuyen la calidad de las semillas 11, 45, 145.

El valor biológico (VB), la digestibilidad verdadera (D) y la utilización neta de proteínas (NPU) en las semillas de los lupinos varían entre especies, variedades y tratamientos a los que son sometidas, normalmente estos valores son bajos, sin embargo al igual que el P.E.R. al adicionarles metionina aumentan comparativamente a los de la caseína, como se puede apreciar en el cuadro siguiente 73, 91, 145:

Fuente de proteína %	D.	N.P.U.	V.B.
Caseína	91.9	68.3	74.3
L. mutabilis s. cocida y desamargada con agua	90.8	34.9	38.6
L. mutabilis s.cocida y des.+ 0.2% met.	92.0	61.2	66.5
L. luteus Variedad amarga Harina (H)	91.0	*	52.9
L luteus V. amarga (H.)+ 0.2 % met.	*	*	65.3
L. luteus V. amarga Extracto protéico (E.P.)	93.1	*	60.5
L. luteus V. amarga E.P.+ 0.2% met.	*	*	65.8
L. luteus V. Afus (dulce) Harina	96.5	*	70.9

L.	luteus V. Afus (H.) + 0.2% met.	*	*	72.3
L.	luteus V. Afus (E. P.)	99.9	*	64.2
L.	luteus V. Afus (E. P.) + 0.2% met	*	*	71.9
L.	luteus V. Popularny (dulce) H	92.2	*	56.4
L.	luteus V. Popularny (H.) + 0.2% met	*	*	64.2
L.	luteus V. Popularny (E.P.)	99.9	*	53.6
L.	luteus V.Popularny (E.P.) + 0.2% met.	*	*	63.9

<sup>\*</sup> valores no reportados.

El contenido de vitaminas es similar al de otras leguminosas, pero inferior a las hojas de especies forrajeras. Composición de vitaminas en L. angustifolius  $^{73}$ :

## mg/kg de semilla

Beta-caroteno	3.5
Alfa-tocoferol	2.2
Tiamina	5.3
Riboflavina	2.8
Biotina	0.04
Acido fólico	0.4
Colina	3035
Niacina	36
Acido pantoténico	1.6

A pesar del alto valor nutricional de estas leguminosas, la presencia de factores tóxicos y antinutricionales como hemaglutininas, glucósidos cianogénicos, inhibidores de la tripsina y principalmente alcaloides son una limitante para su aprovechamiento total en la alimentación humana o animal.

#### **HEMAGLUTININAS**

También conocidas como fitohemaglutininas o lectinas, son compuestos protéicos que aglutinan a los glóbulos rojos; algunas se unen a azucares y otra contienen grupos sulfhídrilos, presentan una actividad especifica con ciertas moléculas de azúcar, por lo que la aglutinación se de probablemente por la afinidad de las lectinas con ciertos receptores de la membrana de los eritrocitos.

Estos compuestos en altas concentraciones son tóxicos a los linfocitos, debido al daño que producen al remover las glicoproteinas de la membrana <sup>47</sup>.

Existe especificidad de aglutinación para ciertas especies animales y con varios grupos sanguíneos para determinada especie de lequminosa  $^{79}$ .

No todas las lectinas son tóxicas, y para que presenten toxicidad al ser consumidas es necesario que resistan el proceso de digestión. Sin embargo, en animales de experimentación que consumieron dietas a base de leguminosas con alto contenido de lectinas se han observado diarreas, inflamación de células epiteliales del intestino, hemorragia del tejido linfático, daños hepatocelulares, reducción en la absorción de aminoácidos,

hipoglucemia, perdida de peso, retardo en el crecimiento y en algunos casos la muerte.

El efecto tóxico de estos compuestos se relaciona con su acción sobre la absorción intestinal, ya que por su afinidad con los receptores celulares de la mucosa gástrica, interfiere con la absorción de nutrientes <sup>97</sup>.

La hemaglutinina de *Canavalia ensiformis* (concanavalina A) es teratogénico en embriones de conejo y produce anormalidades en las extremidades <sup>147</sup>.

En los bovinos estos compuestos no son degradados y los animales desarrollan anticuerpos en respuesta a estas sustancias.

La ingestión oral del 1% de hemaglutinias purificadas causa disminución del crecimiento en ratas. Además se tiene determinado en esta especie, la  $LD_{50}$  de la phaseolotoxina A (hemaglutinina del frijol) en 50 mg/kg de peso  $^{97,\ 147}$ .

La posible función de estos compuestos en los vegetales es que sirven como fijadores de carbohidratos facilitando a la planta para que almacene material de reserva en el cotiledon de las semillas para su germinación y desarrollo temprano <sup>97</sup>.

#### GLUCOSIDOS CIANOGENICOS

Compuestos sintetizados por ciertos vegetales que por hidrólisis enzimática liberan ácido cianhídrico (HCN). Se ha detectado esta sustancia en más de 800 especies de 70 a 80 familias incluyendo a las leguminosas, considerados como metabolitos secundarios y como sustancias de defensa de las plantas contra sus

depredadores. Sólo cuatro glucósidos cianogénicos son de importancia toxicológica: la amigdalina, durrina, lotaustralina y linamarina 32, 147.

La liberación del HCN en la planta depende de la presencia de agua y de la enzima beta-glucosidasa, que se encuentra extracelularmente y actúa solamente después de la ruptura del tejido vegetal.

La toxicidad de los glucósidos cianogénicos esta generada por la presencia del ión -CN (producto de la disociación del HCN ) el cual es un potente inhibidor respiratorio, especificamente de la enzima citocromo oxidasa la cual participa en la catálisis de la cadena respiratoria terminal de organismos aeróbios <sup>147</sup>.

En los humanos la dosis letal del HCN se tiene en 0.5-3.5 mg/kg de peso por vía oral, los síntomas son adormecimiento, ligeros mareos, seguidos por confusión mental, cianosis, temblores, convulsiones, coma y finalmente la muerte.

Los rumiantes son más susceptibles de intoxicarse por estos compuestos que los monogástricos, debido a la actividad inhibitoria enzimática que ocurre en el rumen, lo cual ocasiona disnea, jadeo, incordinación de movimientos, postración convulsiones y muerte; además de que la acidez estomacal de los monogástricos ayuda a destruir la enzima que hidroliza a los glucósidos. Dósis de 20 mg de HCN/100 g de muestra, o de 2 a 2.3 mg HCN/kg de P.C. es considerado como tóxico para todas las especies animales <sup>76, 147</sup>.

#### INHIBIDORES DE LA TRIPSINA

Compuesto protéico que pertenecen al grupo de inhibidores de proteasas, actúa inhibiendo enzimas proteolítica como la tripsina y en ocasiones la quimiotripsina, lo que obstaculiza los procesos normales de digestión en el tracto intestinal. Los inhibidores trípsicos son probablemente los de mayor distribución en los vegetales y particularmente en las leguminosas, donde juegan importantes funciones de protección contra insectos o invasión de microorganismos <sup>137</sup>.

En los rumiantes aparentemente no hay efectos tóxicos drásticos, pero en monogástricos causa hipertrófia pancreática, alta secreción de enzimas pancreáticas, contracción de la vesícula biliar, reducción del crecimiento y hasta la muerte 42, 76, 137, 148.

#### ALCALOIDES

Son compuestos nitrogenados que constituyen un grupo muy heterogéneo, se presentan abundantemente en el reino vegetal y presentan acción fisiológica más o menos intensa sobre el organismo. La mayoría de los alcaloides son sólidos incoloros, aunque algunos son líquidos amarillos o rojos, pueden presentarse como sales de ácidos orgánicos o en forma de glucósidos de la rafinosa, galactosa y glucosa <sup>43</sup>.

Se consideran a los alcaloides como productos terminales del metabolismo del nitrógeno, como metabolitos secundarios; se les asocia con la protección vegetal contra depredadores (insectos y animales herbívoros). Algunos estiudios revelan una participación

de los alcaloides en los fenómenos de óxido-reducción, por lo que se cree que estos compuestos intervienen en el crecimiento vegetal 43,80

Los alcaloides se distribuyen en toda la planta, en ocasiones sólo aparecen en cierta etapa del crecimiento, época del año o en determinadas condiciones fisiológicas.

En las leguminosas son frecuentes los alcaloides en varios géneros, como en *Lupinus*.

Los alcaloides se clasifican de acuerdo a su estructura química, los del tipo quinolizidinos y piperidinos son lo que se han identificado en los lupinos; estos alcaloides parecen no ser acumulativos y los animales pueden consumir grandes cantidades progresivas de lupinos, cuidando de no ingerir dósis letales 147.

Por cromatografía de gases y espectrofotometría de masas se han identificado más de 60 alcaloide en los lupinos, los que se encuentran más frecuentemente son lupanina, esparteina, isolupanina, angustifolina, lupinina y L-17-hidroxilupanina <sup>87, 104, 130</sup>. Cabe señalar que la lupanina y esparteina no son exclusivos de los lupinos, ya que estos alcaloides se han detectado en otras leguminosas y en especies de otras familias <sup>165</sup>.

La lupanina y esparteina son los más tóxicos, mientras que la isolupanina, angustifolina y lupinina son menos tóxicos y la L-7-hidroxilupanina es 10 veces menos tóxicos que los dos primeros  $^{89}$ . En ratas la LD $_{50}$  para lupanina es de 1464 mg/kg administrada oralmente y de 177 mg/kg inyectada en forma intraperitoneal, para 13-hidroxilupanina la LD $_{50}$  es de 199 mg/kg inyectada

intraperitonealmente 126.

Contenido de alcaloides en semillas de Lupinus 145.

9	on	base	0000
6	en	pase	seca

L. mutabilis (desamargado.) no detect
---------------------------------------

L. mutabilis (Var. semi-dulce) \*0.47

L. albus (Var.dulce) \*\*0.051

L. luteus (var. dulce) \*\*0.091

L. angustifolius \*\*0.05

\* alcaloides totales

\*\* como lupanina

Antes de la domesticación de los lupinos, las especies consumidas eran amargas. Las poblaciones de muchas partes de Europa, Africa y América del sur aprendieron a través del tiempo a remover los alcaloides de las semillas, utilizando agua para solubilizarlos, las semillas se desamargaban al cocerlas después de ser remojadas en agua o por medio de un lavado prolongado. Este simple proceso proporciona un producto prácticamente libre de alcaloides <sup>2</sup>.

Es debido a ésto que en la actualidad se han realizado diversos estudios, como el uso de diferentes tratamientos térmicos, para disminuir o eliminar los alcaloides, por ser éstos los principales limitantes para utilizar los lupinos como alimento, ya que tanto las hemaglutininas como los inhibidores de la tripsina y glucósidos cianogénicos no se encuentran en cantidades importantes y son eliminados con la cocción.

El desengrasado con hexano o con una mezcla de agua-etanol utilizado en el proceso de extracción de aceite, remueve los alcaloides, por lo que actualmente se esta desarrollando en forma experimental este proceso, en el que los alcaloides pueden ser aislados y utilizados para otros propósitos 18.

Además se tienen reportes del uso de la fermentación con Rhizopus oligosporus y lactobacilos para disminuir la presencia de alcaloides a niveles inicuos 1, 23.

Así mismo, en Alemania y Polonia a principios de siglo se aislaron y seleccionaron variedades de L. luteus y L. angustifolius como mutantes naturales con bajo contenido en alcaloides, a las que llamaron variedades dulces  $^{2, 59, 82}$ .

A partir de entonces se ha extendido el estudio para el cultivo y utilización de estas leguminosas, por lo que se desarrollan programas de mejoramiento fitogenético para incorporar estas leguminosas en la alimentación humana y como suplemento protéico en dietas para animales, en varios países del mundo 65.

En dietas para cerdos se tiene reportado el uso de lupinos desamargados reemplazando a cereales, leche descremada y soya 73.

Se ha encontrado que se puede reemplazar hasta un 25% la harina de soya por harina de *Lupinus angustifolius* desamargado y descascarado sin que se altere el crecimiento y conversión alimenticia y hasta un 50% si se adiciona lisina y metionina <sup>66, 117</sup>.

En otros trabajos con cerdos se ha demostrado que en dietas a base de cereales se puede reemplazar toda la proteína animal con harina de *L. luteus* en cerdos de 45 kg a finalización sin diferencias significativas en las características de la canal.

Sin embargo otros investigadores reportan bajo consumo alimenticio y ganancia de peso seguida de diarrea, parálisis y ablandamiento de la canal, cuando toda la harina de pescado de la dieta es reemplazada con 25% de harina de *L. luteus*. Los autores atribuyen estos pobres resultados a la deficiencia de lisina y metionina 16, 88, 95, 96.

También se han utilizado los lupinos descascarados, desengrasado y ensilados como fuente proteíca para engorda y mantenimiento de cerdas gestantes 34, 117.

El valor biológico protéico de la semilla para cerdos se ha reportado en 53% en L. angustifolius, 60% en L. luteus y de 67 a 71% para L. albus  $^{73}$ .

El tratamiento térmico a las semillas no aumenta la disponibilidad de lisina ni el contenido de energía neta en cerdos 17.

Hill (1977) señala que no es de dudarse el uso de lupinos en las raciones de cerdos como una buena fuente de proteína, sin embargo se requieren de estudios más amplios sobre el efecto de la remoción de la testa y de los tratamientos térmicos sobre la calidad nutricional, así como la identificación de nuevas especies de lupinos que puedan ser útiles en la producción porcina 73.

En dietas para aves Rebdev (citado por Hill, 1977) encontró

que la sustitución de avena por harina de lupinos aumenta la producción de huevo en un 13-15%. Asimismo se tiene que raciones con 50% de *L.angustifolius* y 50% de harina de carne aumenta el índice de postura (69%) que en gallinas que consumieron sólo lupinos (58%) o harina de carne (63%) como suplemento protéico <sup>24,</sup> <sup>73.</sup>

En dietas con 0, 10 y 20% de *L. angustifolius* adicionando 2% de metionina, no se encontraron diferencias significativas en la producción de huevo durante 100 días/gallina (69.5 a 70.8 huevos), peso del huevo (58.2 a 58.6 g) y peso total de la producción de huevo (6.8 a 7.0 kg/gallina). El consumo alimenticio fue significativamente más alto con 10 y 20% de lupino <sup>24, 94, 163</sup>.

Sin embargo, se ha encontrado que existe un sabor amargo en el huevo adicionando más del 20% de harina de *L. mutabilis* var. amarga sin tratamiento, ésto debido a la presencia de los alcaloides, ya que probablemente un 10% de los mismos se deposita en la yema del huevo <sup>159, 160</sup>.

En la producción de pollo de engorda se han realizado estudios sustituyendo hasta un 30% a la harina de soya por harina de lupinos dulce adicionado con 0.1% de metionina y 0.045% de lisina, sin diferencias en la ganancia de peso y conversión alimenticia, ni efectos adversos en hígado, sangre y composición de la canal 112, 113, 127, 151

Se han realizado estudios para valorar el efecto del descascarado y cocido sobre el valor nutricional de L. angustifolius en pollos incluyendo un 22% en la dieta en la cual se

observó un mayor peso y conversión alimenticia con las semillas sin cáscara y cocidas que en crudas. El análisis financiero indicó un costo extra de tan sólo 1c /ave por el descascarado 73.

El uso de harina de lupinos suplementado con metionina y lisina es un buen sustituto de la soya en la producción de pollos de engorda, sin embargo si no se eliminan los alcaloides, existe una disminución en el consumo de alimento, crecimiento y conversión alimenticia, por lo tanto hay perdida de peso corporal 63, 113, 171.

Payne (citado por Hill, 1977) encontró en aves un aumento de la energía metabolizable de 6.76 a 8.15 Mj/kg cuando a los lupinos se les sometió a autoclave 5 min a 105° C. La pregerminación o el tratamiento con agua caliente aumenta la energía metabolizable hasta 10.5 Mj/kg <sup>73</sup>.

En estudios con pavos L. angustifolius puede reemplazar el 50% de la proteína vegetal por más de 10 semanas  $^{67}$ .

La digestibilidad de las harinas de L. angustifolius y L. luteus para aves de postura (AP) y cerdos (C) se puede observar a continuación  $^{73}$ :

	L. angustifolius		L. $lu$ :	teus
	AP	С	AP	С
Materia Orgánica %	19-54	78-82	36-58	71-79
Proteína Cruda	78-86	84-93	87-90	87-92
Grasa Cruda	76-97	44-60	65-96	38-66
Fibra Cruda	0-18	0-55	0 - 4	37-65
Extracto Libre de Nitrógeno	0-32	90-91	0-21	81-97

La digestibilidad del ELN en gallinas puede aumentar con tratamientos térmicos, quizá por que el galactan es más disponible para las aves. En cerdos existe una similitud en la digestibilidad de todos los nutrientes, y es más alta que en aves, a excepción de la grasa.

Para rumiantes se ha reportado una mayor digestibilidad proteíca "in situ" en *L. albus* (80.5%) que en la soya (70.5%), además en la producción de leche, el contenido de grasa, proteína y sólidos totales es semejante en dietas con el lupino que con soya como suplementos protéicos, tampoco se encontraron diferencias en estos parámetros al sustituir la soya en 25, 50 y 100% por lupinos 64, 108, 109

En bovinos la digestibilidad "in vivo" aparente, de lupinos extruido es semejante a la de la soya, en materia seca (64 y 62%), extracto etéreo (76.1 y 71%), carbohidratos no estructurales (87.4 y 81.6%) y Fibra neutro detergente (31.6 y 38.2%) y ligeramente menor en proteína cruda (59.1 y 67.1%), pero esta disminución no se refleja en la eficiencia del animal ya que en la ganancia diaria de peso y conversión alimenticia no hay diferencias significativas <sup>83</sup>.

El uso del autoclave aumenta la digestibilidad proteíca "in situ" de los lupinos y es mayor al de otras leguminosas, no siendo así para materia seca, fibra neutro y ácido detergente y extracto etéreo, sin embargo con el tostado existe una mayor retención de nitrógeno e inclusive es más alto que en la soya 4,92.

Con la suplemento de lupinos a borregos en pastoreo se obtienen mejores ganancias de peso y mayor producción de lana que

con gramíneas u otras leguminosas como el chícharo y el haba y puede reemplazar a la soya como suplemento protéico ya sea entera o descascarada <sup>74, 93, 114, 156</sup>.

