

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**  
**CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



**Fermentación ruminal y síntesis de proteína microbial en ovinos consumiendo  
dietas a base de *Lupinus mutabilis***

Documento Final del Proyecto de Investigación como requisito para obtener el grado  
de Médico Veterinario Zootecnista

**Autor:**

Celso Fabián Calderón Zavala

**Tutor:**

PhD. Marcos Barros Rodríguez

Cevallos – Ecuador

## **DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD**

“El suscrito, CELSO FABIÁN CALDERÓN ZAVALA, portador de cédula de identidad número: 060474210-6, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: **“Fermentación ruminal y síntesis de proteína microbial en ovinos consumiendo dietas a base de *Lupinus mutabilis*”** es original, autentico y personal. En tal virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas”.

CELSO FABIÁN CALDERÓN ZAVALA

## **DERECHOS DE AUTOR**

“Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado **“Fermentación ruminal y síntesis de proteína microbial en ovinos consumiendo dietas a base de *Lupinus mutabilis*”** como uno de los requisitos previos para la obtención de Médico Veterinario Zootecnista, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final, o de parte de él”.

**CELSO FABIÁN CALDERÓN ZAVALA**

**Fermentación ruminal y síntesis de proteína microbial en ovinos consumiendo  
dietas a base de *Lupinus mutabilis***

**REVISADO POR:**

---

Ing. Marcos Barros Rodríguez. PhD  
**TUTOR**

---

Ing. Verónica Rivera  
**ASESORA DE BIOMETRIA**

**APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACIÓN:**

---

PhD. Diana Avilés  
**Miembro del Tribunal de Calificación**

---

**FECHA**

---

Med. Cristina Bejarano  
**Miembro del Tribunal de Calificación**

---

**FECHA**

## ÍNDICE DE CONTENIDO

CAPÍTULO I.....	10
1. INTRODUCCIÓN .....	10
CAPÍTULO II .....	12
2.1. MARCO TEÓRICO .....	12
2.1.1. Producción ovina en América Latina.....	12
2.1.2. Fermentación ruminal.....	13
2.1.3. Efecto de la dieta en la producción de metano.....	13
2.1.4. Estrategias de alimentación ovina.....	14
2.1.5. Dietas a base de grano.....	14
2.1.6. <i>Lupinus mutabilis</i> .....	15
2.2. CATEGORÍAS FUNDAMENTALES.....	15
2.2.1. Variable independiente ( <i>Lupinus mutabilis</i> ).....	15
2.2.2. Variable dependiente.....	18
2.2.3. Unidad de análisis (Ovinos).....	25
CAPÍTULO III.....	27
3.1. HIPÓTESIS.....	27
3.2. OBJETIVO GENERAL.....	27
3.2.1. Objetivos Específicos.....	27
CAPÍTULO IV.....	28
4.1. MATERIALES Y MÉTODOS .....	28
4.1.1. Ubicación del experimento .....	28
4.1.2. Animal, alojamiento, alimentación y tratamientos .....	28
CAPITULO V .....	32
5.1. RESULTADOS.....	32
Consumo voluntario y digestibilidad de nutrientes.....	32
CAPÍTULO VI.....	39
6.1. CONCLUSIONES .....	39
6.2. BIBLIOGRAFÍA.....	39
CAPITULO VII .....	47
PROPUESTA.....	47
7.1. ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA.....	47
7.2. JUSTIFICACION .....	47
7.3. OBJETIVOS .....	47
7.4. ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
7.5. MODELO OPERATIVO .....	48

7.6. ADMINISTRACION ..... 48

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición de ácidos grasos de <i>Lupinus mutabilis</i> (% de ácidos grasos totales) (Jacobsen & Mujica, 2006) .....	17
Tabla 2. Composición química entre dos leguminosas <i>Lupinus mutabilis</i> (Chocho) y <i>Glycine max</i> (Soya) (g/100g) (Jacobsen & Mujica, 2006) .....	9
Tabla 3: Clasificación de los carbohidratos (Adaptado de Van Soest, 1982, por (Rotger Cerdà, 2004)).....	13
Tabla 4: Clasificación taxonómica de los ovinos ( Adaptado de Linnaeus, 1758 por (Álvarez-Romero, 2005) .....	18
Tabla 5. Ingredientes y composición química de las dietas experimentales con niveles ascendentes de <i>Lupinus mutabilis</i> (g/kg MS; excepto donde se menciona lo contrario).....	20
Tabla 6. Modelo estadístico: cuadrado latino 5x5 .....	23
Tabla 7: Digestibilidad in situ de los nutrientes.....	25
Tabla 8: Patrón de fermentación ruminal.....	26
Tabla 9: retención de nitrógeno.....	27
Tabla 10. Parámetros de producción de gas in vitro (ml/0.5g MS fermentable). .....	29