La energía neta (EN), digestible (ED) y metabolizable (EM) así como la energía requerida para mantenimiento (M), ganancia corporal (G) y lactación (L) para rumiantes es reportada por Mc Dowell (1974), obteniendo los siguientes valores, en base seca (expresados en Mcal/kg):

	Lupinus1	Lupinus1a	Lupinus2	Lupinus3	Lupinus3a
Bovinos (E.D.)	2.86	2.53	2.88	2.71	4.31
Ovinos (E.D.)	2.74	1.62	2.86	4.55	4.66
Bovinos (E.M.)	2.44	2.08	2.36	3.54	*
Ovinos (E.M.)	2.24	2.15	2.35	3.73	3.82
Bovinos(E.NM)	1.40	1.23	1.42	2.58	*
Bovinos(E.NG)	0.28	0.37	0.83	1.60	*
Bovinos(E.NL)	1.52	1.26	1.53	2.65	*

Lupinus1= L. albus, parte aérea, en floración; Lupinus1a= Lupinus albus, parte aérea, en fructificación; Lupinus2= L. luteus, parte aérea, en floración Lupinus3= L.mutabilis, semilla cruda; Lupinus3a= L. mutabilis, semilla cocida.

<sup>\*</sup> valores no reportados

Los resultados de la digestibilidad proteíca (D.P.) y del total de nutrientes digestibles (T.D.N.), en base seca evaluados en distintos animales son los siguientes  $^{103}$ :

Especie	L. albus	L. luteus	L. mutabilis
	Fl. Fr.	Fl.	Scr. Sc.
Bovinos D.P.	% 15.7 10.5	15.5	* *
T.D.N.	64.8 57.5	65.3	* 97.8
Ovinos D.P.	16.5 10.8	16.2	* *
T.D.N.	61.2 59.4	64.9	103.3 105.7
Caprinos D.P.	16.1 10.4	15.8	* *
Equinos D.P.	15.3 10.1	15.0	* *

Fl=floración, Fr=fructificaión, Scr=semilla cruda, Sc= s.cocida

Además se tienen reportes del efecto reproductivo, al suplementar con semillas de lupinos dietas a ovejas en pastoreo, ya que parece ser que la suplementación de energía metabolizable aportada por esta leguminosa, más que el alto contenido de proteínas estimula y aumenta los rangos de ovulación, los porcentajes de partos y además hay más crecimiento de las crías y mayor producción de leche en las madres <sup>22, 36, 124, 156</sup>.

Sin embargo, se debe de considerar que el sobrepastoreo con lupinos ocasiona una enfermedad en borregos conocida como lupinosis, la cual es un desorden hepatotóxico ocasionada por la micotoxina del hongo *Phomopsis leptostriformis y P. rossiana* que parasita al vegetal, y que puede ocasionar inapetencia y hasta la

muerte <sup>8, 31</sup>. Pero esta fungosis se puede prevenir cosechando y almacenando el cultivo después del verano, cuando las condiciones no son propicias para el crecimiento del hongo o se combate con el uso de sustancias alcalinas y con fungisidas <sup>6, 37, 166</sup>.

En otras especies animales como ratas, conejo, cobayos y peces se han realizado trabajos sustituyendo la soya de las dietas por lupinos y donde se ha visto buenos resultados 72, 84, 85.

Se reportan en humanos valores de digestibilidad proteíca y del ELN del 88% y de EE en 51%; la Utilización Neta del Nitrógeno y el Valor Biológico están en 75 y 95% 158.

El uso de las semillas de lupinos como fuente de proteínas para humanos, no sólo depende de su alto contenido nutricional, si no también de su capacidad para ser utilizado e incorporado en los alimentos consumidos por el hombre; para lo cual se ha aislado la proteína para conocer sus características físicas y su comportamiento en los procesos industriales de alimentos, donde se ha visto que existen condiciones de extracción similares a la soya, por lo que se le pudiera emplear en alimentos donde la soya es utilizada 134, 139, 167.

Además algunos estudios con humanos señalan una calidad aceptable y buena palatabilidad al consumir cereales suplementados con lupinos dulce 57, 158.

Por otra parte, se han realizado investigaciones al utilizar lupino dulce en la elaboración de alimentos infantiles, tales como sustitutos lácteos, galletas y pan entre otros, con buenos resultados al elevar el valor nutricional de estos alimentos y no

presentar efectos indeseables 12, 14, 27, 57, 78, 170.

En el Ecuador y Australia el lupino (L. mutabilis y L. luteus) se consume popularmente en distintas formas y en combinación con diversos alimentos  $^{73,\ 135}$ .

En Australia reportan la elaboración de un pellet soluble en agua compuesto por trigo (70%) y lupino (30%), evaluado por la FAO de fácil almacenaje y balanceado nutricionalmente, como un alimento emergente de poblaciones con problemas de desastres naturales <sup>73</sup>.

Jungle (citado por Hill, 1979) reporta las siguientes ventajas de las semillas de lupinos dulces sobre la harina de soya:

- a) Alta capacidad de mezclarse con el trigo mayor hasta en un 50%, sin deteriorar el sabor ni la calidad del horneado en la elaboración de pastas.
- b) Mejora el horneado y la calidad del producto debido a la calidad de su aceite.
- c) Aporta mayores cantidades de carotenos a las dietas.
- d) Mayor aceptabilidad en el consumo por el hecho de no producir flatulencia, comparado con los productos derivados de la soya.

La aparente ausencia de carbohidratos productores de flatulencia indican la posibilidad de incorporarlos en diversos alimentos, sin la necesidad de cambiar los hábitos alimenticios, sobre todo en poblaciones donde es habitual el consumo de leguminosas, y que fácilmente se podría introducir en dietas tradicionales con carne y cereales 73.

Sin embargo, los alcaloides presentan un serio obstáculo para su consumo, ya que se han reportado casos fatales en niños, en los que se estimó consumos de alcaloides de 11 a 25 mg/kg de peso corporal  $^{73, 145}$ . En adultos se han reportado casos no fatales de envenenamiento con dosis de 25-46 mg de alcaloides/ kg de peso. Los síntomas son midriasis, cianósis, parálisis respiratoria, vómitos y disneas  $^2$ . Petterson et al (1987), proponen que valores por debajo del 0.03% de alcaloides y con los valores reportados de LD<sub>50</sub>, son seguros en la dieta humana, debido a que éstos son eliminados rápidamente del organismo  $^{126}$ .

Yañez <u>et al</u> (1979) consideran que el lupino puede contribuir a mejorar la nutrición de poblaciones donde utilizan a esta leguminosa o incluso se podría extender su uso a otros lugares que actualmente no lo consumen <sup>167</sup>.

Por otra parte, los lupinos son ampliamente cultivados tanto en el hemisferio norte como en el sur, en Europa desde Rusia y Polonia hasta los países del Mediterráneo incluyendo España y Portugal; desde Australia hasta Sudáfrica, Sudamérica (principalmente Chile, Perú, Ecuador y Bolivia) y en los Estados Unidos 59, 81, 131, 146, 164

De las cuatro especies mayormente cultivadas, *L. albus* fue probablemente la primera en cultivarse y la más extensamente cultivada en la actualidad. Ya que esta especie se cultiva desde la época de los griegos, también se conocía en Egipto y Mesopotamia, es mencionada por Hipócrates en la dieta humana en el siglo IV A.C.

27

El rendimiento de los lupinos es alto, varia con la especie y el lugar donde se cultiva, llegan a producir hasta 5000 kg de semilla/ha (*L. albus*), valor superior al de otras leguminosas como la soya (con rendimientos de 2000 kg/ha) y el frijol (600-800 kg/ha) <sup>65</sup>.

Debido a la capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico, a los lupinos se les utiliza en cultivos de rotación con gramíneas (cereales y pastos) y normalmente la cosecha de los lupinos se puede realizar con la misma maquinaria que los cereales <sup>59, 81</sup>.

Lupinus mutabilis ha sido cultivada en la región de los Andes desde hace cientos de años por los Incas, sin embargo en la época colonial fue reemplazada por otros alimentos y hoy sólo es cultivada por pequeños productores en tierras marginadas. Su cultivo es por lo general en elevadas altitudes (1800 a 4000 m.s.n.m.), crece en suelos salinos y es tolerante a heladas y seguías 61,62,65.

- L. albus crece en suelos desde medianamente ácidos a ligeramente calcáreos (pH de 4.8 a 8.2), no tolera suelos con encharcamientos, es resistente a heladas y requiere de temperaturas frescas a moderadamente templadas (15-25° C) para su germinación y desarrollo, su máximo rendimiento es cuando la temperatura no excede los 25° C.
- L. luteus es de temporadas calientes, (mayor a 26° C) crece sobre suelos desde ácidos a ligeramente alcalinos (pH de 4.5-8.2), tolera los suelos encharcados y no es muy resistente a las heladas.

L. angustifolius crece sobre suelos bien drenados, moderadamente ácidos a neutros (con pH de 4.9 a 8.0) tolera las heladas y es de temporadas frescas (de 6 a 26.5° C)  $^{2, 65}$ .

## JUSTIFICACIÓN

En nuestro país existe un amplia diversidad ecológica y biológica que cuenta con una gran riqueza florística. Con aproximadamente 25,000 especies silvestres, de las cuales se ha estimado que unas 600 podrían ser utilizadas como fuente alimenticia de excelente calidad, como son las leguminosas. Pero éstas han sido poco aprovechadas ya que se han realizado pocos estudios para conocer su disponibilidad y valor nutricional.

De las leguminosas más prometedoras se encuentran las especies del género Lupinus, de las cuales algunas ya han sido domesticadas y se les cultiva en diversos países debido a su rápido desarrollo, producción abundante y alto valor nutricional.

En el Estado de Jalisco abundan especies silvestres de lupinos, que podrían representar un potencial alimenticio y aprovecharse como un cultivo alternativo de alto valor proteínico.

Con base a lo anterior resulta importante realizar estudios orientados a conocer y aprovechar estos recursos naturales, para promover su cultivo e incorporarlos a la alimentación humana o animal.

#### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México según datos proporcionados por el Instituto Nacional de la Nutrición, la mayoría de la población consume dietas marginales, cuyas principales deficiencias son: energía, proteínas, hierro, retinol y riboflavina.

Es así que organismos internacionales como la FAO, Organización Mundial de la Salud, UNESCO y algunas fundaciones, estimulan y coordinan actividades encaminadas a disminuir el problema de la desnutrición y malnutrición en los países subdesarrollados. Por lo que actualmente se realizan estudios encaminados a buscar ingredientes alimenticios económicos a partir de fuentes vegetales no convencionales con potencial alimenticio.

Debido a lo anterior se hace necesario evaluar las propiedades nutricionales y la disponibilidad de las especies autóctonas de **Lupinus** para utilizarlos como un ingrediente alimenticio.

## HIPÓTESIS

Especies del género <u>Lupinus</u> han sido utilizadas en diferentes países en la alimentación humana y animal, por lo que el conocer el potencial nutricional de las especies silvestres de Jalisco podría indicarnos la conveniencia de utilizarlas como un cultivo proteínico alternativo.

#### OBJETIVO GENERAL

Valorar la disponibilidad y propiedades nutricionales de tres especies silvestres de Lupinus del Estado de Jalisco.

#### OBJETIVOS PARTICULARES

- 1.- Evaluar la distribución de las tres especies silvestres más abundantes y accesibles de lupinos que crecen en el Estado.
- 2.- Obtener datos climáticos de los lugares donde crecen estas especies para su posible cultivo.
- 3.- Determinar la composición químico proximal delfollaje, vainas y semillas de estas especies.
- 4.- Cuantificar las fracciones de fibra neutro y ácido detergente (FND y FAD) de las partes de la planta ya mencionadas así como su contenido celular y de hemicelulosa.
- 5.- Determinar la digestibilidad "in situ" de la materia seca, materia orgánica y proteína cruda del follaje, vainas y semillas de los tres lupinos.
- 6.- Identificar los aminoácidos presentes en la fracción proteínica de las semillas en estudio.
- 7.- Determinar en forma cuantitativa los factores antinutricionales y tóxicos como: inhibidores de la tripsina, hemaglutininas, glucósidos cianogénicos y alcaloides presentes en las semillas.

#### MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo se realizó en el Departamento de Botánica y Zoologia, División de Ciencias Biológicas y Ambientales, Departamento de Producción Animal, División de Ciencias Veterinarias y el Instituto de Madera Celulosa y Papel de la Universidad de Guadalajara.

Con el propósito de conocer la distribución, localización, fenología y especies de **Lupinus** de Jalisco se revisaron los ejemplares colectados en el herbario del Instituto de Botánica.

Se realizaron salidas de campo a los lugares donde crecen estas leguminosas para valorar su abundancia y ubicación, y poder seleccionar las tres especies que presentaron la mayor disponibilidad y fueron accesibles para la realización del estudio.

Se colectaron muestras de las plantas para su descripción e identificación botánica en base a su morfología y palinología.

Para la obtención de vainas y semillas maduras las colectas se efectuaron durante la época de fructificación de las especies.

Con el propósito de dar a conocer las características climáticas de las localidades donde se colectaron los lupinos, para considerar su factibilidad de cultivo, se consultaron estaciones metereológicas para obtener datos de precipitación pluvial media, mínima y máxima, así como los rangos de temperatura mínima y máxima.

Las semillas, vainas y follaje de cada especie colectada e identificada, fueron deshidratadas por separado en una estufa de aire forzado con temperatura de 60° C durante 48 h, posteriormente se pulverizaron en un molino eléctrico con malla del No 2 para practicarles por triplicado un análisis químico proximal (n=3), según las técnicas descritas en la AOAC (1980) 7, así como su contenido de fracciones de fibra, tales como paredes celulares (Fibra Detergente Neutro), contenido celular, Fibra Detergente Acido (FAD) y hemicelulosa por diferencia entre FDN y FDA 155.

Asimismo a las semillas se les determinó la digestibilidad por el método "in situ", para lo cual se utilizó un borrego macho de aproximadamente 45 kg de peso y dos años de edad, con fístula a nivel ruminal en forma permanente; con tiempo de incubación de 72 h 155.

Para la evaluación de la composición aminoacídica de la fracción proteínica de las semillas, se utilizaron 50 mg de muestra por triplicado para someterlas a hidrólisis ácida con 2 ml de HCL 6N y eliminar el oxígeno con la insuflación de nitrógeno, posteriormente se sometieron a una temperatura de 105° C por 24 h, y mediante cromatografía de capa fina se identificó la presencia de aminoácidos 150.

La cuantificación de factores tóxicos y antinutricionales se realizó de la siguientes forma:

#### HEMAGLUTININAS

Se realizó en forma semicuantitativa de acuerdo al método de Jaffe <u>et al</u> en: Sotelo y Lucas (1988) <sup>150</sup>. Fundamento.

Esta técnica se basa en la propiedad que tienen las hemaglutininas para aglutinar diferentes tipos de eritrocitos, la cual se estima en forma visual mediante una serie de diluciones. Material/reactivos.

- Agitador magnético con tacómetro mca. Thermoline.
- Centrífuga para tubos mca. Dynac.
- Tubos de centrifugar de 15 ml de graduación.
- Jeringas de 5 a 10 ml con aguja No 22.
- Incubadora Mca. Blue-M
- Espectrofotómetro Coleman para celdas de 10X75 mm con abertura de 1 cm2.
- Microtiter kit.
- Filtro de vidrio poroso (poro grueso).
- Solución de pronasa al 2% en sol. salina.
- Solución anticoagulante (heparina).
- Solución salina al 1%.
- Sol. salina al 0.9%.
- Tripsina de páncreas porcino.
- Sangre desfibrinada y lavada.

Nota: cuando la sangre se va a trabajar inmediatamente se puede utilizar la sol. de heparina, en relación 15-20 UI de heparina: 1 ml de sangre. Si la sangre no se va a trabajar de inmediato, se puede

conservar en refrigeración por unos días, a lo que conviene utilizar como anticoagulante la sol. elsever en relación 1:1. Para la sensibilización de los eritrocitos se usa por lo general tripsina al 0.1% en sol. salina, sin embargo cuando se utiliza sangre de roedor (ratón hámster, etc.), que es más sensible es conveniente trabajar con pronasa al 0.2% en sol. salina.

#### Procedimiento.

- a) Preparación del extracto. Se suspende 1 g de muestra finamente molida en 10 ml de la sol. salina al 1%, se efectúa una extracción con agitación mecánica a 300 rpm durante 2h a temperatura ambiente. Después el extracto se centrifugar por 15 min a 1,400 rpm (40 U), el sobrenadante se filtra a través de papel filtro No 1 doble con vacío, de ser necesario se lava el residuo con la sol salina al 1% para llevar el extracto filtrado al volumen inicial.
- b) Preparación de la sangre. La sangre se coloca en un matraz pequeño que contenga sol. anticoagulante (relación 1:1) y se homogeniza por agitación suave. La sangre con anticoagulante se trasvasa a tubos de centrifugar para lavarlos (por centrifugación a 1500 rpm durante 10 min) 3 veces con sol. salina al 0.9%, en relación 1:5 sangre/solución. Después del último lavado diluir al 4% el paquete de glóbulos rojos, para lo cual se agrega por cada ml de glóbulos rojos 24 ml de la sol. salina al 0.9%.
- c) Sensibilización de eritrocitos. A cada 10 ml de suspensión de eritrocitos al 4% agregarles 1 ml de tripsina al 0.1% (en sol. salina) y colocarlo en la incubadora por 1h a 37° C. Posteriormente se centrifugar, para eliminar la enzima sobrenadante, dando 3

lavados con sol. salina al 0.9%. Después del último lavado se resuspende el paquete de glóbulos rojos al 5%, para lo cual a cada ml de eritocitos se le adicionan 19 ml de sol. salina al 0.9% (cuando se observa que la sangre tiene algunos coagulos, aunque sean pequeños, es necesario filtrar esta suspensión a través de un pequeño trozo de gasa).

- d) Ajuste de la suspensión de glóbulos rojos. Se toman 0.5 ml de la suspensión de glóbulos rojos sensibilizados y se agregan 2 ml de sol. salina al 0.9%. Se lee en el espectrofotómetro a 620 nm, usando un adaptador de celdas que permita el paso de sólo 1 cm2 de luz y como blanco sol. salina al 0.9%. Se debe obtener una lectura de 25% ± 2 de trasmitancia, de no ser así, se realizará la dilución necesaria para que la suspensión quede a esta lectura.
- e) Manera de efectuar la reacción. En las placas tipo V del microtiter colocar en cada pozo una hilera de 50  $\mu$ l de sol. salina (0.09%) con el pipeteador de gota, evitando tocar las paredes del pozo. Agregar con un microdilutor 50  $\mu$ l del extracto problema y se procede a realizar las diluciones sucesivas en la hilera escogida, introduciendo el microdilutor en el pozo y rotandolo sin excesiva presión. Por último, con un pipeteador de gota colocar en cada pozo 50  $\mu$ l de la suspensión de glóbulos rojos sensibilizados y ajustados. Luego se rota la placa en forma circular y se lleva a la incubadora a 37° C por 1h.
- f) Lectura e interpretación de resultados. Posterior a la incubación se coloca la placa sobre el dispositivo de lectura, observando a simple vista si se produce aglutinación. Ante una

aglutinación la prueba se considera positiva (+) y se reporta la máxima dilución que presenta aglutinación.

Cuando se trabaja con sangre de hámster o ratón (de alta sensibilidad) o un extracto de alto titulo, conviene realizar un mayor número de diluciones, para lo cual se pueden tomar hasta tres hileras, realizando la serie de diluciones en forma de culebra.

#### INHIBIDORES DE LA TRIPSINA

El método determina los inhibidores totales de la tripsina en alimentos proteínicos, según Tejada, (1992) 155.

Fundamento.

La medición inhibitoria se realiza mediante la inhibición de enzimas hidrolíticas por medio de un sustrato cromógeno sintético como el Benzoil-DL Arginina-P-nitroanilidina clorhidrato (BAPA), el cual produce una coloración que se lee en un espectrofotómetro a 420 nm. Dicha coloración es inversamente proporcional al contenido de inhibidores en la muestra. La actividad antitrípsica se expresa como el número de unidades de tripsina inhibida (UTI) por mg de muestra. Una unidad de tripsina se define como el aumento de 0.01 unidades de absorción a 410 nm.

#### Material/reactivos.

- -Potenciometro Corning, mod. 10.
- Parrilla con agitación magnética Thermoline, Mod. SP-13025.
- Baño maría Grant, mod. Se 10.
- Espectrofotómetro Coleman, mod Junior II-A.
- Mezclador de tubos Lab-Line, mod. Super-Mixer.

- Solución amortiguadora tris (hidroximetilamino metano) (0.05M, pH 8.2). Disolver 6.05 g de tris y 2.94 g de CaCl 2H2O (0.02 M) en 900 ml de agua. Ajustar el pH a 8.2 y aforar a 11 con agua. Calentar a 37° C antes de usarlo.
- Benzoil-DL Arginina-P-nitroanilidina clorhidrato (BAPA), disolver 40 mg de este compuesto en 1 ml de dimetil sulfóxido y diluir a 100 ml con buffer de tris, preparar diariamente, mantener a 37° C para usarse.
- Tripsina bovina (cristalizada 2x, libre de sales), disolver 4 mg en 200 ml de HCL 0.001N. Esta solución puede almacenarse en refrigeración 2-3 semanas sin perdida de actividad.
- Solución de ácido acético glacial al 30%.
- Solución de hidróxido de sodio 0.01N.

#### Procedimiento.

a) Preparación del extracto. Pesar 1 g de muestra finamente molida (deshidratada a menos de 40° C) y colocarla en un vaso de precipitado, agregar 50 ml de NaOH 0.01N. En un agitador magnético, agitar lentamente durante 3 h a temperatura ambiente a 300 rpm. Verificar el pH entre 8.4 y 10. Tomar alicuotas de la suspensión y diluirlas con agua destilada de manera que la D.O. (absorción) de 1 ml de la muestra sea entre 0.4 y 0.6 veces la D.O. (40-60%) con 0 ml para reducir la desviación estándar relativa. Cuando no es posible estimar los UIT debe de hacerse más de una dilución. El factor de dilución es el volumen final dividido entre la alicuota tomada.

- b) Determinación de la actividad. Se preparan dos series de tubos, tomados con una pipeta, agregar 0, 0.6, 1.0, 1.4 y 1.8 ml del extracto diluido con agua suficiente para hacer 2 ml, mezclar bien. Agregar 2 ml de la solución de tripsina a cada tubo, mezclado bien con un agitador, colocar los tubos en el baño de agua a 37° C. por espacio de 5 min. Agregar 5 ml de la solución BAPA, precalentada a 37° C, y agitar bien, detener la reacción a los 10 min. exactos (con cronómetro), adicionando en la misma secuencia de intervalos 1 ml de la solución de ácido acético al 30%, agitando bien, para detener la reacción enzimática.
- c) Toma de lectura. La lectura en el espectrofotómetro se realiza a todas la alicuotas a 410 nm, se ajusta el aparato a 100% de trasmitancia con su respectivo blanco. El tubo con 0.0 ml del extracto es nuestra referencia (40  $\mu$ g de tripsina/10 ml), sobre el cual se basaran los cálculos.
- d) Cálculos. La lectura de absorbancia (A), directamente se puede pasar a unidades de tripsina, previamente definidas: U.T.= A X 100. La actividad inhibidora de tripsina se mide en UIT/mg de muestra UIT/ml= 100 (D.O. del tubo 0)-(D.O. del tubo x del análisis)/ml de la muestra diluida del tubo x.

UIT/mg=UIT/ml X factor de dilución (diluciones realizadas) X 50/1000.

#### GLUCOSIDOS CIANOGENICOS

Se determinó espectofotométricamente de acuerdo a Tejada (1992) 155. Fundamento.

El presente método cuantifica el ácido cianhídrico (HCN) como

indicador de la presencia de glucósidos cianogénicos, para lo cual se prepara una curva de referencia o estándar con cantidades crecientes de cianuro de potasio (0, 2.5, 5.0, 7.5 y 10.0) contra la densidad óptica (expresada en absorbancia) obtenida de las muestras en el espectrofotómetro. Los resultados se presentan como  $\mu g$  de HCN/100 g de muestra.

#### Material/reactivos.

- Espectrofotómetro Coleman Junior II-A.
- Destilador Kjeldahl.
- Cloramina-T al 1% (1g de p-tolueno sulfocloramida en 100 ml de agua).
- Solución reactiva (3 g de ácido barbitúrico en 20 ml de agua, se añaden 30 ml de piridina y 5.5 ml de ácido clorhídrico conc. y se afora a 100 ml).
- Acetato de sodio al 2% en agua destilada.
- KCN.
- \_ Agua acidulada 1 ml de HCL en 100 ml de agua destilada.

#### Procedimiento.

Se pesan 10-20 g de muestra finamente molida y se coloca en un matraz Kjeldhal de 800 ml, agregar 200 ml de agua acidulada. Se conectan los matraces al destilador Kjeldhal. En el matraz colector poner 25 ml de agua. Se deja reposar 2 h para enseguida empezar el destilado lentamente, hasta aproximadamente 100 ml. Tomar alicuotas de 25 ml del destilado (el pH debe de estar entre 2 y 10) y se colocan en matraces de 50 ml, se agrega 1 ml de solución de

cloramina, agitar, tapar y dejar reposar 1 min, se agrega 3 ml de la solución reactiva. Aforar con agua y leer después de 8 min en el espectrofotómetro a 570 nm contra un blanco.

Preparación de la curva estándar: Se ponen cantidades crecientes de KCN equivalentes a 0, 2.5, 5.0, 7.5 y 10.0  $\mu$ g de -CN.

Pesar 0.125 g de KCN (equivalentes a 0.050g de -CN), disolver en agua, aforar a 100 ml. Tomar 1.0 ml y diluirlo a 1000 ml. De esta solución tomar 0, 5, 10, 15 y 20 ml en matraces de 50 ml y agregarles 25, 20, 15, 10 y 5 ml de agua, adicionar 1 ml de cloramina T y continuar como para las muestras.

#### ALCALOIDES

Los alcaloides se determinaron en forma cuantitativa por el método titulométrico propuesto por Bear V. <u>et al</u> (1979) que es una modificación de la técnica de Ruiz (1977)  $^{10, 140}$ .

#### Fundamento.

Los alcaloides se transforman en sus bases con la adición de KOH 15% para una extracción más rápida y completa, se utiliza además alumina por ser más adsorbente y de secado rápido; la extracción de los alcaloides se hace con cloroformo y se separa el extracto alcaloideo en un rotovapor. Como solución indicadora se utiliza el etil ester tetrabromofenolftaleina diluido en etanol y se titula con 0.02 N de ácido P- tolunsulfónico.

#### Material/reactivos.

- Evaporador de rotación
- Oxido de aluminio básico para cromatografía en columna nivel 1.

- Hidróxido de Potasio al 15 %.
- Cloroformo.
- Etil ester tetrabromofenolftaleina sal de potasio al 0.1%.
- Acido paratolunsulfónico 0.02N.
- Etanol absoluto.

#### Procedimiento.

A 1 g de muestra finamente molida (malla No 40), se adiciona 1 ml de KOH al 15% y se agregan 3 g de la alumina, se homogenizan y mezclan en un mortero hasta obtener un polvo seco blanquecino. A esta mezcla se le agrega 25 ml de cloroformo y se agita, el extracto se absorbe en un filtro D4 y el remanente se resuspende en otros 25 ml de cloroformo y nuevamente se absorbe. El extracto ya purificado, sin turbidez se coloca en un evaporador de rotación a 30° C y se toman alicuotas de 0.5 ml del cloroformo. Se agregan 3 gotas del indicador (etil ester tetrabromoftaldeina sal de potasio al 0.1% en etanol absoluto) a la muestra y se titula con ácido paratolunsulfónico 0.02N. El volumen requerido para cambiar la solución de azul a amarillo es un indicador del contenido de alcaloides, expresado como lupanina.

Con este método modificado se ha comprobado que existe una dependencia lineal y alta correlación (r2= 0.9920) entre el contenido de alcaloides y la solución de ácido P-tolunsulfónico gastado, como se puede apreciar a continuación.

ml gastados	% de alcaloides
0.0	0.0
0.08	0.01
0.22	0.02
0.45	0.09

#### RESULTADOS

Los lupinos son especies leguminosas que se caracterizan por ser plantas anuales o perennes y herbáceas o arbustivas, con flores vistosas de color azul o violáceo.

Este género incluye aproximadamente 200 especies, la mayoría son del Continente Americano, con una distribución desde el sur de USA hasta las cordilleras andinas del Perú.

En Jalisco, a la fecha se tienen reportadas doce especies, las cuales se distribuyen en diversas localidades del Estado (Cuadro 1), además se ha observado que presentan una fenología muy variada.

La abundancia de la mayoría de estas especies es muy amplia, debido a que crecen en muy diversas localidades dentro de Jalisco y en las cuales son muy abundantes; dentro de estas destacan las siguientes:

Lupinus exaltatus Zucc, crece preferentemente en bosques de pino-encino y comunmente se extiende a orillas de la carretera y a campos cultivados, es una especie muy abundante que llega a ser maleza. Es una planta anual, bianual o perenne de vida corta, llega a medir hasta 2 m, produce una gran cantidad de vainas y cada vaina produce de 6 a 9 semillas (Figura 1), la fructificación es de septiembre a enero o casi todo el año. En el país se tienen reportes que crece en los Estados de Colima, Michoacán, Guerrero, México, Morelos, Tlaxcala, Oaxaca, Puebla, Veracruz, Hidalgo y el D.F. En Jalisco se le localiza en Cd. Guzmán, Tonila, S. Gabriel, Atemajac de Brizuela, Sayula, Mezquititc, Autlán, y Tecalitlán

(Figura 2).

Las colectas de las muestras para los análisis químicos se realizaron en los meses de julio y agosto y provienen de la localidad conocida "El Jazmín", Sn. Gabriel a 2,000 msnm; el cual presenta una precipitación pluvial media anual de 741.6 mm, con variaciones mínimas y máximas de 548.3 a 1160.5 mm y una temperatura anual promedio de 12.1°C como mínima y 30.4°C como máxima, en la gráfica 1 se puede observar las precipitaciones y temperaturas mínimas y máximas por mes.

L. reflexus Rose. Crece en lugares altos y montañosos de 2,700 a 3,600 m.s.n.m., habita en bosques de abetos o pinos; se caracteriza por ser planta de tipo herbáceo o arbustivo y de gran tamaño (2-5 m), las vainas poseen de 5 a 8 semillas (Figura 3), su fructificación se da de mayo a octubre. Se le puede encontrar en los Estados de Michoacán, México, Oaxaca, S. Luis Potosí y en el D.F. En los siguientes municipios de Jalisco crece esta especie, Cd. Guzmán, Sn Gabriel, Tonila, Mascota, Mazamitla, Gómez Farías, Ojuelos, Sn. J. de los Lagos, Chiquilistlán y Talpa de Allende (Figura 4).

Las colectas de esta especie se realizaron en julio y agosto, en la localidad conocida como "Los alpes" en las inmediaciones del Nevado de Colima, Cd. Guzmán a orillas de la carretera Cd. Guzmán-El Grullo a una altitud de 2,940 msnm, donde se registra una precipitación anual media, mínima y máxima de 695.4, 177.6 y 944 mm respectivamente, con rangos de temperatura de 12.1-27°C (Gráfica 2).

L. mexicanus Cerv., especie de zonas semiaridas en pastizales y matorrales, adaptada a lugares perturbados; crece como maleza a orillas de la carretera y en campos de cultivo. Es una planta bianual o perenne de vida corta y de porte pequeño (30-60 cm), las vainas son largas y pilosas con 3 a 5 semillas (Figura 5), fructifica de julio a noviembre. Se tienen reportes de esta especie en Chihuahua, Durango, Zacatecas, Aguascalientes, Guanajuato, Michoacán, Edo. de México, Morelos, D.F. e Hidalgo, en Jalisco se localiza en los municipios de Etzatlán, Villa Obregon, Cuquio, Acatic, Teuchitán, Ojuelos, Lagos de Moreno, Juanacatlán, Arandas, Cd. Guzmán, Zapopan, Gómez Farías, Yahualica y Talpa (Figura 6).

Las muestras estudiadas se colectaron en el mes de agosto en la localidad "Manalisco" en Yahualica a 1750 msnm y presenta una precipitación anual media, mínima y máxima de 693.1, 420.4 y 991.5 mm y temperatura anual de 10.7-26.0°C. (Gráfica 3)

La identificación y determinación botánica de las especies se realizo en base a la morfología de las plantas y comparadas en las claves de identificación y ejemplares de herbario, además se contó con la asesoria de especialistas taxónomos del herbario IBUG.

En el Cuadro 2 se pueden apreciar los valores promedios del análisis químico aproximado del follaje, vainas y semillas de las tres especies.

El follaje presentó rangos muy variables en el contenido de Materia Seca (MS) de 19.9, 64.1 y 75.9 para *L. reflexus*, *L. exaltatus y L. mexicanus* respectivamente, asimismo se obtuvo un

bajo contenido de Proteína Cruda (PC) con 3.6 y 7.2 en L. reflexus y L. mexicanus, no resultando así para L. exaltatus en el cual se encontró un 23.4 %; los niveles cuantificados de Extracto Etéreo (EE) fueron del 1.4 (L. exaltatus), 1.7 (L. reflexus) y 3.2% (L. mexicanus), en cambio se obtuvieron valores altos de Fibra Cruda (FC) de 14.9% en L. mexicanus, 23.5% L. reflexus y 26.4% L. exaltatus, así como de Cenizas (C) y Extracto Libre de Nitrógeno (ELN) con 7.8 y 41% en L. exaltatus, 12.1 y 59.1 para L. reflexus y 16.4 y 58.3 en L. mexicanus.

En las tres especie evaluadas, las vainas presentaron valores altos de MS del 82.6% (*L. reflexus*), 86.3% (*L. mexicanus*) y 88% (*L. exaltatus*); así como de FC (51.2 en *L. reflexus*, 51.7 *L. mexicanus* y 52.3% *L. exaltatus*), con un contenido de PC del 2.7, 8.4 y 10.8% para *L. mexicanus*, *L. exaltatus* y *L. reflexus* respectivamente y el EE se cuantificó en 0.4 (*L. reflexus*), 0.9 (*L. exaltatus*) y 3.9% (*L. mexicanus*).

Las semillas de estas leguminosas mostraron altos contenidos de MS, PC y FC en las tres especies, en L. exaltatus estos valores se encontraron en 94.8, 38.4 y 18.5%; para L. reflexus fueron de 82.8, 38.8 y 15.2% y para L. mexicanus de 81.8, 36.7 y 16.8% respectivamente; asimismo el EE y C se cuantificaron en 7.1 y 3.8% en L. exaltatus, 6.6 y 7.2 en L. reflexus y de 8.0 y 4.1 en L. mexicanus. Los porcentajes de ELN fueron del 32.2, 32.2 y 34.4 para L. exaltatus, L. reflexus y L. mexicanus respectivamente (Gráfica 4).



En la cuantificación de las fracciones de fibra (Cuadro 3) se observó el más alto contenido de FDN, FDA y hemicelulosa en el follaje de *L. reflexus* con 68.2, 42.2 y 26% respectivamente y el menor en *L. mexicanus* (51.3, 32.9 y 18.4%), pero su contenido celular fue el más alto (48.7%).

Las vainas de *L. exaltatus* mostraron los valores más altos de FDN (84.1%) y FDA (76.5%) y por consiguiente el menor contenido celular (15.9%), mientras que *L. mexicanus* mostró el más bajo porcentaje de FDN (65.2%), FDA (59.8%) y hemicelulosa (5.4%), por lo que el contenido celular es el más alto con 34.8%.

El contenido de fracciones de fibra en semillas revelaron altos niveles de FDN de 43.7% y hemicelulosa de 14.9% en L. reflexus, la FDA resultó en mayor concentración en L. exaltatus con 34.2%. En L. mexicanus se obtuvieron valores bajos de FDN (37.3%) y el contenido celular fue el más alto (62.7%) (Cuadro 3). DIGESTIBILIDAD "IN SITU".

El coeficiente de digestibilidad "in situ" para materia seca (CDMS), materia orgánica (CDMO) y proteína cruda (CDPC) en el follaje reveló los siguientes resultados: en *L. exaltatus* fue de 60.6, 60.0 y 67.3 %; en *L. reflexus* se obtuvo 48.1, 44.6 y 55.2 % y en *L. mexicanus* se cuantificó 26.0, 15.8 y 69.4 %.

En las vainas estos valores fueron en *L. exaltatus* de 24.5, 24.9 y 26.0 %, en tanto que en *L. reflexus* resultaron de 23.5, 17.8 y 47.7 % y *L. mexicanus* con 26.0, 15.8 y 69.4 %.

Las semillas de L. exaltatus revelaron los siguientes datos, 76.6, 55.0 y 70 % de CDMS, CDMO y CDPC, en tanto que en L. reflexus

fueron de 68.8, 50.9 y 77.0 y en L. mexicanus de 63.4, 30.9 y 88.3
% respectivamente (Gráficas 5, 6, y 7).

#### IDENTIFICACIÓN DE AMINOACIDOS

En las figuras 7, 8 y 9 se puede observar en las semillas la presencia de lisina (Rf. 0.11), ácido aspártico (Rf. 0.13), histidina (0.10), serina (0.14), alanina (0.19), treonina (0.2), glicina (0.33), asparangina (0.09), ácido glutámico (0.19), leucina (0.53) e isoleucina (0.50), asimismo no se detectó la presencia de metionina (0.38), cistina (0.038), triptófano 0.04), fenilalanina (0.48), valina (0.35), prolina (0.25), tirosina (0.33) y arginina (0.12) debido a su bajo contenido.

#### ANÁLISIS DE SUSTANCIAS TÓXICAS Y ANTINUTRICIONALES.

La cuantificación de sustancias tóxicas y antinutricionales se muestran en el Cuadro 4, en donde se observan los siguientes resultados:

La actividad hemaglutinante de las lectinas en eritrocitos de ovino no se detectó en L. exaltatus ni L. reflexus y en L. mexicanus fue muy escasa a una máxima dilución de 1:250.