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del consumo voluntario de dietas con niveles ascendentes de *Lupinus mutabilis* sobre la fermentación ruminal, balance de nitrógeno, síntesis de proteína microbiana en ovinos, así como, el efecto de las dietas sobre la producción de gas in vitro. El trabajo se realizó en la Granja Experimental Docente Querochaca, ubicada en el sector de El Tambo, parroquia la Matriz, cantón Cevallos, provincia de Tungurahua. Se utilizaron cinco ovinos machos enteros con un promedio de 31.3 Kg, se les suministró una dieta isoenergética e iso-proteica con diferentes niveles de chocho para observar la función ruminal al incluir en la dieta taninos, los animales pasaron por un periodo de adaptación de quince días más un periodo de cinco días donde se recolectaron muestras para los análisis de laboratorio, dando como resultado un trabajo de campo de 100 días donde cada animal pasaba confinado a su jaula metabólica. El consumo voluntario de Taninos Condensados (TC) mostró un incremento lineal ( $P < 0.0001$ ) a medida que se aumentan los niveles de *Lupinus mutabilis* en la dieta de los ovinos. Sin embargo, esto no afectó el consumo voluntario de nutrientes, consumo por  $PV^{0.75}$  y consumo de nutrientes digestibles, ni la digestibilidad de la MS, MO y FDN entre los tratamientos ( $P > 0.05$ ). No obstante, la digestibilidad de la PC fue mayor ( $P = 0.0007$ ) en los tratamientos con niveles ascendentes de *Lupinus mutabilis* en la dieta, observándose una respuesta lineal y cuadrática ( $P = 0.0002$  y  $P = 0.0080$  respectivamente). Con respecto a la digestibilidad de la FDA se observó diferencias ( $P = 0.0033$ ) entre tratamientos, disminuyendo la digestibilidad de forma lineal ( $P = 0.0003$ ) a medida que se incrementa el consumo TC provenientes del *Lupinus mutabilis* en la dieta (Tabla 7). El contenido de  $N-NH_3$  en el líquido ruminal fue mayor ( $P = 0.0006$ ) en los tratamientos T1 y T2 (29.2 y 27.8 mg/L respectivamente) observándose una reducción lineal ( $P = 0.0001$ ) a medida que aumenta los niveles de *Lupinus mutabilis* en la dieta. Con respecto a los ácidos grasos volátiles no se observó diferencias ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos. Sin embargo, se observa una disminución lineal ( $P = 0.0065$ ) en el ácido acético.

## SUMMARY

The objective of this research was to determine the effect of the voluntary intake of diets with ascending levels of *Lupinus mutabilis* on ruminal fermentation, nitrogen balance, microbial protein synthesis in sheep, as well as the effect of diets on the gas production in vitro. The work was carried out in the Experimental Teaching Farm Querochaca, located in the sector of the Tambo Cevallos, province of Tungurahua. Five male sheep with an average of 31.3 kg were used, which were given an iso-energetic and iso-protein diet with different levels of *Lupinus mutabilis* to observe the ruminal function. To include tannins in the diet, the animals went through a 15-day adaptation period plus a five-day period where samples were collected for laboratory analysis, resulting in 100-day fieldwork where each animal was confined to its metabolic cage. Voluntary consumption of Condensed Tannins (TC) showed a linear increase ( $P < 0.0001$ ) as *Lupinus mutabilis* levels were increased in the sheep diet. However, this did not affect the voluntary consumption of nutrients, consumption of PV0.75 and consumption of digestible nutrients, or digestibility of DM, OM and NDF between treatments ( $P > 0.05$ ). However, PC digestibility was higher ( $P = 0.0007$ ) in treatments with ascending levels of *Lupinus mutabilis* in the diet, with a linear and quadratic response ( $P = 0.0002$  and  $P = 0.0080$  respectively). With respect to the digestibility of the FDA, differences ( $P = 0.0033$ ) between treatments were observed, decreasing the digestibility linearly ( $P = 0.0003$ ) as TC consumption from *Lupinus mutabilis* increased in the diet (Table 7). The N-NH<sub>3</sub> content in the ruminal fluid was higher ( $P = 0.0006$ ) in treatments T1 and T2 (29.2 and 27.8 mg / L respectively) with a linear reduction ( $P = 0.0001$ ) as levels of *Lupinus mutabilis* in the diet. Regarding volatile fatty acids, there were no differences ( $P > 0.05$ ) between treatments. However, a linear decrease ( $P = 0.0065$ ) in acetic acid.

# CAPÍTULO I

## 1. INTRODUCCIÓN

La producción ovina en América latina está básicamente destinada a sistemas de producción semi-intensiva y extensiva, por lo tanto, el cuidado médico, nutricional y reproductivo que se da a los ovinos es deficiente. Se debe prestar mucha atención a los balances nutricionales de energía, un aporte insuficiente de energía causará problemas como: pérdida de peso, descenso en la producción láctea, acortamiento del periodo de lactancia y parámetros de fertilidad bajos; el total de energía que consumen los animales mediante los alimentos se utiliza para satisfacer un conjunto de procesos fisiológicos y metabólicos, como la regulación térmica, mantenimiento, gestación, lactancia y ganancia de peso; mientras que un déficit en el suministro de proteína disminuiría la cantidad de ácidos grasos volátiles debido a que el 50% de la biomasa bacteriana está compuesta de proteína. Los desbalances energéticos y proteicos se deben al consumo inadecuado de alimentos o al consumo de alimentos de baja calidad (Herrera, Jordán, & Senra, 2010; Macedo & Castellanos, 2004; Pinto et al., 2003; Toral, Hernández, Amezcua, Izaba, & Benito, 2001).