Asimismo la acción inhibidora de la tripsina tampoco se detectó en ninguna de las tres especies de lupinos.

Los glucósidos cianogénicos determinados de acuerdo a la presencia del ácido cianhídrico (HCN) se cuantificaron en un 7.7  $\pm$  1.23, 5.7  $\pm$  0.64 y 3.3  $\pm$  0.6  $\mu$ q de HCN en semillas de L. exaltatus,

L. mexicanus y L. reflexus respectivamente.

El contenido de alcaloide totales expresados como lupanina se cuantificó en 1.4% ( $L.\ exaltatus$ ), 2.1% ( $L.\ reflexus$ ) y 8.4% ( $L.\ mexicanus$ ).

# UNIDAD DE INFORMACION MEDIO AMBIENTAL (U I M A) BIBLIOTECA ESPECIALIZADA

# DISTRIBUCION Y EPOCA DE FRUCTIFICACION DE LAS ESPECIES DE *Lupinus* EN JALISCO.

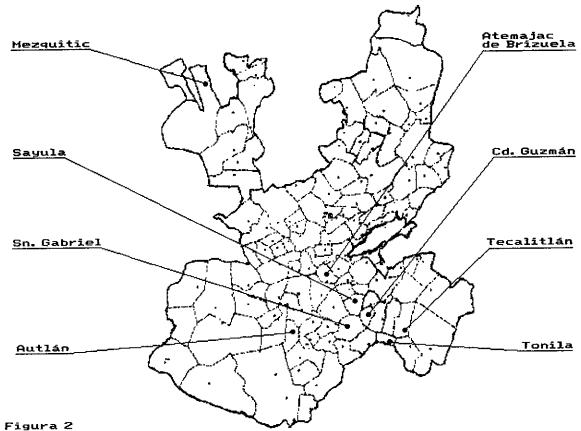
ESPECIE	LOCALIDAD	FRUCTI- FICACION	
L.aschenbornii	Autlán.	Sep-Ene	
L. elegans	Autlán, Cd. Guzmán, Cuahutitlán, Gómez Farias, Mezquitic y Bolaños.	Nov-Sep	
L. exaltatus	Sn. Gabriel, Cd. Guzmán, Tonila, Autlán, Atemajac de brizuela, Tecalitlán y Mezquitic.	Dic-Jul	
L. leptocarpus	Mezquitic.	Ago-Oct	
L. madrensis	Cuahutitlán, Bolaños, Talpa y Autlán.	Mar-May	
L. mexicanus	Cd. Guzmán, Cuqio, Acatic, Arandas, Juanacatlán, Yahualica, Gómez Farías, Talpa, Lagos de Moreno, Teuchitlán, Ojuelos, Villa Obregón, Zapopán y Etzatlán.	May-Nov	
L. montanus	Sn. Gabriel, Cd. Guzmán, Zapotitlán, Bolaños, Tonila y Mezquitic.	Jun-Nov	
L. reflexus	Cd. Guzmán, Tonila, Sn. Gabriel, Talpa, Mascota, Mazamitla, Gómez Farías, Ojuelos, Sn. Juan de los Lagos y Chiquilistlán.		
L. rotundiflorus	Mascota, Talpa, Tapalpa, Cd.Guzmán.	Nov-Sep	
L. simulans	Talpa.	Nov-Ene	
L. splendens	Tuxpan, Jocotepec, Autlán, Tequila, Ameca y Mascota.	Nov-Feb	
L. stipulatus	Talpa, Mazamitla, Tapalpa, Autlán, Zapopán y Mezquitic.	Oct-Mar	

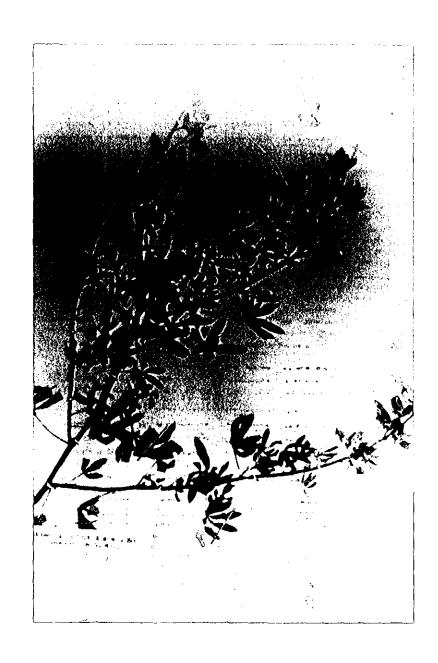
#### Cuadro 1



FIG. 1 Lupinus exaltatus zucc.

#### DISTRIBUCION DE <u>Lupinus exaltatus</u> EN EL ESTADO DE JALISCO

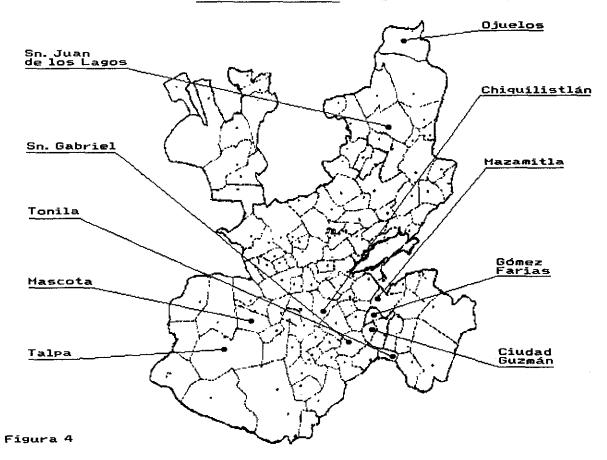


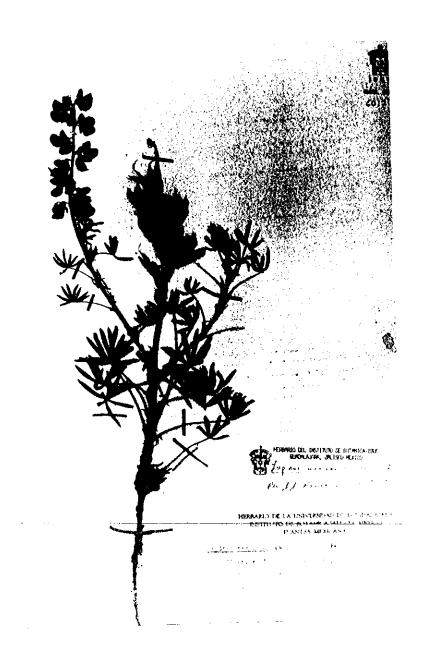


Lupinus reflexus Rose

FIG. 3

#### DISTRIBUCION DE <u>Lupinus reflexus</u> EN EL ESTADO DE JALISCO

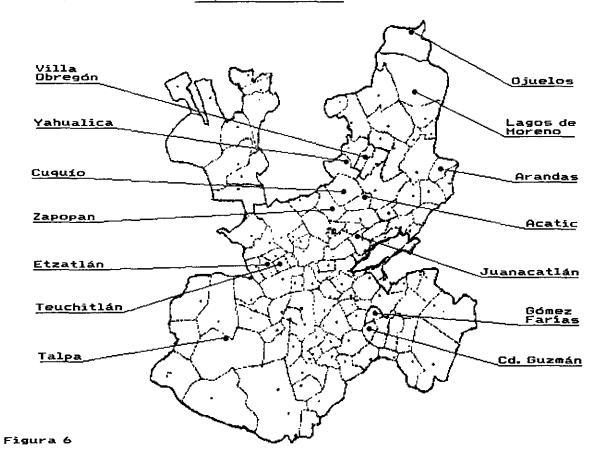




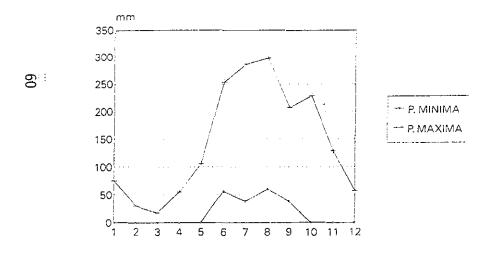
Lupinus mexicanus Cerv.

FIG. 5

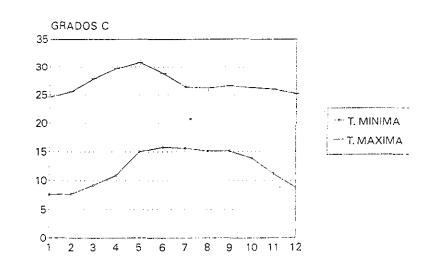
#### DISTRIBUCION DE <u>Lupinus mexicanus</u> EN EL ESTADO DE JALISCO



#### PRECIPITACION PLUVIAL MINIMA Y MAXIMA



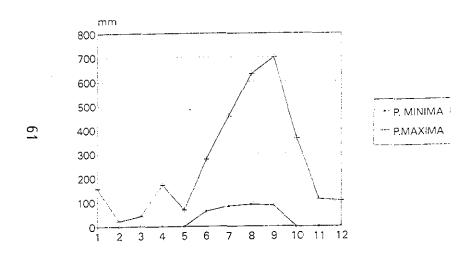
#### TEMPERATURA MINIMA Y MAXIMA



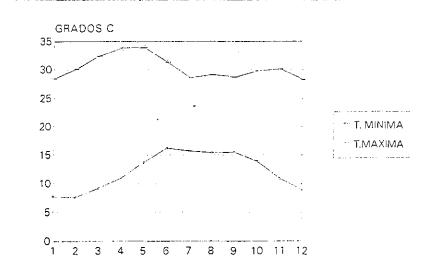
GRAFICA 1

## VARIACION DE PRECIPITACION Y TEMPERATURA EN SN GABRIEL, JAL.

## PRECIPITACION PLUVIAL MINIMA Y MAXIMA



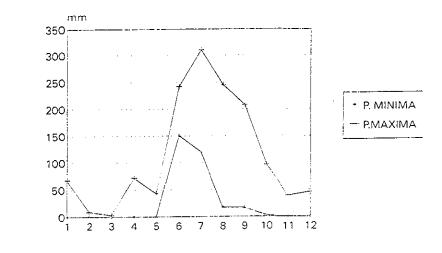
## TEMPERATURA MINIMA Y MAXIMA



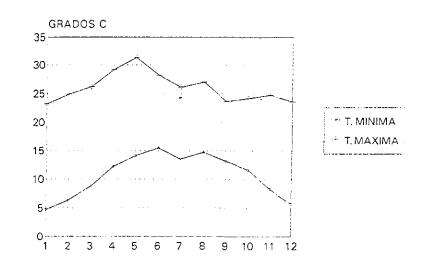
GRAFICA 2

#### VARIACION DE PRECIPITACION Y TEMPERATURA EN YAHUALICA, JAL.

## PRECIPITACION MINIMA Y MAXIMA



## TEMPERATURA MINIMA Y MAXIMA



GRAFICA 3

62

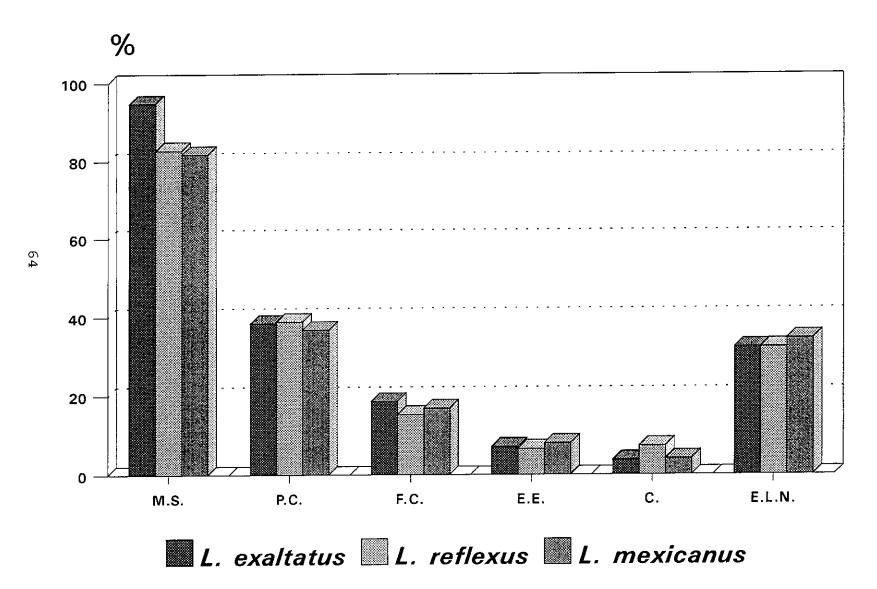
# COMPOSICION QUIMICO PROXIMAL DE TRES ESPECIES DE Lupinus

	T		% M.S.	*P.C.	E.E.	F.C.	C.	E.L.N.
	L. exaltatu	s follaje	64.1	23.4	1.4	26.4	7.8	41.0
		vaina	88.0	8.4	0.9	52.3	1.9	36.5
		semilla	94.8	38.4	7.1	18.5	3.8	32.2
	L. reflexus							
63	·	follaje	19.9	3.6	1.7	23.5	12.1	59.1
		vaina	82.6	10.8	0.4	51.2	4.1	33.5
		semilla	82.8	38.8	6.6	15.2	7.2	32.2
	L. mexican	us						
		follaje	75.9	7.2	3.2	14.9	20.6	44.0
		vaina	86.3	2.7	3.9	51.7	7.4	34.3
		semilla	81.8	36.7	8.0	16.8	4.1	34.4

<sup>\*</sup> BASE SECA

**CUADRO 2** 

# COMPOSICION QUIMICA PROXIMAL EN SEMILLAS DE TRES ESPECIES DE *Lupinus*

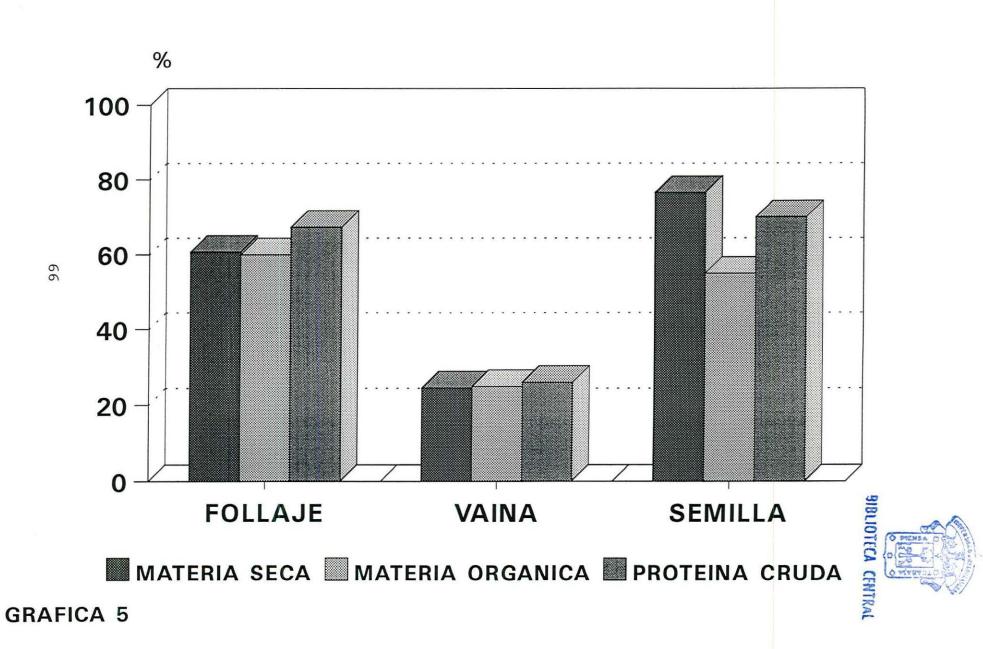


#### CONTENIDO DE FRACCIONES DE FIBRA Valores promedio (%)

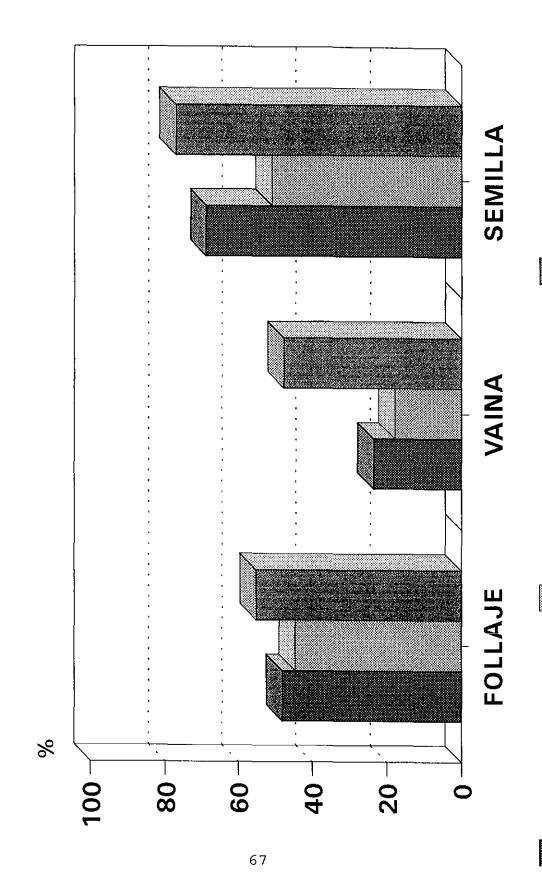
L. exaltatus	F.D.N.	C.C.	F.D.A.	HEMICELULOSA
Follaje	55.3	44.7	34.8	20.5
Vaina	84.1	15.9	76.5	7.6
Semilla	41.3	58.7	34.2	7.1
L. reflexus				
Follaje	68.2	31.8	42.2	26.0
Vaina	81.5	18.5	65.4	16.1
Semilla	43.7	56.3	28.8	14.9
L. mexicanus				
Follaje	51.3	48.7	32.2	19.1
Vaina	65.2	34.8	59.8	5.4
Semilla	37.3	62.7	25.3	12.0

#### CUADRO 3

# COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD "IN SITU" DE L. exaltatus



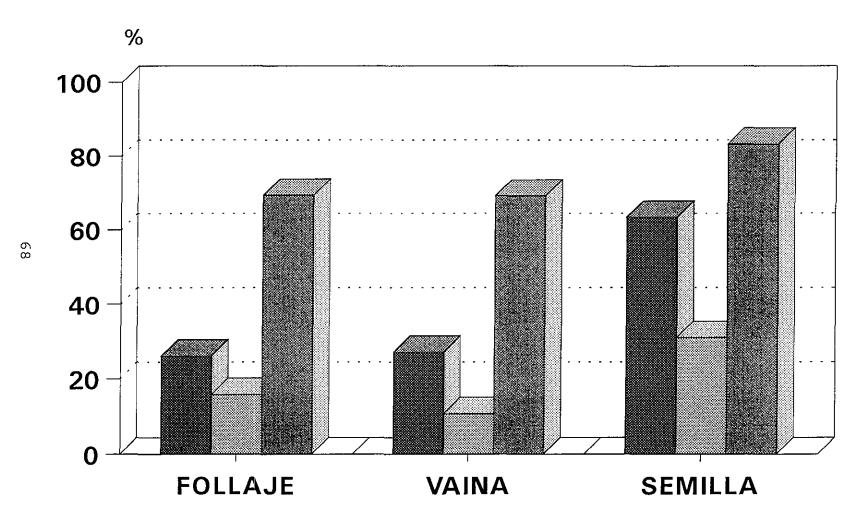
# COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD "IN SITU" DE L. reflexus



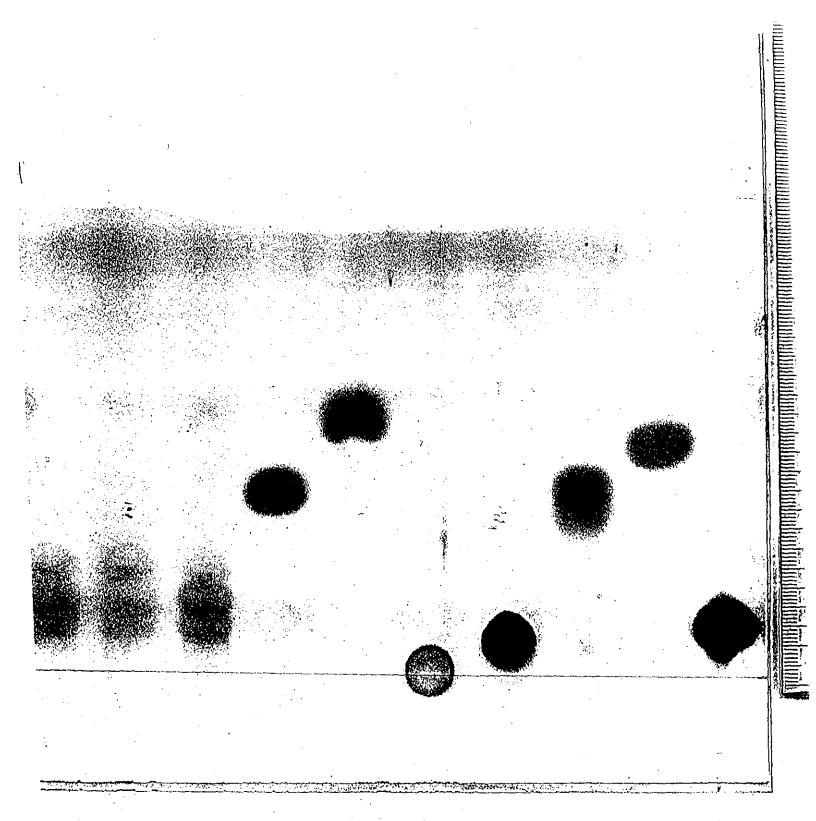
📉 MATERIA SECA 🔤 MATERIA ORGANICA 🔤 PROTEINA CRUDA

GRAFICA 6

# COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD "IN SITU" DE *L. mexicanus*



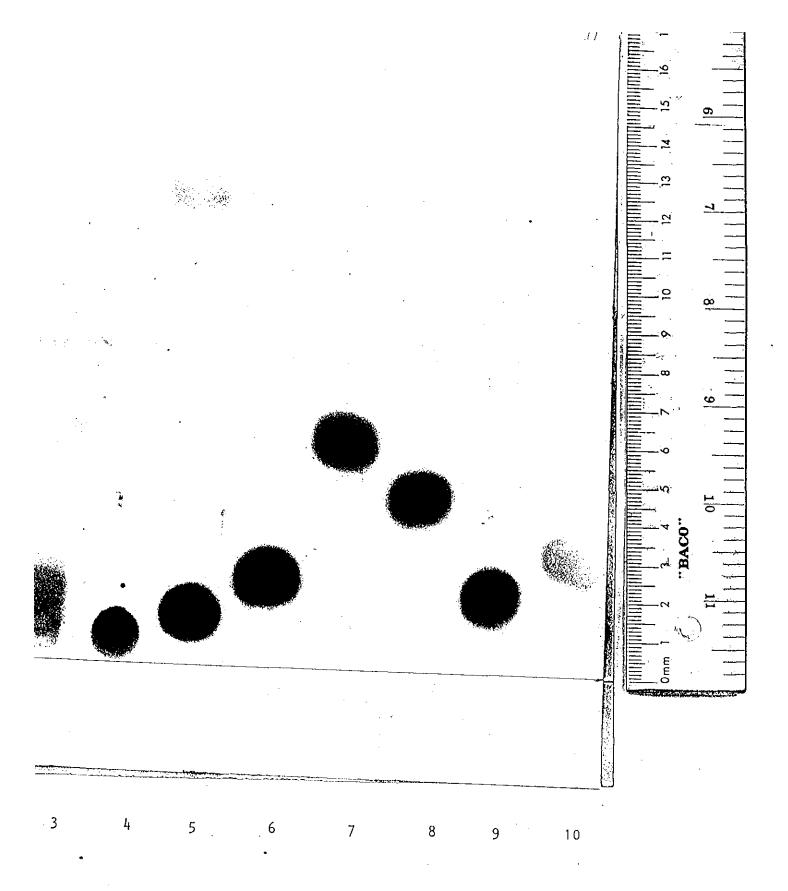
MATERIA SECA MATERIA ORGANICA PROTEINA CRUDA GRAFICA 7



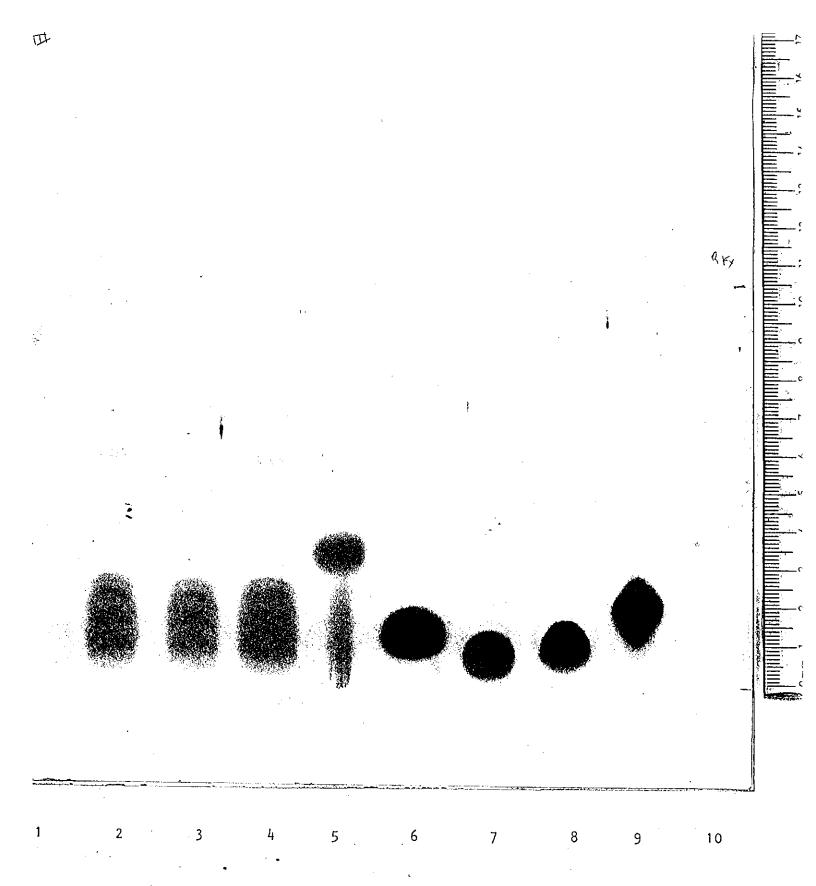
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

ROMATOGRAFIA DE CAPA FINA (TLC) DE AMINOACIDOS EN SEMILLAS DE LUPINOS. No 1 Muestra de exaltatus. No 2 L. reflexus. No 3 L. mexicanus . No 4 Met. No 5 Leu. No 6 Cist. No 7 is. No 8 Trip. No 9 Fenilal. No 10 Ac. asp.

Fig. 7



CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA (TLC) DE AMINOACIDOS EN SEMILLAS DE LUPINOS. No 1 L. exaltatus No 2 L. reflexus . No 3 L. mexicanus. No 4 Hist. No 5 Ser. NO 6 Ala. No 7 isoleu. No 8 Val. No  $\frac{1}{2}$  Treo. No 10 Prol.



CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA (TLC) DE AMINOACIDOS EN SEMILLAS DE LUPINOS. No 2  $\underline{L}$ . exaltatus No 3  $\underline{L}$ . reflexus.No 4  $\underline{L}$ . mexicanus. No 5 Tir. No 6 Gly. No 7 Asp. No 8 Arg. No 9 Ac. glut.

## CONTENIDO DE SUSTANCIAS TOXICAS Y ANTINUTRICIONALES EN SEMILLAS

		HEMAGLUTININAS 1:250 (*)	INHIBIDORES TRIPSICOS (UIT/mg)	GLUCOSIDOS CIANOGENICOS (μl/100g)	ALCALOIDES (%)
	L. exaltatus	<del></del>		7.7	1.4
72	L. reflexus			5.7	2.1
	L. mexicanu	+	+	3.3	8.4

\*

\_\_\_ nula

+ escasa

++ mediana

+++ alta

U.I.T.= Unidades inhibidoras de tripsina

**CUADRO 4** 

### DISCUSIÓN

A las leguminosas se les ha empleado en la alimentación humana y animal desde hace miles de años, sin embargo, las especies utilizadas para este propósito representan un pequeño porcentaje del total de especies que existen en el mundo, por lo que se han realizado estudios en leguminosas silvestres y debido a su alto contenido protéico se les considera como un importante reservorio de este nutrimento, que podrían cubrir las futuras demandas de alimento en el mundo. En nuestro país, se han realizado muy pocos estudios nutricionales con leguminosas silvestres, por lo que existe un escaso conocimiento de las leguminosas nativas de Jalisco 56, 77, 136, 172.

Actualmente en los lupinos se tienen pocos estudios para utilizarlos como fuente de alimento en México y sólo se reportan trabajos sobre la obtención de aislados protéicos y destoxificación de semillas de *L. mutabilis* y de algunas especies silvestres <sup>38, 39, 46</sup>, sin realizar evaluaciones nutricionales en el hombre o en animales domésticos.

Sin embargo, el territorio nacional es rico en lupinos silvestres y sólo en Jalisco se han reportado doce especies, cantidad igual a la que se encuentra en el viejo mundo 110, 123.

La mayoría de los lupinos silvestres de Jalisco se distribuyen en diversas localidades con una buena abundancia, donde no se les ha dado prácticamente ninguna utilidad y por el contrario, cuando llegan a invadir los terrenos de cultivo se les elimina como

malezas. La distribución de algunas especies como L. aschenbornii, L. simulans y L. leptocarpus se limita a una sola localidad donde son poco abundantes.

L. exaltatus, L. reflexus y L. mexicanus son de las especies con mayor distribución, además en las localidades donde crecen son abundantes, llegando en ocasiones a ser predominantes.

Por otra parte, a pesar de presentar buen potencial nutricional, las leguminosas silvestres no son utilizadas en forma adecuada como alimento, debido principalmente a su poca abundancia y disponibilidad, además de que una sobreexplotación de estas plantas ocasionaría una perdida de estos recursos vegetales, por lo que una alternativa sería conocer su potencial agronómico en base a sus características agroclimaticas, morfológicas y fenológicas, por lo que en este trabajo se presentan datos climaticos de las localidades donde se colectaron estas leguminosas, que pudieran aportar algún conocimiento para establecer la factibilidad de cultivarlas en regiones con características climáticas similares.

#### ANÁLISIS QUÍMICO

EL análisis proximal revelan en el follaje valores de MS superiores a los que se presentan en leguminosas forrajeras (cuyo principal producto es el follaje), como el trébol y la alfalfa (con porcentajes del 18 y 20 % respectivamente), pero inferiores a los reportados en el follaje de otras leguminosas silvestres, asimismo los niveles de PC de L. reflexus y L. mexicanus son menores a los de otras leguminosas forrajeras cultivadas y silvestres (las cuales

presentan valores entre 12.5 a 20 y 7.8 a 29.5%) y solo el contenido de PC del follaje de *L. exaltatus* se les compara. Existe similitud en la concentración de FC, EE, C y ELN de los lupinos estudiados con los de estas leguminosas cuyos valores son de 20-26 y 10.2-29.7, 1.7-4.9 y 0.4-9.2, 6.3-14.2 y 2-13.5 y 36.2-40.2 y 46.5-63.9% respectivamente <sup>25, 54, 55, 129, 133, 153</sup>.

La PC del follaje en *L. reflexus* y *L. mexicanus* se encontró en menor proporción que los reportados para otras especies de lupinos, cuyos rangos han sido establecidos en 9.7-21.5% <sup>65</sup>, en cambio los valores de *L. exaltatus* son superiores; asimismo el contenido de FC de las especies *L. exaltatus* y *L. reflexus* coinciden con los rangos reportados en otros lupinos de 21.3 a 29.9%, y en *L. mexicanus* se cuantificó porcentajes menores de este nutrimento.

Existen pocos estudios sobre la composición química en vainas de leguminosas, donde se tiene que éstas presentan una mayor proporción de PC (11.5-22.0%) y de ELN (54.6-60.8%), menores de FC (17.5-39%) y similares de EE (1-1.9) y C (3.2-8.4%) <sup>115</sup> en comparación con los lupinos estudiados. En el caso de otras especies de lupinos, éstas presentan un rango de PC de 3.5 a 17.3%, que coincide con los encontrados en L. exaltatus y L. reflexus, pero no con L. mexicanus que posee un contenido de PC menor. La FC cuantificada es superior a la de los lupinos cultivados, cuyo rango se ha establecido en 33.6-42.4% <sup>65</sup>.

La elevada concentración de FC es debido probablemente a la presencia de vellosidades altamente lignificadas, característico de las especies de este género y que son más notorias en las especies

silvestres, pero son poco comunes en otras leguminosas.

Los valores de PC y EE en las semillas resultan superiores a los de la mayoría de leguminosas cultivadas, a excepción de la soya (con 40 y 18% respectivamente), y a los de otras leguminosas silvestres (que presentan valores entre 10.6 a 37.8 de PC y de 0.7 a 6.3% de EE), aunque se tienen reportes de algunas leguminosas silvestres con concentración de 8.5 hasta 24.4% de EE; los niveles de MS, FC, C y ELN son similares entre los lupinos estudiados y las demás leguminosas cultivadas y silvestres <sup>5, 9, 21, 30, 41, 58, 71, 143, 149, 154</sup>.

Los porcentajes cuantificados del análisis químico en las semillas de los lupinos estudiados coincide con el rango de valores reportados para las especies de lupinos cultivadas, cuyos rangos se han establecido en 86.4-93% de MS, PC de 32-48%, EE de 4 a 23%, la FC es de 3-18%, C de 2.4 a 5.2 y el ELN esta en 25.4 a 46%  $^{65, 73}$ . Sin embargo es necesario determinar el contenido de proteína verdadera, ya que muchas leguminosas presentan concentraciones altas de nitrógeno no protéico (en forma de aminoácidos no etc.), HCN, peptidos, los cuales contribuyen significativamente con la cuantificación del nitrógeno, ya que se ha encontrado hasta el 33% del total del nitrógeno como nitrógeno no protéico en leguminosas silvestres estudiadas 100.

De acuerdo a los resultados obtenidos en las fracciones de fibra de las tres especies de lupinos estudiadas se puede afirmar que *L. reflexus* presenta concentraciones superiores de paredes celulares (FDN) en su follaje y semilla, por lo que su contenido celular es el menor, lo que nos indica que esta especie vegetal

presenta un mayor contenido de constituyentes nutricionales poco aprovechables para animales monogástricos, en estas partes de la planta, sin embargo su contenido de hemicelulosa fue el más alto, tanto en follaje, vainas y semillas. Asimismo, tanto en follaje, vaina y semilla de L. mexicanus se obtuvieron las menores cantidades de FDN por lo que su contenido celular fue el más alto.

#### DIGESTIBILIDAD "IN SITU"

En el follaje se obtuvieron los más altos porcentajes de CDMO en L. exaltatus, valores superiores a los de la alfalfa, que presenta un CDMO de 23.8%  $^{116}$ .

En general los resultados en las vainas fue pobre ya que se obtuvieron CDMS y CDMO bajos, ésto es debido a su alto contenido de FC y FAD, sin embargo estos valores entran en el rango reportado para los rastrojos agrícolas fibrosos, los cuales presentan una digestibilidad "in vitro" de M.O. desde 3.1 (en Paspalum fasciculatum) a 58.9% (en bagazo enmelazado) 49. En cambio se obtuvo un mayor CDPC sobre todo en L. mexicanus con 69.2% seguido de L. reflexus con 47.7% y L. exaltatus con 26%.

Basado en su contenido de PC y ELN y considerando su alto contenido de FC, el follaje de las especies estudiadas podría utilizarse en la elaboración de dietas o en pastoreo de las plantas, principalmente para rumiantes, sobre todo el de L. exaltatus, ya que esta especie posee aceptables porcentajes de digestibilidad proteínica, además de que se podrían realizar extracciones protéicas para consumo humano 128, sin embargo se

recomienda hacer pruebas biológicas nutricionales y de toxicidad antes de recomendar su utilización en la alimentación.

Las vainas podría ser utilizadas como un subproducto de la cosecha, particularmente en dietas de rumiantes, sin embargo por su alto contenido de FC, el consumo de grandes cantidades puede causar constipación u otros trastornos digestivos, por lo que sería necesario mezclarlas con otros ingredientes con bajos niveles de FC, además de presentar bajos niveles de digestibilidad de MS, MO y PC.

En L. exaltatus se cuantificaron valores superiores de CDMS y CDMO en sus semillas, que los cuantificados en L. reflexus y los valores más bajos correspondieron a L. mexicanus, sin embargo el CDPC de L. mexicanus fue el de mayor concentración, con 83.3%, en comparación con L. reflexus (77.1%) y L. exaltatus (70%), los valores encontrados de CDMS y CDPC en los tres lupinos estudiados son superiores a los reportados en Pisum sativum (chícharo), cuyos valores se encontraron en 65.4 y 51.2%, pero el CDPC es inferior al reportado en L. albus (92.4%) y de otras especies de lupinos evaluados "in vivo" en dietas para cerdos elaboradas con semillas crudas (93.5%) y dehidratadas (91.9%) y coincidieron con los porcentajes de digestibilidad verdadera de PC de otras leguminosas (de 60.3 en el gandul hasta 80.7% en el frijol negro) y de MS (de 71.5 en el frijol rojo hasta 88.2 % en la soya) 20.44.48.56.162.