Se han desarrollado métodos para mejorar la productividad ovina, entre las estrategias más usadas está el mejoramiento genético y alimenticio, de esta manera se puede aprovechar el potencial de crecimiento de los corderos en sus diferentes etapas de producción. Se puede cubrir las necesidades nutricionales mediante la elaboración de piensos a base de granos de leguminosas o mediante la inclusión de plantas endémicas en las dietas forrajeras, el uso de dietas integrales ha sido una opción que ha permitido obtener ganancias de peso de los 180 a 250 gramos por cordero en sistemas intensivos en comparación con sistemas de producción en pastoreo y complementación alimenticia, con el cual, las ganancias de peso oscilan entre 120 a 147 gramos por cordero. Asimismo, el uso de balanceados comerciales aumentan los costos de producción de corderos por lo que para reducir los costos se ha recurrido a la suplementación con distintas fuentes de nutrientes como son: follaje de árboles, arbustos, desechos agroindustriales, melaza y desechos de aves. (González-Garduño, R.; Blardony-Ricardez, K.; Ramos-Juárez, J. A.; Ramírez-Hernández, B.; Sosa & y Gaona-Ponce, 2013).

*Lupinus mutabilis* (chocho) es una leguminosa de origen andino que ha sido utilizado desde tiempos remotos para la alimentación humana. Actualmente se conoce que esta planta contiene una gran cantidad de proteína 49,22% en el cotiledón, este valor es especialmente llamativo debido a que supera la cantidad de proteína presentes en otras leguminosas usadas para la alimentación humana y animal, además tiene un porcentaje del 13,91 % de grasa y 27,12 % de extracto no nitrogenado, siendo así también una fuente de energía significativa; el análisis bromatológico revela que la fracción fibrosa de la semilla es del 11,03 % constituida mayoritariamente por celulosa y hemicelulosa, por lo que se recomienda su utilización en rumiantes. (Ortega-David, Rodríguez, David, & Zamora-Burbano, 2010).

El objetivo de esta investigación es evaluar el efecto del consumo de dietas a base de *Lupinus Mutabilis* sobre producción de AGVs, degradación y digestibilidad ruminal de los nutrientes, pH ruminal, nitrógeno amoniacal y síntesis de proteína microbial en ovinos.

## CAPÍTULO II

### 2.1. MARCO TEÓRICO

#### 2.1.1. Producción ovina en América Latina.

Durante las últimas décadas la producción ovina ha pasado de ser una producción de traspato a una producción semi-intensiva e intensiva. Para elevar los índices de crecimiento se ha usado como alternativa el mejoramiento genético mediante el uso de razas mejoradas (Magaña et al., 2011). Los sistemas productivos están clasificados según el estrato económico del productor, para implementar un sistema intensivo el productor toma como único objetivo la producción ovina por lo que invierte en instalaciones y en el mejoramiento genético mediante la compra de sementales. Mientras que los sistemas semi-intensivos y los sistemas extensivos son unidades de producción complementarias a la producción bovina, en estos sistemas no se toma mucho en cuenta el mejoramiento genético ni la alimentación puesto que son alimentados con los rechazos del alimento ofrecido a los bovinos (Toral et al., 2001).

La producción ovina tiene como objetivos ayudar a cubrir la demanda de carne, lana y leche para consumo humano. América Latina ocupa el quinto puesto de los continentes en cuanto se refiere a la población ovina mundial aportando con un 8,5 % del total general; aunque es el continente con la menor cantidad de unidades ovinas en relación a la producción de carne ovina es el continente con mayor producción cárnica, siendo Uruguay el país que presenta mayor crecimiento en la producción y en la exportación de carne, Ecuador ocupa el quinto puesto en la escala de producción de carne en América Latina pero no cumple con los requisitos necesarios para ser contado como país exportador. (López et al., 2012).

En lo referente a la producción láctea en América Latina esta es una actividad muy limitada, pues solo es aplicada en las zonas rurales como alternativa de producción ovina, existen varios países, como Estados Unidos, China, etc; que importan productos lácteos ovinos lo que indica que se podría dar más impulso a la producción láctea ovina por el creciente mercado potencial (García-díaz, Mantecón, Sepúlveda, & Maza, 2012).

### **2.1.2. Fermentación ruminal.**

Podríamos decir que la función ruminal es la capacidad de las bacterias que habitan el rumen para obtener energía y compuestos nitrogenados a partir de carbohidratos y proteína mediante fermentación para su crecimiento (Rotger-Cerdà, 2004) Las poblaciones que mayoritariamente habitan el rumen son bacterias, arqueas, eucarias, hongos y protozoos ciliados. Cada uno de estos organismos tiene una función específica en el rumen el incremento o la decreción de las poblaciones depende del sustrato que deban degradar por ejemplo *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens* y *Butirivibrio fibrisolvens* poseen lipasas que hidrolizarán los lípidos dejando libres ácidos grasos insaturados los que serán aprovechadas por otras bacterias, hongos y protozoos quienes a su vez biohidrogenarán los ácidos grasos insaturados para transformarlos en ácidos grasos volátiles (Zapata, Gutiérrez, & Polanco, 2011). Así mismo se ha demostrado que para mejorar la salud ruminal se puede utilizar probióticos de bacterias lácticas, la función de estos es disminuir la metanogénesis esto se refleja en el aumento de la concentración de amoníaco, digestibilidad del nitrógeno y de la fibra (Galina & Puga, 2009).