Por otra parte se debe considerar que la digestibilidad, sobre todo proteínica en las leguminosas es afectada por sustancias tales como taninos, inhibidores de proteasa, fitatos, lectinas, etc., así como por la estructura de las proteínas y la asociación de estas con azucares, hemicelulosa y minerales que pueden mejorarse con tratamientos térmicos o por procesos tecnológicos como el tostado, descascarado, desengrasado y con la obtención de aislados proteínicos 3, 4, 71, 118, 132, 168.

En el análisis de aminoácidos efectuados a las semillas reveló la presencia de cinco aminoácidos esenciales (lis, hist, treo, leu, e isoleuc) y seis no esenciales (ac. asp, ser, ala, gly, asp, y ac. glut), la presencia del resto de los aminoácidos esenciales (met, fenilal, trip, arg y val) y no esenciales (cist, glut, prol y tir) no fue detectada debido probablemente a su baja concentración, estos datos son similares a los encontrados en las especies cultivadas de lupinos, donde los aminoácidos no detectados se encuentran en bajas concentraciones <sup>11, 65</sup>; por lo que es necesario evaluar en forma cuantitativa la presencia de los aminoácidos, así como su disponibildad biológica para conocer la calidad proteíca de estos lupinos <sup>15, 96</sup>.

En general los lupinos evaluados resultaron buena fuente de proteínas y con aceptables características nutricionales, al igual que la mayoría de las leguminosas silvestres citadas en la literatura; asimismo se debe de considerar su contenido de sustancias tóxicas y antinutricionales, ya que éstas provocan desde una marcada reducción en el rendimiento y utilización de nutrientes hasta profundos efectos neurológicos e incrementos en la mortalidad; estos componentes se pueden encontrar en todas las partes de la planta, pero en la semilla es donde se concentra más

frecuentemente 42.

El grado de toxicidad de una planta depende de varios factores como epoca del año, localidad geográfica, fenología de la planta, tipo de tóxico presente y concentración de éste; además entre las especies animales existen diferentes grados de suceptibilidad a los tóxicos de las leguminosas 42, 147.

Las leguminosas contienen una gran variedad de compuestos tóxicos y antinutricionales, mayor que cualquier otro cultivo, estas sustancias varían en presencia y concentración dependiendo del género o especie de la planta, los principales que se han identificado en este grupo de plantas son: alcaloides, aminoácidos no protéicos, cianógenos, isoflavonas, compuestos nitrogenados (principalmente miserotoxinas), inhibidores de proteasa, lectinas o fitohemaglutininas, saponinas, compuestos selénicos y taninos 42,

En las especies estudiadas se cuantificaron las lectinas, glucósidos cianogénicos, inhibidores tripsicos y alcaloides, debido a que estos compuestos pudieran estar presentes en las semillas, además de que otras sustancias antinutritivas, como los taninos no se ha detectado su presencia en los lupinos cultivados 107, 145.

#### LECTINAS O FITOHEMAGLUTININAS

Las hemaglutininas son comunes en las leguminosas y sólo en años recientes, mediante el análisis de difracción de rayos X se ha identificado su estructura química, que varía de acuerdo a la especie de leguminosa 147.

Los resultados de la hemaglutinación en las tres especies de lupinos evaluados no son significativos para provocar efectos negativos al organismo y coinciden con los encontrados en L. mutabilis que presenta una actividad mínima de aglutinación en sangre de diferentes animales, además estos datos son menores al de algunas leguminosas que se utilizan en la alimentación animal, los cuales consumidos en forma cruda son letales al ganado, estas son Robinia pseudoacacia, Canavalia ensiformis, Arachis hipogaea, y Glycine max, así como en diversas especies de Phaseolus (frijol), que es de uso común en la alimentación humana, en donde se encontró toxicidad elevada en animales de laboratorio, pero al someterlas a cocción desaparece la toxicidad 33, 60, 97, 121, 148.

Sin embargo, las fitohemaglutininas no fueron detectadas en las leguminosas silvestres estudiadas por diversos autores <sup>21, 41, 58,</sup>

Asimismo se debe considerar que la aglutinación de eritrocitos varia entre ecotipos de la misma especie, además hay reacción en forma diferente con sangre de distintas especies animales o determinados grupos sanguíneos humanos, por lo que sería conveniente realizar más pruebas de esta leguminosas con glóbulos rojos de animales de alta sensibilidad, como de hámster o ratón.

#### GLUCOSIDOS CIANOGENICOS

La principal intoxicación de animales por ácido cianhídrico es causado por los vegetales <sup>125</sup>. En la leguminosas se han identificado tres tipos de glucósidos cianogénicos, estos son: acacipetalina, aislado e identificado en el género *Acacia*, linamarina y lotautralina, ambos encontrados en los géneros *Lotus, Phaseolus y Trifolim* <sup>147</sup>.

La concentración de ácido cianhídrico cuantificado en las especies evaluadas resultó muy bajo, con 7.7  $\mu$ g (0.0077 mg)  $\pm$  1.23, 5.7  $\mu$ g (0.0057 mg)  $\pm$  0.64 y 3.3  $\mu$ g (0.0033 mg)  $\pm$  0.6 de HCN/100 g de muestra de L. exaltatus, L. mexicanus y L. reflexus respectivamente, esta cantidades están muy por debajo del limite permitido, que es de 20 mg de HCN/100 g de muestra  $^{32, 125}$ , además estos valores son inferiores a los de otras leguminosas cultivadas y silvestres como el Phaseolus vulgaris (1.52  $\pm$  0.22 a 1.83  $\pm$  0.4), pisum sativum (1.52  $\pm$  0.12), picia faba (1.21  $\pm$  0.15), picus esculenta (0.46  $\pm$  0.11), picia raientinum (1.26  $\pm$  0.13) picia picum (1.53  $\pm$  0.12), así como pirrina americana (5.7), pirricidina sepium (1.71) pis Bahuinia purpurea (1.47) p12.99

De la Vega y Sotelo (1986) encontraron mayor concentración de HCN en *Phaseolus lunatus* silvestre (24.5-158 mg/100 mg de muestra) que en cultivadas (1.06-2.03) <sup>41</sup>, lo cual no resultó así para los lupinos estudiados, ya que los valores encontrados de estas sustancias son menores a los reportados en las especies cultivadas de lupinos (0.57 a 2.89 en *L. mutabilis*, 0.46 ± 0.22 en *L. albus* y 0.42 ± 0.2 en *L. luteus* <sup>32, 144, 145</sup>.

#### INHIBIDORES DE TRIPSINA

Las leguminosas son de los grupos en que más se ha estudiado la presencia de inhibidores de enzimas proteolíticas o proteasas, estos compuestos de acuerdo a la naturaleza del sitio activo en que actúan y el mecanismo de acción que desencadenan se clasifican en cuatro grupos: proteinasas serina (ej. tripsina, quimiotripsina, trombina, plasmina y elastasa), proteinasas sulfhidrilo (papaina, bromelina y ficina), metaloproteinasas (carboxipeptidasas A y B y aminopeptidasas) y proteinasas acídicas (pepsina y renina). Las más estudiadas son las que inhiben la tripsina, por la importancia de esta enzima en el tracto digestivo 137, 142.

Actualmente se cree que los inhibidores trípsicos son de los principales compuestos causantes de la baja digestibilidad proteíca de las leguminosas, como en el caso de la soya que es de los principales portadores de estos compuestos con 113 hasta 134.4 TUI/mg de muestra <sup>19, 86, 98, 161</sup>.

En los lupinos estudiados no se detectó actividad inhibitoria, coincidiendo con los reportados por Shoeneberger et al (1982), ya que en cuatro de cinco ecotipos de *L. mutabilis* no detecto esta sustancia y en el otro ecotipo presentó 1.16 UIT/mg de muestra <sup>145</sup>; además de que en los lupinos cultivados se encuentran los menores niveles de estos inhibidores en comparación con otras leguminosas <sup>144</sup>.

Los inhibidores tripsicos se encuentran en cantidades variables en las leguminosas desde 1.8 en *Lens esculenta* hasta 240 UTI/mg de muestra en *Pitecellobium flexicaule*, pero al igual que

otros compuestos termolabiles estas sustancias disminuyen al someterlas a cocción 41, 48, 58, 60, 148, 149.

Los resultados encontrados de lectinas, glucósidos cianogénicos e inhibidores de la tripsina son similares a los encontrados en lupinos cultivados, en donde se señala que estas tres sustancias, las cuales provocan problemas para la utilización de leguminosas, no son de importancia desde el punto de vista nutricional en los lupinos 144.

#### ALCALOIDES

Se debe considerar que el mayor inconveniente para el uso de los lupinos en la alimentación es su contenido de alcaloides tóxicos del tipo quinolizidinos y piperidinos distribuidos en toda la planta (flor, fruto, hojas, semillas y raíz), los que provocan desde un sabor amargo hasta intoxicación <sup>89</sup>.

Se tiene establecido tres tipos de síndromes provocados por el alto consumo de lupinos, los dos primeros ocasionados por alcaloides:

- a) Intoxicación aguda o lupinismo, caracterizado por disnea, agitación, espasmos, coma y muerte por parálisis respiratorio, a causa de la acumulación de D-lupanina.
- b) Sindrome del becerro encorvado, el cual se manifiesta con malformación espinal y de extremidades, que se presenta en forma teratogénica en vacas con 40-75 días de gestación que consumen semillas con contenidos del alcaloide anagirina.
- c) Intoxicación crónica o lupinosis, manifestada por estupor,

anoréxia, perdida de peso, ictericia y atrofia hepática, causado por el consumo de la micotoxina del hongo *Phomopsis leptostriformis* y *P. rossiana* que parasita a estas leguminosas <sup>52, 90, 111, 120</sup>.

En los E.U.A. se reporta una gran incidencia de intoxicación en el ganado en pastoreo, por los lupinos nativos, tales como L. argenteus, L. laxiflorus, L. caudatus, L. leucophyllus, L. leucopsis, L. perennis y L. sericeus, entre otros, atribuida a su contenido de alcaloides 31, 53, 90, 147. Sin embargo Duncan et al (1955), en pruebas con ratones y pollos no encontró toxicidad en lupinos silvestres, incluyendo a L. perennis 47.

Lo anterior ha sugerido que no todas las especies silvestres son tóxicas, por lo que hace necesario conocer la variabilidad cuantitativa y cualitativa de los alcaloides de los lupinos, en diferentes partes de la planta, época y lugar donde crecen, así como en distintas especies, ya que algunas de éstas son aceptables como forrajeras, bajo ciertas condiciones de pastoreo 90.

En estudios realizados señalan que los monogástricos son más susceptibles a la intoxicación por los alcaloides de lupinos, y entre estos, los cerdos presentan mayor sensibilidad que los pollos y ratas <sup>11, 13, 26, 122, 141</sup>.

En humanos la intoxicación con lupinos es muy rara y se tiene reportado un caso de intoxicación con la ingesta accidental de semillas verdes de lupinos ornamentales y otro con el consumo de agua utilizada para el desamargado de estas leguminosas, en ambos casos se detectó en sangre y orina la presencia de D-lupanina, el cual se ha demostrado experimentalmente que bloquea los receptores

nicotínicos de los ganglios. Altas dosis de este alcaloide actúa directamente sobre el miocardio, causando bradicardia 102.

Los resultado obtenidos en el presente trabajo de las semillas evaluadas muestran concentraciones de alcaloides de 1.4 (L. exaltatus) y 2.1% (L.reflexus) similares a los reportados en otros lupinos silvestres, que se ha encontrado hasta el 3% 65, pero los porcentajes cuantificados en L. mexicanus de 8.4 resultan superiores, esto se debe problamente a que en la localidad donde crece esta especie, es de tipo semiarido con poca precipitación pluvial, ya que parece ser que existe una relación directa entre el contenido de alcaloides y el suministro de agua a las plantas.

Un mayor contenido de alcaloides no necesariamente indica mayor toxicidad, esto va a depender del tipo de alcaloide presente, especialmente lupanina y esparteina ya que plantas con contenidos de estos alcaloides deben ser consideradas como potencialmente tóxicas <sup>69</sup>. Algunos autores señalan que el tipo de alcaloides varia con la especie. Así se tiene que *L. albus* contiene más lupanina, mientras que en *L. luteus* la lupinina es el mayor alcaloide presente. En *L. mutabilis* los principales son lupanina, esparteina, 4-hidroxilupanina y 13-hidroxilupanina, la isolupanina y otros alcaloides no identificados se encuentran en pequeñas cantidades 145

Debido a lo anterior resulta necesario identificar el tipo de alcaloide presente en las especies estudiadas, así como realizar pruebas toxicológicas, teratogénicas y mutagénicas, ya que ésto nos indicaría con mayor exactitud la toxicidad de estas plantas.

De la misma forma, es conveniente realizar estudios para encontrar el método más adecuado para la disminución o eliminación de estas sustancias, sin alterar significativamente su contenido nutricional, para que nos permita utilizar estas especies sin riesgo alguno en la alimentación humana o animal <sup>132</sup>.

El descascarado de semillas podría ser una buena opción, ya que al analizar el grano (sin cáscara) de lupinos dulces se cuantificó 0.0079% de alcaloides comparado con el 0.028% de la semilla completa, por lo que se sugiere que un buen porcentaje de alcaloides se concentra en o cerca de la testa, sin embargo habría que valorar el costo del descascarado <sup>73</sup>.

otra parte el proceso tradicional de desamargado resultaría impractico para una producción a gran escala, debido a los problemas con los desperdicios de los extractos tóxicos y al secado de las semillas, por lo que algunos autores sugieren que el desengrasado con solventes orgánicos sería la mejor opción, ya que llega a eliminar hasta el 60% de los alcaloides 40, 70, 101, o mejor aprovechar estas sustancias en la elaboración de bioinsecticidas, como el "lupimex" 65.

Con los resultado obtenidos de las semillas de los lupinos estudiados, estos pueden representan una fuente importante de proteína, pero se debe considerar su deficiencia de aminoácidos como metionina, fenilalanina, triptófano, arginina y valina, sin embargo los animales utilizados (ratas) en los ensayos biológicos tienen altas necesidades de metionina para su crecimiento, por lo que estos valores no pudieran ser relevantes para la calidad

proteíca en otras especies animales incluyendo al hombre <sup>145</sup>, además se tiene que al suplementar con metionina, los lupinos resultan ser muy buena fuente de proteínas para ratas y pollos <sup>69</sup>.

Asimismo se deben buscar métodos adecuados para la eliminación de los alcaloides, dentro de las alternativas anteriormente planteadas.

Debido a estas características, los lupinos presentan una alternativa de suministro de proteínas a nivel mundial y sobre todo en lugares donde no crece la soya, además existe la posibilidad de incorporar especies silvestres a la alimentación humana o animal, y poder domesticarlar dadas las ventajas que presentan para su cultivo <sup>75, 105, 152</sup>.

Mediante el moderno cultivo de plantas, la ciencia agrícola y la tecnología de alimentos, estas leguminosas podrían ser otro ejemplo de cultivos nativos y tomar un lugar importante en la agricultura de todo el mundo.

Como en el caso de L. mutabilis, donde Instituciones como la Agencia Alemana para la Cooperación Tecnológica (G.T.Z.) han desarrollado estudios para promover el uso y cultivo del Tarwi (L. mutabilis) en Sudamérica, principalmente en el Perú  $^{144}$ .

El cultivo de los lupinos en nuestra región se pudiera realizar sin desplazar a los cultivos tradicionales, ya que se hace en suelos pobres y marginados, no aptos para otros cultivos o en rotación alternando con gramineas.

Además las especies de *Lupinus*, son consideradas de gran interés para impulsar su utilización en México <sup>107</sup>.

Todo lo anterior con la finalidad de utilizarlos en la nutrición animal o del hombre como ingrediente alimentario mezclado o en la elaboración de comidas de consumo popular <sup>12, 62, 169</sup>, considerando los factores necesarios para la introducción de nuevos alimentos <sup>29</sup>.

#### CONCLUSIONES

- 1.- Las tres especies más abundantes en Jalisco son: L. exaltatus, L. reflexus y L. mexicanus y dadas las características agroclimaticas que presentan pudiera ser factible su cultivo en nuestra región.
- 2.- La composición química y de sustancias tóxicas resultó similar entre las tres especies y sus partes evaluadas.
- 3.- Las vainas de los lupinos analizados, revelaron altos contenidos de FDN y FDA, las semillas presentan mayores porcentajes de Contenido Celular y la hemicelulosa fue detectada en mayor cantidad en el follaje de las tres especies.
- 4.- Los niveles de P.C., así como la digestibilidad proteíca y contenido de aminoácidos resultaron aceptables en las semillas de estas leguminosas, similares a los de otras leguminosas.
- 5.- La presencia de sustancias como hemaglutininas, glucósidos cianogénicos e inhibidores de la tripsina, no se encontró en cantidades significativas para causar algún problema toxicológico.
- 6.- Los alcaloides totales se encontraron en porcentajes elevados, por lo que este compuesto resultó ser la principal limitante para utilizar a estas especies en la alimentación humana y animal.

#### BIBLIOGRAFÍA.

- 1.- Agosin E., D. Diaz, R. Aravena and E. Yañez. 1989. Chemical and nutritional characterization of lupine tempeh. <u>J. Food Sci.</u> 54: 102-107.
- 2.- Aguilera J.F. and Trier A. 1978. The revival of the lupin. Food Technol. 32: 70-76.
- 3.- Aguilera J.F., C. Prieto, J. Fonella and F. Gil. 1986.
  Protein and energy utilisation in rats of diets based on lupin seed (*Lupinus albus* cv. multolupa). Anim. Sci. Feed Tech. 15;33-40
- 4.- Aguilera J.F.; M. Bustos and E. Molina. 1992. The degradability of legume seed meals in the rumen: effect of heat treatment. <u>Anim. Feed Sci. Tech.</u> 36: 101-112.
- 5.- Ali H. and Motagally Z. 1979. Bean wing meal in chick rations Res. Bull. N. 1: 207.
- 6.- Allen J.G. and Wood P.M. 1979. The prevention of lupinosis by making lupin hay. <u>Aust. Vet. J.</u> 55: 38-39.
- 7.- A.O.A.C. 1980. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. 13st ed. Washington, U.S.A.
- 8.- Arnold G.W., J.L. Hill, R.A. Maller, S.R. Wallace, B.A. Carbon, M. Nairn, P. McR. Wood and J. Weeldenburg. 1976. Comparison of lupin varieties for nutritive value as dry standing feed for weaner sheep and for incidence of lupinosis. Aust. J. Agric. Res. 27:423-35.
- 9.- Aykroyd W.R. y J. Dougthy. 1964. Las leguminosas en la alimentación humana. <u>Ed. Organización de las Naciones Unidas Para la Alimentación y la Agricultura (FAO).</u> Roma, Italia.
- 10.- Baer Von D., Hartmut R.E. und Feldheim W. 1979. Methoden zur bestimmung der chinolizidinalkaloide in *Lupinus mutabilis*. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 169: 27-31.
- 11.- Ballester D.R, E. Yañez, R. Garcia, S.Erazo, F. Lopez, E. Haardt, S. Cornejo, A.López, J.Pokniak and Clinton O. C. 1980. Chemical composition, nutritive value and toxical evaluation of two species of sweet lupine (Lupinus albus and Lupinus luteus). J. Agric. Food Chem. 28: 402-405.

- 12.- Ballester D.R., Zacarias I., Garcia E. and Yañez E. 1984.
  Baking studies and nutritional value of bread supplemented with full-fat sweet lupine flour (*Lupinus albus* cv. multolupa). <u>J. Food Sci.</u> 49: 14-16
- 13.- Ballester D.R., Brunsen O., Saitua M.T. Egana J., Yañez E.O. and Owen D.F.1984. Safety evaluation of sweet lupine (Lupinus albus cv. multolupa).II. nine mounth feeding and multigeneration study in rats. Food Chem. Toxicol. 22:45-48.
- 14.- Ballester D., P. Carreño, X. Urrutia aand E. Yañez. 1986. Chemical composition and nutritional quality of sugar cookies containing full-fat sweet lupine flour (L. albus cv. multolupa). J. Food Sci. 51: 645-658.
- 15.- Batterham E.S., R.D. Murison and L.M. Andersen. 1984.
  Availability of lysine in vegetable protein concentrates as determined by the slope-ratio assay with growing pigs and rats and chemical techniques <u>Br. J. Nutr.</u> 51: 85-99
- 16.- Batterham E.S., Andersen L.M., Lowe R.F. and Darnell R.E. 1986. Nutritional value of lupin (Lupinus albus) seed meal for growing pigs: availability of lisine, effect of autoclaving and net energy contents <a href="https://example.com/Br. J. Nutr.">Br. J. Nutr.</a> 56: 645-659.
- 17.- Batterham E.S., Andersen L.M., B.V. Burnham and Taylor G.A. 1986. Effect of heat on the nutritional value of lupin (Lupinus angustifolius) seed meal for growing pigs. Br. J. Nutr. 55: 169-177.
- 18.- Bischoff R. 1985. Bittere Lupinen ein unkraut wird eBbar. Bild der Wissenschaft 5:50-58.
- 19.- Bourges R.H. 1979. Utilización directa de la soya en la alimentación humana. <u>Cuad. Nutr.</u> 4: 69-75.
- 20.- Bressani R., Elias L.G. y M.R. Molina. 1977. Estudio sobre la digestibilidad de la proteína de varias especies de leguminosas. <u>Arch. Latinoamer. Nutr.</u> 27: 215-231.
- 21.- Bravo O.F. 1971. Estudios sobre la composición química de la semilla de *Clitoria ternatea* Linn. <u>Téc. Pec.</u> 17: 100-102.
- 22.- Brien F.D., I.A. Cumming and R.W. Baxter. 1977. Effect of feeding a lupin grain supplement on reproductive performance of maiden and mature ewes. <u>J. Agric Sci Camb</u> 89: 437-443.
- 23.- Camacho L., Sierra C., Marcus D., Guzman D., Campos R., Von Baer D. and Trugo L. 1991. Nutritional quality of lupine (Lupinus albus cv. multolupa) as affected by lactic acid fermentation. Int. J. Food Microbiol. 14: 277-286

- 24.- Castanon J.I.R. and J. Perez-Lanzac. 1990. Sustitution of fixed amount of soybean meal for field bean (*Vicia faba*), Sweet lupins (*Lupinus albus*), cull peas (*Pisum sativum*) and veatch (*Vicia sativa*) in diets for high performance laying leghorn hens. <u>Br. Poult. Sci.</u> 31: 173-180.
- 25.- Carillo R.R. y Rollo M.M.H. 1991. Valor nutricional de cinco leguminosas nativas colectadas en la sierra "El Nido", Mpio. de Chihuahua. En: memorias de la Reunion Nacional de Investigación Pecuaria. 26-29 de Nov.Cd. Victoria, Tam.
- 26.- Casper H.H., Berg I.E., Crenshaw J.D., Colville J.L. and Wass W.M. 1991. Lupin bean meal toxicosis in swine <u>J. Vet. Diag. Inv.</u> 3: 172-173.
- 27.- Catricheo R., F. Sánchez, M. Aguayo, D. Ballester y E. Yañez.1989. Desarrollo y evaluación química y nutricional de un alimento infantil a base de lupino dulce, trigo y leche. <u>Arch. Latinoamer. Nutr.</u> 39: 141-149.
- 28.- Cerning-Beroard, J. and A. Filiatre-Verel. 1980. Characterization and distribution of soluble and insoluble carbohydrates in lupine seed. <u>Z. Lebensm. Unters-Forsch.</u> 171: 281-285.
- 29.- Chávez J.F. 1980. Factores a considerar en la producción e introducción de alimentos de calidad proteínica superior.

  <u>Arch. Latinoamer. Nutr.</u> 1: 11-45
- 30.- Cházaro B.M. 1977. Hizache, *Acacia pennatula*, una invasora de Veracruz. <u>Bioti</u>ca 2:1-18.
- 31.- Coburn W. 1983. Poisonous plants. III. Poisonous alkaloids in plants. Weeds Today. 14: 6-7.
- 32.- Contreras S., Araya H., N. Pak y M.A. Tagle. 1973. Factores tóxicos de leguminosas cultivadas en Chile.I. Glucósidos cianogenéticos. <u>Arch. Latinoamer. Nutr.</u> 23: 251-259.
- 33.- Contreras S. y M.A. Tagle. 1974. Factores tóxicos de leguminosas cultivadas en Chile. III. Hemaglutininas. <u>Arch. Latinoamer. Nutr.</u> 24: 191-199.
- 34.- Crenshaw J.D., H.H. Casper, I.E. Berg and W.M. Wass. 1989. Swine feed refusal of hexane-extracted, dehulled lupin bean meal. <u>Amer. Dairy Sci. Assoc./Amer.Soc. Anim. Sci. Combined Annual Meeting.</u> Suppl. 1: 261 (abstr).
- 35.- Cubero J.I. y Moreno M.T. 1983. Leguminosas de grano. <u>Ed. Mundi-Prensa.</u> Madrid, España.

- 36.- Croker K.P., J.G. Allen, D.S. Petterson, H.G. Master and R.F. Frayne. 1979. Utilization of lupin stubbles by merino sheep: Studies of animal performance, rates and time of stocking, lupinosis, liver cooper and zinc, and circulation plasma enzymes. Aust. J. Agric. Res. 30: 551-64.
- 37.- Croker, K.P. and J.G. Allen. 1990. Treating lupin stubbles with alkali is unlikely to prevent lupinosis. <u>Aust. Vet. J.</u> 67: 230-132.
- 38.- Dávila O.G., Martínez A.A, Sepúlveda J.G. y Rodríguez A.S. 1992. Aislado protéico de semilla de lupino obtenida por micelización. En: memorias del primer congreso Nacional de Nutriología, Nov. 16-19, Merida Yucatán.
- 39.- Dávila O.G. Martínez A.A., Rodríguez A.S. y Sepúlveda J.G. 1993. Aislados protéicos de lupino: composición, factores antinutricionales y capacidad de absorción de agua y aceite. En: Memorias del II Congreso Latinoamericano y del Caribe de Ciencia y Tecnología de Alimentos, 14-17 Mar. México, D.F.
- 40.- De la Cruz F.J. 1980. Experimental research in to lupine debittering technology. In: Proceedings of the First International Lupine Workshop. Agricultural and Nutritional Aspects of Lupines. Lima-Cuzco, Perú 12-21, April 1980.

  Published by: Deutsche Gesellschaft für Technische
  Zusammenarbeit. German Agency forTechnical Cooperation
  (GTZ). Federal Republic of Germany.
- 41.- De la Vega A. and Sotelo A. 1986. The nutritional quality and toxin content of wild and cultivated lima bean (*Phaseolus lunatus*). Qual. Plant. Foods Hum. Nutr.
- 42.- D'Mello J.P.F. 1992. Chemical constraints to the use of tropical legumes in animal nutrition. Anim. Feed Sci. Tech. 38: 237-261
- 43.- Dominguez X.A. 1973. Métodos de investigación fitoquímica. Cap. 15 Alcaloides. <u>Ed por: Centro Regional de Ayuda</u> <u>Técnica.</u> Buenos Aires, Argentina.
- 44.- Donovan B.C., M.A. Mcniven, D.M. Anderson and J.T. Macleod. 1990. Nutritive value of raw or dehidrated lupin seeds (*Lupinus albus* ultra) evaluated in finisher pigs. <u>Can. Anim. Sci.</u> 70: 1154-1206.
- 45.- Donovan B.C., M.A. McNiven, J.A. MacLeod and D.M. Anderson. 1991. Protein quality of two cultivars of lupin seed evaluated in weanling rats. <u>Anim. Feed Sci. Tech.</u> 33: 87-95.



- 46.- Duque R.L., Dávila O.G., Sánchez P.M. y Martínez A.A. 1993.

  Efecto del proceso de destoxificación acuosa sobre las propiedades funcionales de las proteínas del Lupinus mutabilis, cultivado en México. En: Memorias del II Congreso Latinoamericano y del Caribe de Ciencia y Tecnología de Alimentos, 14-17 Mar. México, D.F.
- 47.- Duncan D.H., P.I. Piercy and R.J. Starling. 1955. Toxicological studies of southeastern plants. I. Leguminosae. <u>Econ. Bot.</u> 9:243-245.
- 48.- Elias L. G., Hernández M. and Bressani R. 1976. The nutritive value of precooked legume flour processed by differents methods. Nutr. Int. Rep. 14: 385-406.
- 49.- Escobar A., O de la Parra y R. Parra. 1985. Efecto del tratamiento alcalino sobre la digestibilidad "in vitro" y composición química de residuos agrícolas fibrosos.

  Prod. Anim. Trop. 10: 61-70.
- 50.- FAO/OMS. 1989. El hambre en el mundo. Editado por: FAO/OMS. Dia mundial de la alimentación. Roma, Italia.
- -51. Feferbaum, S.De. 1982. High-Living bean. IDRC Reports. 11:15.
- 52.- Finell, R.H.; C.C. Gay, and L.C. Abbott. 1991. Teratogenicity of rangeland *Lupinus*: the crooked calf disease. Handbook of Natural Toxins, vol 6. <u>Published by: Marcel Dekker, Inc.</u> New York, N.Y. USA. (abstr.)
- 53.- Fitton C.J. 1936. Lupine studies. IX monolupine, a new alkaloid from Lupinus caudatus kellogs. J. Amer. Chem. Soc. 58: 686-687.
- 54.- Flores M.J. 1991. Manual de alimentación animal. Vol II. Cap. 6. Leguminosas. 1a edición. <u>Ed. LIMUSA</u>, <u>México pp. 413-518</u>.
- 55.- Foroughbakhch R. y Havad L.A. 1990. Valor nutritivo de algunas especies del matorral como fuente alimenticia del venado cola blanca en el noreste de México. Rep. Cient. Fac. Cs. Forest. U.A.N.L. 9 pp.
- 56.- Freer M. and Dave H. 1984. Rumen degradation of protein in sunflower meal, rapeseed meal and lupin seed placed in nylon bags. <u>Anim. Feed Sci. Tech.</u> 11:87-101.
- 57.- Gattás Z.V., G.Barrera A., E. Yañez S. y R. Uauy D.1990. Evaluación de la tolerancia y aceptabilidad crónica de la harina de lupino (*Lupinus albus* var. Multolupa) en la alimentación de adultos jóvenes. <u>Arch. Latinoamer. Nutr.</u> 40: 490-502.

- 58.- Giral F., A. Sotelo, B. Lucas and A. de la Vega. 1978. Chemical composition and toxic factors content in fefteen leguminous seeds. <u>Quart. J. Crude Drug. Res.</u> 16: 143-149
- 659.- Gladstone J.S. 1970. Lupins as crop plants. <u>Field Crop Abstracts</u>. 23: 123-148.
  - 60.- Gonzalez G.M.T., Sousa V. and Sotelo A. 1982. Differential cytotoxicity of the isolated protein fraction of ecumite bean (*Phaseolus acutifolius*). Qual. Plant Plant Foods Hum. Nutr. 31: 319-325.
  - 61.- Gross R., E. Morales, U. Gross und E. Von Baer. 1976. Die Lupine, sein Beitrag zur Nahrungsversorgung in den Anden 3. Ernährungsphysiologische Untersuchung mit dem Mehl derSuesslupine (Lupinus albus). Z. Ernährungswiss. 15:391-395.
  - 62.- Gross, R.; Baer, E.von. 1977. Use of Lupinus mutabilis and Lupinus albus in the Andean countries (Posibilidades del L. mutabilis y L. albus en los países andinos). Arch.

    Latinoamer. Nutr. 27: 451-474.
  - 63.- Guillame J., J.C. Chenieux and M. Rideau. 1979. Feeding value of *Lupinus albus* L. in chickens diets (With emphasis on the role of alkaloids). <u>Nutr. Rep. Inter.</u> 1: 57-65.
  - 64.- Guillame B., D.E. Otterby, J.G. Linn, M.D. Stern and D.G. Johnson. 1987. Comparison of sweet white lupin seeds with soybean meal as a protein supplement for lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 11: 2339-2348.
  - 65.- Haq N. 1993. Underutilized crops. Pulses and vegetables. Edited by J.T. Williams. Published by Chapman & Hall. London, U.K.
  - 66.- Hale O.M. and Miller J.D. 1985. Effects of either sweet or semi-sweet blue lupine an performance of swine. <u>J. Anim. Sci.</u> 4: 989-997.
  - 67.- Halvorson J.C., M.A. Shehata and P.E. Waibel. 1983. White lupine and triticale as feedstuffs in diets for turkeys.

    <u>Poultr. Sci.</u> 62: 1038-1044.
  - 68.- Hanczakowski P., Krasnodebska I., Zima J.1977. Composition and nutritive value of protein extracted from the seed of field peas and lupins. <u>Acta Agraria et Silvestria Zootechnica.</u> 17: 3-11.

- 69.- Hanczakowski P., Skrava B. and Hanczakowska E. 1981.
  Nutritive value of lupine seed protein and leaf protein concentrates supplemented whit various sulphures sources.
  Anim. Feed Sci. Tech. 6: 189-195.
- 70.- Hatzold T., Gonzalez J., Bocanegra M., Gross R. and Elmadfa I. 1980. Possibilities of lupine debbitering through extraction white differents solvents. In: Proceedings of the First International Lupine Workshop. Agricultural and Nutritional Aspects of Lupines. Lima-Cuzco, Perú 12-21, April 1980. Published by Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit. German Agency forTechnical Cooperation (GTZ). Federal Republic of Germany
- 71.- Hernández I.M. y Sotelo L.A. 1980. Calidad nutritiva del ayacote (*Phaseolus coccineous*) suplementado con metionina en diferentes etapas de la cocción <u>Arch. Latinoamer. Nutr.</u> 30: 99-116.
- 72.- Herrera H., Núñez H., Molina B., Mermoud J. and Peña R. 1980. Feeding of rainbow trouts using lupine. In: Proceedings of the First International Lupine Workshop. Agricultural and Nutritional Aspects of Lupines. Lima-Cuzco, Perú 12-21, April 1980. Published by Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit. German Agency forTechnical Cooperation (GTZ). Federal Republic of Germany.
- \*73.- Hill G.D. 1977. The composition and nutritive value of Lupin seed. Nutr. Abstr. Rev., B. 47: 511-529.
  - 74.- Hodge R.W., B. Bogdanovic and D. Sweatman. 1981. Wool production of merino sheep fed daily or twice weekly on oats or lupins. <u>Aust. J. Exp. Agric. and Anim. Husb.</u> 21: 277-279.
  - 75.- Hudson B.J.F., Fleetwood J.G. and Zand M.A. 1976. Lupin: an arable food crop for temperate climates. <u>Pl. Food for Man.</u> 2: 81-90.
  - 76.- Humphereys D.J.1990. Toxicology Veterinary Tercera edición. Ed. Mc Graw-Hill. pp 257-258.
  - 77.- Isely D. 1982. Leguminosae and Homo sapiens Econ. Bot. 36: 47-70.
  - 78.- Ivanovic D., D.Ballester y E. Yañez.1983. Formulación y valor nutrivo de dos sustitutos lácteos en base a lupino dulce (*Lupinus albus* var. Multolupa). <u>Arch. Latinoamer. Nutr.</u> 33: 620-632.
  - 79.- Jaffe W.G., Levy A and Gonzalez D.I. 1974. Isolation and partial characterization of bean phytohemagglutinins. Phytochem. 13: 2685-2693.

- 80.- Jansen D.H. 1981. The defence of legumes against herbivores. In Advances in legumes systematics. <u>Edited by: Polrral and Raven. U.S.A.</u>
- 81.- Jambrina A.J. 1980. Introducción al cultivo del *Lupinus* (Altramuz). <u>Editado por: Comunicaciones I.N.I.A.</u> Serie producción vegetal. No 26. 18 pp. Madrid, España.
- 82.- Jambrina A.J. 1983. La genética de los alcaloides en el género *Lupinus*. <u>Editado por: Comunicaciones I.N.I.A.</u> Serie producción vegetal. No 51. 12 pp. Madrid, España.
- 83.- Johnson J.C.Jr., J.D. Miller and D.M. Bedell. 1986.
  Tifwithe-78 lupine seed as a feedstuff for cattle. <u>J. Dairy</u>
  Sci. 69: 142-147.
- 84.- Johnston P.N. 1988. The effect of soybean meal, soybean, bitter lupine, fava beans and peas on the growth and lactation of rabbits. <u>J. Anim. Sci.</u> 66 (suppl. 1): 188-189.
- 85.- Johnston P.N. and M.E. Uzcategui 1988. Effect of Lupinus mutabilis (chocho or tarwi) on the lactation and growth of rabbits and guinea pigs. J. Anim. Sci. 66 (suppl. 1): 334.
- 86.- Kakade M.L., J.J. Rackis, J.E. Mcghee and G. Puski. 1974.
  Determination of tripsin inhibitor activity of soy products:
  A collaborative analysis of an improved procedure. Cer.Chem.
  51: 376-382.
- 87.- Keller W.J. and S.G. Zelenski. 1978. Alkaloids from Lupinus argenteus var stenophyllus. <u>J. Pharm. Sci.</u> 3: 430-431.
- 88.- King R.H. 1981. Lupin seed meal (*Lupinus albus* cv hamburg) as a source of protein for growing pigs. <u>Anim. Feed Sci. Tech.</u> 6: 285-296.
- 89.- Kinghorn A.D., Selim M.A. and Smolenski S.J. 1980. Alkaloid distribution in some new world *Lupinus* species. <u>Phitochem.</u> 19: 1705-1710.
- 90.- Kingsbury J.M. 1964. Poisonous plants of the United States and Canada. First edition. <u>Ed. Prentice-Hall Inc.</u> New Jersey. USA.
- 91.- Koreleski J., Rys R., Kubicz M. 1977. Effect of heating and autoclaving of field pea and yellow lupin seed on the protein value. Roczniki Naukowe Zootechniki. 4: 203-208 (abstr.)