### **2.1.3. Efecto de la dieta en la producción de metano.**

La metanogénesis es el resultado de la fermentación de los carbohidratos por poblaciones microbianas metanogénicas anaeróbicas (*Methanobrevibacter ruminantium*, *Methanobacterium formicicum*, *Methanomicrobium mobile*) que fermentan la glucosa a ácido acético y reducen el CO<sub>2</sub> hasta CH<sub>4</sub>. La producción de metano representa del 2 al 12 % de pérdidas de energía de hecho se considera como un signo de ineficiencia de utilización de energía, este hecho se representa como una pérdida diaria de 1L de leche y 75g de peso en bovinos. La pérdida de energía en forma de CH<sub>4</sub> se obtiene mediante la diferencia de energía del alimento menos la energía perdida por emisión de gases (en mayor proporción CH<sub>4</sub>).

La dieta tiene una influencia directa en la producción de metano, es un hecho que los alimentos con mayor cantidad de fibra aumentan la producción de ácido acético y por lo tanto hay mayor producción de metano; se ha demostrado además que los metabolitos secundarios de origen vegetal tienen un efecto tóxico sobre las bacterias metanogénicas entre esos metabolitos están los ácidos grasos linoleico y cis-oleico, ácidos grasos saturados como el esteárico, los aceites esenciales también poseen

actividad microbiana Gram positiva y negativa debido a los compuestos como: terpenoides y fenólicos (saponinas, fenilpropanoides.) Quienes inhiben de forma selectiva el número de protozoos estos a su vez suministran un hábitat para los metanógenos que viven dentro y sobre ellos. Aunque las bacterias metanogénicas ejercen un efecto negativo en la utilización de energía eso no significa que no ejerzan un efecto positivo, por ejemplo regulan la cantidad de hidrogeniones (H<sub>2</sub>) manteniéndolo a bajas concentraciones promoviendo el crecimiento de otras especies bacterianas permitiendo de esta manera una fermentación más eficaz (Albarracín, Henao, & Estrada, 2013; Galindo & González, 2009; Polin, Muro, & Díaz, 2014; Sallam, 2010).

#### **2.1.4. Estrategias de alimentación ovina.**

Se calcula que el gasto en alimentación en los sistemas de producción de rumiantes es del 55-70 % esto se atribuye al inadecuado suministro de alimentos por lo que es necesario buscar nuevas materias como fuente energética, proteica y mineral, las especies arbóreas o arbustivas suponen una buena opción debido a su follaje, frutos y semillas; estas pueden ser usadas en asociación con gramíneas o en forma de banco de proteína (Guadalupe, Melgarejo, & Castañeda, 2003; Morillo, Díaz, Argenti, & León, 2005). Debe tenerse en cuenta que el uso de estas especies se puede ver restringida por su palatabilidad (Pinto *et al.*, 2003). El uso de follaje de especies arbustivas nativas ha incrementado durante los últimos años debido a que son una fuente económicamente accesible de nutrientes como proteína, energía y minerales (Ríos, Alvarez, & Rondón, 2005). Generalmente la alimentación de los ovinos está dada por los forrajes que se encuentran en la zona sin complementación de balanceados por lo que se puede decir que están sometidos a una subalimentación, se ha demostrado que el uso de balanceados a base de especies forrajeras proporcionadas *ad libitum* han mostrado mayor disponibilidad de proteína y menor grasa a la canal debido a la necesidad de reemplazar rápidamente la proteína de los órganos internos perdida durante el periodo de restricción alimentaria (Manso, Ruiz, & Castro, 1998).

#### **2.1.5. Dietas a base de grano.**

Una estrategia de alimentación en rumiantes es el uso de dietas a base de grano debido al contenido de almidones de rápida digestión presentes en las gramíneas,

varios estudios indican que las tasas de fermentación ruminal aumentan al alimentar a los animales con dietas ricas en gramíneas, la fermentación ruminal es 94 % y 74% para los almidones de maíz y avena respectivamente. (Amela, 2012). La digestibilidad de los granos de leguminosas se ven afectados por los taninos y saponinas presentes en el epispermo de la semilla, los taninos forman una película que restringe el ingreso de enzimas y agua al interior de la semilla reduciendo la digestión de los almidones, por lo que se recomienda moler las semillas de leguminosas al realizar balanceados o al administrar directamente para tener un mayor aprovechamiento (Jersonsky & Coria, 2014). Elaborar dietas a base de semillas que contengan taninos es una manera de reducir la metanogénesis ruminal, los taninos disminuyen la formación de hidrogeno e inhibe a las poblaciones metanogénicas, por lo que se pueden usar como aditivos para mejorar la digestibilidad y reducir las emisiones entéricas de CH<sub>4</sub> (Bonilla & Lemus-Flores, 2012).

#### **2.1.6. *Lupinus mutabilis*.**

Los *Lupinos* son una familia de leguminosas que se caracterizan por sus altos contenidos de proteína siendo este factor el más importante para ser considerado en la alimentación tanto humana como animal, incluso se ha considerado que los *Lupinus* son el mayor competidor de la soya; las semillas de *Lupinus* contienen alrededor de 32.5 a 43.5 g/100g de proteína cruda dependiendo de la variedad estudiada; además los valores de extracto etéreo, fibra detergente ácida y fibra detergente neutra corresponden con los siguientes valores 6,5 a 7,5 (EE), 16,7-24,7 (FDN), 4,4-7,9 (FDA) (Pérez, Lagunes, López, Aranda, & Ramos, 2015). Los metabolitos secundarios presentes en las semillas son compuestos polifenólicos, taninos condensados y alcaloides (Lampart-Szczapa et al., 2003).