- 92.- Kung L., K. Maciorowski, S. Weidner, K. Murray, C. Tipping and K. Buffum. 1990. Effect of roasting on the nutritive value of lupins for rumiants. <u>J. Anim. Sci.</u> 68 (suppl. 1): 513-514.
- 93.- Kung L., K. Maciorowski, K.M. Powell, S. Weidner and C.L. Eley. 1991. Lupin as a protein suplement for growing lambs. J. Anim. Sci. 69: 3398-3405
- 94.- Larbier M. 1980. Feeding value of sweet lupins (Lupinus albus) for laying hens. Arch. Geflugelk. 44: 224-228.
- 95.- Leibholz J. 1984. Methionine supplementation of diets for pigs between 7 and 56 days of age. <u>Anim. Prod.</u> 39: 125-130.
- 96.- Leibholz J. 1986. The utilization of lysine by young pigs from nine protein concentrates compared with free lysine in young pigs ad lib. <u>Br. J. Nutr.</u> 55: 179-186.
- 97.- Liener I.E. 1964. Seed hemagglutinins. Econ. Bot. 18: 27-33.
- 98.- Liener I.E. 1976. Legume toxin in relation to protein digestibility. A review. <u>J. Food. Sci.</u> 41: 1076-1081.
- 99.- Lucas B. and Sotelo A. 1984. A simplified test for the quantitation of cyanogenic glucosides in wild and cultivated seeds. <u>Nutr. Rep. Int.</u> 29: 711-719.
- 100.-Lucas B., A. Guerrero, L. Sigales and A. Sotelo. 1988. True protein content and non-protein aminoacids presents in legumes seeds. <u>Nutr. Rep. Int.</u> 3: 345-353.
- 101.-Luciano M., Pompei C. and Rossi M. 1984. Oil and alkaloid removal from *Lupinus mutabilis* by extraction with hexano. <u>Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie.</u> 17: 324-327. (Food Sci. Tech. Abst. 1985 17, 8G).
- 102.-Luque M.L. and M. Gutierrez R. 1991. Acute poisoing by lupine seed debittering water. <u>Vet. Hum. Toxicol.</u> 33: 265-267.
- \* 103.-Mac. Dowell L.R. 1974. Latin American Tables of feed Composition University of Florida Gainesville, Fl. U.S.A.
  - 104. -Mahmound M.H., S. Kazuki, K. Hansem A. Taha K.I., A. Hassam A. and I. Samu M. 1991. Lupine alkaloids from the seeds of Lupinus termis. <u>Phytochem.</u> 30: 3111-3115.
  - 105.-Manzanares A.T. y Estrella P.A. 1985. Programa de cultivos potenciales alimentarios prehispanicos, mesoamérica y andina. <u>Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro</u>.

- 106.-Marshall D.R., Brove P. and J Munday. 1979. Tannins in pasture legumes. <u>Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.</u> 19:192-197.
- 107.-Martínez A.M.A. 1991. Cinco familias de plantas con potencial económico y genético para Méxido. Avances en el estudio de los recursos fitogenéticos de México. <u>Publicado por: Sociedad Mexicana de Fitogenética A.C.</u>
- 108.-May, M.G.; D.G. Johnson; D.E. Otterby and J.G. Linn. 1990. Effects of substituting lupine seed protein for soybean meal in dairy cattle diets. <u>J. Dairy Sci.</u> 73 (suppl.1): 167 (Abstr.).
- 109.-May M.G., Otterby D.E., Linn J.G., Hansen W.P., Johnson D. G. and Putman D.H. 1993. Lupins (*Lupinus albus*) as a protein supplement for lactating holstein dairy cows <u>J. Dairy Sci.</u> 76: 2682-2691.
- 110.-Mc Vaught R. 1987. Flora novogaliciana. V. Leguminosae. A descriptive account of the vascular plants of western Mexico. Ann Arbor The University of Michigan Press USA.
- 111.-Meeker J.E. and W.W.Kilgore. 1991. Investigation of the teratogenic potential of lupine alkaloid anagryne. Handbook of Natural Toxins. Vol 6. Ed.A.T.Tu. <u>Publ.by:Marcel Dekker, Inc. New York, N.Y.</u> USA. (abstr.).
- 112.-Meixner B., Henning and Merbach W. 1983. Utersuchungen zum einsatz der werßen süßLupinensorte Kiewskij mutant (*Lupinus albus*) in der broilermast. <u>Tierernahrung und Futterung</u>. 13: 197-203.
- 113.-Mlodkowski M., Celejewska-Gebska T. and Mlodkowska I. 1978.

  Nutritive value for broiler chickens of two new
  varieties of yellow lupin. Roczniki Nauk Rolniczych. 99:
  19-27.
- 114.-Mulholland, J.G.; J.B. Coombe and P.R. Dann. 1976. Use of oat, lupin and field pea stubbles by grazing sheep. <u>Aust.</u> <u>J. Exp. Agric. and Anim. Husb.</u> 16: 467-471.
- \* 115.-National Academy of Science. 1979. Tropical lugumes: resource for the future. Report of an ad hoc panel of the Advisory Committee on Technology Inovation. Washington, U.S.A.
  - 116.-Neathery M.W. 1968. Dry matter disappearence of roughages in nylon bags suspended in the rumen. <u>J. Dairy Sci.</u> 52: 74-78.

- 117.-Nelson D.A.; S.G. Cornelius; L.J. Johnston and J.D. Hawton. Dehulled, defatted lupine (*Lupinus albus*, CV. Kiev) seed meal in growing-finishing swine diets. <u>J. Anim. Sci.</u> 68 (Suppl.1): 103-104. (abstr.).
- 118.-Nielsen S.S. 1991. Digestibility of legume proteins. <u>Food</u> <u>Tech.</u> 9: 112-118.
- 119.-Nierle W. und El Baya A.W. 1977. Untersuchung und Zusammensetzung einiger Leguminosen. Z. Lebensm Unters Forsch. 164: 23-27. (abst.)
  - 120.-Panter, K.E.; R.F. Keeler. T.D. Bunch and R.J. Callan.1990. Congenital skeletal malformations and cleft palate induced in goats by ingestion of *Lupinus*, *Conium* and *Nicotiana* species. Toxicon 28: 1377-1385.
  - 121.-Pak N., Mateluna A. y Ayala H. 1978. Efectos de diversos tratamientos térmicos en el contenido de hemaglutininas y en la calidad proteíca del frijol (*Phaseolus vulgaris*).

    Arch.Latinoamer. Nutr. 28: 184-195.
  - 122.-Pastuszewska B., Jach K. and Perkowski W. 1989. The effect of lupin alkaloids on growth performance of rats and chicken. In: Recent Advances Research antinutritionals Factors of Legumes Seed. (Chem. Abst. No 7 1972, ref. 57706c).
  - 123.-Pazy B. 1980. Wild population of native mediterranean lupines. In: Agricultural and Nutritional Aspects of lupines. Proceedings of the First International Lupine Workshop. Apr 12-21. Lima, Perú. <u>Publ. by: Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ).</u> Federal Republic of Germany.
  - 124.-Pearson, B.H.; McMeiman, N.P. and Dowsett, K.F. 1991.

    Effect of lupin (Lupinus angustifolius) supplementation on ovarian and pituitary activity in ewes. Reprod. Fertil.

    Dev. 30: 109-112.
  - 125.-Perez L.J.A., F. Genis M., Rosiles M.L. y Horta R.J.M. 1992. Variación del contenido de cianuro en *Prunus* brachyobotrya en la segunda mitad de su desarrollo. <u>Vet.</u> Mex. 2: 131-133.
  - 126.-Petterson, D.S.; Ellis, Z.L.; Harris, D.J. and Spadek, Z.E. 1987. Acute toxicity of the mayor alkaloids of cultivated Lupinus angustifolius seed to rats. J. Appl. Toxicol. 7: 51-53.

- 127.-Piech-Schleicher A. and Jamroz D. 1980. Zastosowanie nasion Lubinu zoltego pastewnego w mieszankach tresciwych dla kurcsat brojlerow. Cz. II. Naciona lubinu zoltego I drozdze pastewne jako substytuty poekstrakcyjnej sruty sojowej.

  Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej W. Wroclawin. 125:165-172.
- 128.-Pirie N.W. 1972. Research on leaf protein and its applications. <u>Arch Latinoamer. Nutr.</u> 22: 507-517.
- 129.-Prasad M., Singh L., Prasad K. and Mishra R. 1983. Effect of feeding subabul (*Leucaena leucocephala*) leafmeal on the comercial broilers. Ind. J. Anim. Sci. 53: 111-113.
- 130.-Priddis C.R. 1983. Capillary gas chromatography of lupin alkaloids. <u>J. Chromatogra.</u> 261: 95-101. (abstr.)
- 131.-Putman D.H. 1991. An interdisciplinary approach to the development of Lupin as an alternative crop. In:

  Proceedings of the Second National Symposium of New Crops, exploration, research and commercialization Edited by:

  Janick J. and Simon J.E. Purdue University.
- 132.-Rahma E.H. and M.S. Narasinga R. 1984. Effect of debbitering tratment on the composition and protein components of lupin seed (*Lupinus termis*) flour. <u>J. Aric. Food Chem</u>. 32: 1026-1030.
- 133.-Ranaweera P., Siriwardene A. and Manam peri B. 1981. Feeding value of *Glicirida* leaf meal for broilers chickens <u>Ceylan Vet. J.</u> 29: 4-6.
- 134.-Rodríguez P. T., T.Aliaga, H. Shoeneberger y R. Gross. 1981. Establecimiento de las condiciones optimas a nivel de laboratorio y de planta piloto para la preparación de un aislado proteínico de *Lupinus mutabilis*. <u>Arch. Latinoamer.</u> Nut. 31: 782-795.
- 135.-Rodríguez R. Ortega U. 1981. El Chocho, Lupinus mutabilis sweet, en el Ecuador. Ciencia y Naturaleza. 22: 82-92.
- 136.-Roth W.B., M.E. Carr, I.M. Cull, B.S. Phillips and O. Bagby. 1984. Evaluation of 107 legumes for renewable sources of energy. Econ. Bot. 38: 358-364.
- 137.-Richardson M. 1977. The proteinase inhibitors of plants and micro-organisms. <u>Phytochem.</u> 16: 159-169.
- 138.-Ruiz L. M.A. y Zamora N. J.F. 1993. Potencial Nutricional de las leguminosas silvestres de Jalisco. <u>En: Memorias del XII Congreso Mexicano de Botánica.</u> Mer, Yuc. 3 a 8 de oct.

- 139.-Ruiz L.P. and L.Hove. 1976. Conditions affecting production of a protein isolated from Lupin seed kernel. <u>J. Sci. Food.</u>

  Agric. 27: 667-674.
- 140.-Ruiz L. P. 1977. A rapid screening test for lupine alkaloid N.Z. Agric Res. 20: 51-52.
- 141.-Ruiz L.P., White S.F. and Hove E.L. 1977. The alkaloids content of sweet lupin seed used in feeding trials on pigs and rats <u>Anim. Feed Sci. Tech.</u> 2: 59-66.
- 142.-Saini H.S. 1988. Activity and thermal inactivation of protease inhibitors in grain legumes. Rec. Adv. Res. Antinutr. Fact. Leg. Seeds. Proc. Int. Workshop. Edited by: Huisman J., van der Poel T.F.B. and Liener I.E. (Chem.Abst. 1992. No 3 ref. 19895)
- 143.-Serratos A.J.C. 1989. Utilización de semillas de parota (*Enterolobium cyclocarpum*) para la alimentación humana. Tesis de Maestría en Ciencias de la Nutrición Animal <u>U. de</u> G.
- 144.-Shoeneberger H., Ildefonso C., Cremer H.D., Gross R. and Elmadfa I. 1980. Some antinutritive substances in lupines compared with other legumes In: Agricultural and Nutritional Aspects of lupines. Proceedings of the First International Lupine Workshop. Apr. 12-21. Lima, Perú. Publ. by: Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ). Federal Republic of Germany.
- 6 145.-Shoeneberger, H.; R.Gross; H.D. Cremerand I.Elmadfa.1982. Composition and protein quality of *Lupinus mutabilis* <u>J. Nutr.</u> 112: 70-76.
- 146.-Simpson M.J. and R. McGibbon. 1982. White lupin in cultivation in Iberia. <u>Econ. Botan.</u> 36: 442-446.
  - 147.-Smolenski S.J., Douglas K. A. and Balandrin M.F. 1981.
    Toxic constituents of legumes forage plants. <u>Econom. Bot.</u>
    35: 321-355.
  - 148.-Sotelo L. A., Hernández I.M. y Artega C.M.E. 1978. Inhibidores de tripsina y hemaglutininas en algunas leguminosas comestibles <u>Arch. Invest. Med.</u> 9: 1-14.
  - 149.-Sotelo L.A., B. Lucas, A. Uvalle and F. Giral. 1980. Chemical composition and toxic factors content of sixteen leguminous seeds (II). <u>Quart. J. Crude Drug Res.</u> 18: 9-16.
  - 150.-Sotelo L.A. y Lucas B. 1988. Análisis Especiales Utilizados en Nutrición y Química de Alimentos (19-30 Sep. 1988)

    Facultad de Quimica UNAM.

- 151.-Sourdshiska S., Harnisch S. 1977. Süßlupinen im futter von masthähnchen. <u>Archiv. Für Geflügelkunde.</u> 41: 56-61.
- 152.-Taha F.S. and El-Nockrashy A.S. 1982. Unconventional protein sources. I. Lupinus albus. Agric. Biol. Chem. 46: 2625-2629.
- 153.-Takada K., Nakasato T., Ono K, Honda H. and Yamane T. 1980. Feeding value of leaf meal of acacia in poultry feed. <u>Japan Poul. Sci.</u> 17: 229-305.
- 154.-Tejada I. de H., Berrueco J.M. y Merino Z.H. 1980. Análisis bromatológicos de alimentos empleados como ingredientes en nutrición animal <u>Tec. Pec.</u> 38:31-68.
- 155.-Tejada I. de H. 1990. Manual de laboratorio para análisis de ingredientes utilizados en la alimentación animal. <u>Ed. P. A. I. E. P. E. M.</u> México D.F.
- 156.-Teleni E., W.R. King, J.B. Rowe and G.H. McDowell. 1989. Lupins and energy-yielding nutrients in ewe. I. Glucose and acetate biokinetics and metabolic hormones in sheep fed a supplement of lupin grain. <u>Aust. J. Agric. Res.</u> 40: 913-24.
- 157.-Tracy V.A., B.A. Barton, G.W. Anderson and M.S. Williams. 1988 Comparison of sweet white lupin seeds with soybean oil meal as a protein supplement for sheep. <u>J.Anim. Sci.</u> 66 (suppl. 1): 499 (abstr.).
- 158.-Uauy R. and E. Yañez. 1983. Plant food for human protein nutrition: studies on soy, lupin and mixed vegetable source. Qual Plant Food Hum. Nutr. 33: 17-28.
- 159.-Vogt H., Harnisch S., Krieg R. and Rauch H.W. 1983. Use of lupin meal in laying hen feed after partial extraction of alkaloids. <u>Ani. Res. Dev.</u> 18: 47-54.
- 160.-Vogt, H.; Harnisch, S.; Krieg, R.; Rauch, W. and Karara, A. 1983. Einsatz eines teilentbitterten lupinen extraktions schrotes im legehenneh futter. <u>Landbau Forschong</u>
  <u>Volkenrode</u>. 33: 27-30.
- 161.-Vohra P. and F.H. Kratser. 1991. Evaluation of soybean meal determines adequacy of heat treatment. In Proceding of the aquaculture feed processing and nutrition worshop.

  Thailand and Indonesia, sep 19-25. Ed. By: D. M. Akiyama and R. K.H. Tan. American Soybean Association (A.S.A.).
- 162.-Walhain P., M. Foucart and A. Thewis. 1992. Influence of extrusion on ruminal and intestinal disappearence in sacco of pea (*Pisum sativum*) protein and starch. Anim. Feed Sci. Tech. 38: 43-55.

# UNIDAD DE IMPORMACION METRO AMBIENTAL (U I M A) BIBLIOTECA ESPECIALIZADA

- 163.-Watkins, B.A. and Mirosh, L.M. 1987. White lupine as a protein source for layers. <u>Poultr. Sci.</u> 66: 1798-1806.
- 164.-Wassermann V.D. 1983. Sweet lupin (*L. albus*) possibilities and cultural practices. <u>Technical Comunication</u>, <u>Departament of Agriculture South Africa</u>. No 184. 8 pp.
- 165.-Willaman J.J. and H.L.li. 1963. General relationship among plants and their alkaloids. <u>Econ. Bot.</u> 17: 180-185.
- 166.-Wood, P.M.; Brown, A.G.; Meyer, A.P. and D.S. Petterson. 1975. Control of ovine lupinosis: experiments on the use of fungicides. <u>Aust. Vet. J.</u> 51: 381-384.
- 167.-Yañez, E.; V. Gattás y D. Ballester. 1979. Valor nutritivo del lupino y su potencial como alimento humano. <u>Arch.</u>
  <u>Latinoamer. Nutr.</u> 29: 510-520.
- 168.-Yañez E., Días G., Lobos P. and Ballester D. 1983. Effect of toasting on the chemical composition and nutritive value of *Lupinus albus* var. multolupa <u>Alim.</u> 8: 39.
- 169.-Yañez E., Ballester D. and Ivanovic D. 1985. Wheat and oat fortification with sweet lupin flour (*Lupinus albus* var. multolupa) <u>Nutr. Rep. Int.</u> 31: 493-494.
- 170.-Zacarías I.,E. Yañez, E. Araya y D. Ballester.1985. Evaluación sensorial y estudio de aceptabilidad, a nivel de consumidor, de pan suplementado con harina de lupino dulce. Arch. Latinoamer. Nutr. 35: 119-129.
- 171.-Zaviezo D. and J. McGinnis. 1980. Nutritional value of lupin seeds for chicks. <u>Poul. Sci.</u> 59: 1679.
- 172.-Zamora N.J.F. y Ruiz L. M.A. Las leguminosas, su importancia en la alimentación humana y animal. <u>Agroc.</u> 21: 8.