## **2.2. CATEGORÍAS FUNDAMENTALES**

### **2.2.1. Variable independiente (*Lupinus mutabilis*)**

Nombre común: Aymara: tauri (Bolivia); Quechua: tarwi, tarhui (Bolivia, Perú), chuchus muti (Bolivia), chocho, chochito (Ecuador y Norte del Perú), chuchus (Bolivia), ccequella (Azangaro Perú); Castellano: altramuz, lupino, chocho; Inglés: Andean lupine, pearl lupin.

### **2.2.1.1. Variabilidad y diversidad genética**

El tarwi muestra una amplia diversidad genética con gran variabilidad en la arquitectura de la planta, adaptación a suelos, precipitación, temperatura, altitud y periodo vegetativo. Así mismo varía en precocidad, contenido en proteínas, aceites, alcaloides, rendimiento y tolerancia a plagas y enfermedades. El color del grano, planta y flor es variable. Su centro de origen está ubicado en la región andina de Bolivia, Ecuador y Perú, ya que en ellas se encuentra la mayor variabilidad genética. En esta región se han identificado 83 especies del género *Lupinus*.

Desde el punto de vista alimenticio, medicinal, ritual, cultural, en la transformación y mejoramiento de las especies domesticadas, esta diversidad de parientes silvestres tiene importancia y repercusión en su utilización, proporcionando actualmente al agricultor disponibilidad sostenida y seguridad alimentaria. Los parientes silvestres que muestran esta diversidad y variabilidad encontradas en tarwi (*Lupinus mutabilis*) están representadas por las siguientes especies: *Lupinus cuzcensis*, *L. tomentosus*; *L. microphyllus*, *L. paniculatus*, *L. aridulus*, *L. ananeanus*, *L. condensiflorus*, *L. chlorolepis*, *L. tarapacencis*, *L. subferuquinous*, *L. doraе*, *L. macbrideanus*, *L. ballianaus*, *L. gilbertianus* y *L. eriuclyadus*. Los usos de cada uno de los parientes silvestres son clasificados en: alimenticios, medicinales, rituales, culturales, en transformación, forraje y combustible.

### **2.2.1.2. Valor nutritivo**

Las semillas son excepcionalmente nutritivas. Estudios realizados en más de 300 diferentes genotipos muestran que la proteína varía de 41- 51% y el aceite de 14-24% ; la composición de ácidos grasos contenidos en la semilla de *Lupinus mutabilis* se puede observar en la tabla 1 (Gross, Hammond, & Menalled, 2001). En base a análisis bromatológico, posee en promedio 35.5% de proteína, 16.9% de aceites, 7.65%, de fibra cruda, 4.145% de cenizas y 35.77% de carbohidratos, encontrando correlación positiva entre proteína y alcaloides, mientras que es negativa entre proteína y aceite (Jacobsen & Mujica, 2006). En la tabla 2 se puede apreciar un cuadro comparativo entre el Chocho y la soya otra leguminosa utilizada para la alimentación tanto humana como animal.

## Condiciones de cultivo: clima y suelos

Se cultiva en las zonas templadas y frías del Altiplano en valles interandinos de 2.000-3.850 m, aunque experimentalmente se han obtenido buenos rendimientos a nivel del mar. En lo relacionado al fotoperiodo, es aparentemente indiferente, aunque se cultiva más en condiciones de días cortos. En cuanto a la precipitación pluvial, sus requerimientos se sitúan en 350-850 mm, siendo cultivado exclusivamente en condiciones de secano. Es susceptible al exceso de humedad y moderadamente susceptible a la sequía durante la floración y envainado. No tolera las heladas en las fases iniciales y en la formación de vainas (Jacobsen & Mujica, 2006).

**Tabla 1** Composición de ácidos grasos de *Lupinus mutabilis* (% de ácidos grasos totales) (Jacobsen & Mujica, 2006)

Ácidos grasos	%
Oleico (Omega 9)	40.4
Linoleico (Omega 6)	37.1
Linolénico (Omega 3)	2.9
Palmítico	13.4
Palmitoleico	0.2
Esteárico	5.7
Mirístico	0.6
Araquídico	0.2
Behénico	0.2
Erúsico	0.0
Cociente Polisaturados/Saturados	2.0

Los suelos que requiere deben ser francos y franco-arenosos con balance adecuado de nutrientes y buen drenaje, así como un pH que oscila entre 5 y 7. En suelos ácidos, la fijación de nitrógeno por el *Rhizobium lupini* es muy escasa, debiendo utilizarse en lo posible cepas nativas de cada zona de cultivo (Jacobsen & Mujica, 2006).

**Tabla 1.** Composición química entre dos leguminosas (*Lupinus mutabilis* Chocho) y *Glycine max* (Soya) (g/100g) (Jacobsen & Mujica, 2006)

	Chocho	Soya
Proteína	44.3	33.4
Grasa	16.5	16.4
Carbohidratos	28.2	35.5
Fibra	7.1	5.7
Ceniza	3.3	5.5
Humedad	7.7	9.2

## **2.2.2. Variable dependiente**

### **2.2.2.1. Fermentación Ruminal**

La fermentación ruminal comprende todos los mecanismos por los cuales el rumiante obtiene nutrientes para las poblaciones bacterianas siendo los principales sustratos los carbohidratos y la proteína, de estos nutrientes obtendrán básicamente la energía y los compuestos nitrogenados para su crecimiento.

En el rumen, la producción de los ácidos grasos volátiles depende de la composición de la ración, la actividad microbiana, el pH del medio y la frecuencia de ingestión de alimentos.

En general, las raciones a base de forraje producen menos cantidad de ácidos grasos volátiles, en contraposición con aquellas a base de concentrados de alto contenido de proteínas o de carbohidratos fácilmente fermentables. La mayor concentración de ácidos grasos volátiles en el rumen se observa después de que han transcurrido de 3 a 6 horas de la ingestión del alimento, si éste es ofrecido una sola vez al día. La proporción molar de ácido acético es elevada, entre 60-75%, cuando se suministran raciones a base de forraje o pastos sin picar o en trozos grandes, la variación dependerá del tipo de forraje o pasto, el estado de madurez del mismo, la fertilización de la tierra en que creció, etcétera El ácido propiónico varía entre 15 y 19% y el butírico sufre variaciones más amplias, 8 a 16%. Además con estas raciones hay una pérdida considerable de la energía consumida, energía que se pierde bajo la forma de metano (Zavaleta de Lucio, 2010).

La producción de metano por los rumiantes se deriva de manera natural del proceso digestivo en estos, pero constituye una pérdida de energía y contribuye a las emisiones de gases de efecto invernadero. La conversión anaerobia de materia orgánica a CH<sub>4</sub> en el rumen involucra un grupo de microorganismos donde los metanógenos intervienen en el paso final. Primero los hongos, bacterias y protozoos hidrolizan las proteínas, polisacáridos y lípidos para producir aminoácidos y azúcares, y fermentan estos últimos a ácidos grasos de cadena corta, H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>. El CH<sub>4</sub> se forma entonces por los metanógenos ruminales, utilizando H<sub>2</sub> (80%) y el formiato (18%) como sustratos (Sosa, Galindo, & Bocourt, 2007).

Los microorganismos ruminales son capaces de incorporar en sus proteínas aminoácidos y péptidos de la dieta y usar el amoníaco para sintetizar de nuevo sus propios aminoácidos, entre ellos los diez aminoácidos esenciales para los tejidos de los mamíferos. La síntesis de estos aminoácidos se realiza a partir del amoníaco y esqueletos carbonados simples, producidos durante la degradación del alimento. Por esta razón, los rumiantes subsisten y tienen modestos niveles de producción, cuando solo tienen nitrógeno no proteico como fuente de N en la dieta. La síntesis de proteína microbiana depende de diferentes factores como las fuentes de carbohidratos y proteínas, el nivel de consumo voluntario, la sincronización de las funciones ruminales, el reciclado ruminal de microorganismos y los factores anti nutricionales de las plantas que consumen (Rodríguez, Sosa, & Rodríguez, 2007).

### ***Digestión ruminal***

La fibra se degrada lentamente, por lo que la adhesión de los microorganismos a la pared celular es el primer paso para iniciar su degradación, y para asegurar que los microorganismos permanecerán en el rumen el máximo tiempo, al asociarse a la parte más indigestible de la estructura vegetal. Esta adhesión puede ser vía uniones específicas con adhesinas (moléculas de la superficie microbiana que se une a receptores del material vegetal), o uniones inespecíficas con enlaces iónicos (Chesson & Forsberg, 1997). Los primeros puntos de unión se localizan en los bordes de las partículas, en lesiones superficiales o en las estomas. Debido a que la superficie externa de las estructuras vegetales suele estar recubierta por lignina, taninos, cutina y la lignina, proporcionando nuevos sitios para la adhesión bacteriana, por lo que tienen una función importante en la degradación de la fibra (Ho, 1988).

Las bacterias son las primeras en colonizar la estructura vegetal, siendo *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* y *Ruminococcus flavefaciens* las principales bacterias celulíticas (Hungate, 1966). Después de las bacterias se producirá la colonización por protozoos y hongos. Los zoosporos fúngicos detectan los azúcares solubles que difunden de las paredes lesionadas de las estructuras vegetales, van hasta esta zona, se enquistan e invaden el tejido con sus rizoides (Orpin & Bountiff, 1978). Los protozoos tienen gran actividad celulítica y en determinadas condiciones, pueden representar más de la mitad de la actividad celulítica del rumen (Orskov & Ryle, 1998).

Una vez adhesionados, se produce la degradación enzimática que consta de dos etapas. En la primera etapa, los polisacáridos complejos son hidrolizados hasta oligosacáridos de cadena corta (celobiosa, maltosa, xilobiosa) y azúcares sencillos mediante las celulasas y hemicelulasas. En una segunda etapa, los polisacáridos complejos son hidrolizados hasta oligosacáridos de cadena corta (celobiosa, maltosa, xilobiosa) y azúcares sencillos mediante las celulasas y hemicelulasas. En una segunda etapa, los polisacáridos complejos son hidrolizados hasta oligosacáridos de cadena corta (celobiosa, maltosa, xilobiosa) y azúcares sencillos mediante las celulasas y hemicelulasas. En una segunda etapa, los monosacáridos son metabolizados hasta piruvato y finalmente hasta AGV, siendo el acetato el principal producto final de degradación de los carbohidratos fibrosos. La actividad celulasa se realiza a través de un complejo enzimático que consta de tres enzimas (endoglucanasa, celobiohidrolasa y  $\beta$ -glucosidasa) que trabajan sinérgicamente más de una xilansa.

Además del sinergismo a nivel enzimático, también son importantes los sinergismos entre grupos bacterianos, incluso con bacterias no fibrolíticas abundantes en dietas forrajeras (*Selenomonas ruminantium*, *Prevotella ruminicola*, *Streptococcus bovis*, *Treponema o Butyrivibrio*). Estas bacterias no celulolíticas degradan los productos de la degradación de la celulosa, como la celobiosa y celodextrina y aceleran el proceso digestivo de la celulosa, evitando la inhibición por producto final. (Cheng, McAllister, Bae, & Jones, 1994; Russell, 1985). Este sinergismo también está presente en la degradación de la hemicelulosa que es primero solubilizada por microorganismos no utilizadores de hemicelulosa (*Fibrobacter succinogenes* y *Ruminococcus flavefaciens*) para después los polisacáridos solubles ser fermentados por bacterias que los pueden utilizar pero no degradar, como *Prevotella ruminicola* (Fondevila & Dehority, 1996).

Al ser la fibra una mezcla tan heterogénea, sus componentes serán degradados en distinta por los microorganismos ruminales. Algunos componentes de la pared celular se degradan rápidamente, mientras que otros prácticamente no se degradarán en el rumen y su degradación podrá continuar en el tracto gastro-intestinal posterior antes de ser excretados en heces.

El grado de degradación de la fibra en el rumen no solamente dependerá de la proporción de los componentes que la forman, sino que es más complejo y se verá afectado por una serie de factores como los que se describen a continuación (Varga & Kolver, 1997).

- a) Accesibilidad de los microorganismos al sustrato.
- b) Densidad y actividad de las poblaciones fibrolíticas presentes en el rumen.
- c) Factores microbianos que controlan la adhesión e hidrólisis mediante complejos enzimáticos de las poblaciones microbianas adherentes.
- d) Factores relacionados con el animal (masticación, salivación y cinética ruminal) que determinaran la accesibilidad del sustrato a las bacterias.

#### **2.2.2.2. Degradación de Carbohidratos.**

Los carbohidratos son la principal fuente de energía para los microorganismos ruminales y el componente cuantitativamente más importante de la dieta de los rumiantes. Además de aportar energía a los microorganismos y al rumiante, se encargan de mantener el óptimo funcionamiento del rumen.

Desde el punto de vista estructural, por su biosíntesis los carbohidratos se dividen en estructurales (constituyentes de la pared celular, e incluyen celulosa, hemicelulosa y pectina) y no estructurales (no son parte de la pared vegetal, y se componen de azúcares simples, hidratos de carbono de reserva y ácidos orgánicos). Desde el punto de vista nutricional, más enfocado a la biodegradación, se pueden clasificar en fibrosos (corresponden a la fibra detergente neutra FDN) (Soest, 1987) y no fibrosos. Como se observa en la tabla 3. Las únicas diferencias entre las dos clasificaciones son la pectina, que siendo un carbohidrato estructural no se incluye dentro de la FDN del análisis de Van Soest y la lignina, que sin ser un carbohidrato, se encuentra íntimamente ligado a la pared celular y se incluye dentro de la fracción de FDN.

Los carbohidratos no fibrosos fermentan rápidamente, aportando energía para los microorganismos para el animal, pero aumentan el riesgo de acidosis ruminal. En cambio, los fibrosos son más resistentes a la degradación, estimulan más la rumia y aumenta la producción de saliva que actúa como tampón ruminal. Los carbohidratos fibrosos tienen inferior concentración energética y puede limitar la ingestión, pero la capacidad microbiana para degradarlos es lo que hace especialmente beneficiosa la

simbiosis con los microorganismos ruminales, ya que las enzimas propias de los rumiantes no los pueden digerir (Chesson & Forsberg, 1997; Orskov & Ryle, 1998).

**Tabla 2:** Clasificación de los carbohidratos (Adaptado de Van Soest, 1982, por (Rotger-Cerdà, 2004).

CARBOHIDRATOS	COMPOSICIÓN
<b>No fibrosos</b>	
Azúcares solubles	
Carbohidratos de reserva	Mono y di sacáridos
Almidón	Polímero de glucosa unidas por enlaces a 1-4, a1-6
Fructosanos	Polímero de fructosa
Levanos	Enlaces b 2-6 (forrajes verdes y granos de cereal)
Inulinas	Enlaces b 2-1 (tuberculos)
Pectinas	Ácido galacturónico, arabiosa, galactosa
Ácidos orgánicos	Productos de fermentación de otros carbohidratos (ensilados)
<b>Fibrosos</b>	
Celulosa	Polímero de glucosa unidas por enlaces b 1-4
Hemicelulosa	Xilanos, glucosa, arabiosa, manosa, galactosa, á. galacturónico
Lignina	Polímero fenólico unidos por enlaces cruzados muy complejos

### 2.2.2.3. Degradación de la proteína.

La proteína es un nutriente esencial en la nutrición de todas las especies animales. En los rumiantes, el objetivo de la nutrición proteica es doble por satisfacer las necesidades de nitrógeno de los microorganismos ruminales, y por otras, aportar aminoácidos al animal. Las necesidades de los microorganismos se pueden cubrir con fuentes de nitrógeno proteico y no proteico, en cambio, las necesidades del animal solo se pueden cubrir con aminoácidos, que pueden ser de origen dietario o microbiano.

A diferencia de lo que pasa en mono-gástricos, el perfil y la calidad de los aminoácidos que llega a duodeno es diferente del aportado en la ración, debido a la degradación ruminal de los aminoácidos dietarios y al aporte de proteína microbiana, sintetizada a partir de la energía derivada de los carbohidratos y de compuestos nitrogenados simples (Wallace, Onodera, & Cotta, 1997). Esta proteína microbiana

junto con la proteína que escapa de la degradación ruminal es directamente disponible para ser digerida y absorbida por el rumiante.

#### **2.2.2.4. Clasificación de los componentes nitrogenados que llegan al rumen.**

De los aportes nitrogenados hay que diferenciar, en primer lugar, entre las fuentes exógenas procedentes del alimento y las fuentes endógenas aportadas por el propio rumiante. Después hay que hacer una segunda clasificación, donde estos compuestos nitrogenados tanto dietarios como endógenos, las muco-proteínas salivares y las células de descamación epitelial son fuentes de proteína verdadera, y la urea de nitrógeno no proteico. Los aportes endógenos son importantes *in vivo*, al hacer balances de nitrógeno, porque el nitrógeno duodenal puede ser más alto que el ingerido (Orskov & Ryle, 1998).

La proteína verdadera, tanto endógena como exógena, se puede clasificar en degradable y no degradable. La degradable aportará péptidos, aminoácidos y amoníaco a los microorganismos ruminales y la no degradable aportará péptidos y aminoácidos directamente al animal. La proporción de proteína degradable y no degradable en un alimento dependerá del ritmo de degradación de la proteína y del tiempo de permanencia en el rumen, por lo que no hay un valor único para cada ingrediente.

#### **2.2.2.5. Proceso de degradación de los compuestos nitrogenados.**

La hidrólisis de la proteína en el rumen es un proceso complejo de varias etapas. En primer lugar se solubiliza la fracción soluble; después se adhieren los microorganismos a la proteína insoluble y en ese punto la cadena peptídica es atacada por diversas exo y endo proteasas, liberándose péptidos y aminoácidos. Estos péptidos y aminoácidos libres serán absorbidos rápidamente por los microorganismos para ser incorporados directamente a la síntesis proteica o para ser descarboxilados y desaminados produciendo AGV, CO<sub>2</sub> y amoníaco (Owens, Zinn, & Corona, 2006). Este proceso se dividirá en las fases de proteólisis, peptidosis y metabolismo de aminoácidos.

### 2.2.2.6. Metabolismo de los aminoácidos.

La mayoría de aminoácidos se producen intracelularmente tras la degradación de péptidos pequeños, por lo que su nivel en el líquido ruminal es muy bajo, a excepción de una hora después de comer que su concentración puede aumentar (Wallace *et al.*, 1997). Los aminoácidos libres presentes en el líquido ruminal proceden mayoritariamente de la lisis de microorganismos (Nolan, Provenza, & Lynch, 1994) y de la síntesis microbiana. La alamina se sintetiza al haber un exceso de amoníaco y actúa como reserva de nitrógeno y piruvato (Erfle, Mahadevan, & Sauer, 1977).

Los aminoácidos se pueden metabolizar mediante descarboxilación, trasaminación o desaminación no oxidativa (Tamminga, 1979). Esta última vía es la mayoritaria seguida de la descarboxilación de los cetoácidos, para producir AGV, dióxido de carbono y amoníaco. En condiciones normales, la descarboxilación de aminoácidos para formar aminas es poco importante, pero puede cobrar importancia en condiciones de pH ácido (Tamminga, 1979). La velocidad de desaminación de aminoácidos, tanto esenciales como no esenciales, hasta amoníaco es rápida por lo que vendrá limitada por la velocidad de captación de péptidos y aminoácidos por los microorganismos (Hino & Russell, 1985).

Durante la desaminación no oxidativa y descarboxilación de los cetoácidos se produce muy poca energía, por lo que no es el principal producto de la reacción (Cotta & Hespell, 1986). Es mucho más importante la producción de amoníaco, principal fuente de nitrógeno para la síntesis microbiana y la producción de AGVR (isovalerato, 2-metilbutirato e isobutirato, formados a partir de los aminoácidos leucina, isoleucina y valina, respectivamente). Los AGVR son esenciales para la síntesis de aminoácidos ramificados y para el crecimiento de las especies celulíticas (Wallace *et al.*, 1997).

En los protozoos ciliados, los aminoácidos resultantes de la proteólisis intracelular podrán ser excretados al exterior, incorporados a su síntesis proteica, o bien desaminados en un proceso similar al bacteriano (Wallace *et al.*, 1997). La mayoría de especies de protozoos tienen una actividad desaminasa 3 veces más alta que la bacteriana (Cotta & Hespell, 1986; Forsberg, Lovelock, Krumholz, & Buchanan-

Smith, 1984; Hino & Russell, 1985). Por esta razón, y porque pueden llegar a representar un alto porcentaje de la biomasa ruminal, en la defaunación se reducen los niveles de amoníaco ruminales (Wallace et al., 1997)

#### **2.2.2.7. Síntesis de proteína microbiana.**

Como se ha visto en los apartados anteriores las bacterias fermentan los hidratos de carbono y la proteína dietaria para obtener esqueletos carbonados, energía y compuestos nitrogenados simples para sintetizar proteína propia para su crecimiento. Esta proteína microbiana puede representar entre el 40 y el 100 % de la proteína metabolizable para la nutrición del ganado de carne, disminuyendo al aumentar el contenido en proteína no degradable de la dieta (Owens et al., 2006; Spicer, Theurer, Sowe, & Noon, 1986). La proteína microbiana es de alto valor biológico y de composición muy constante en dietas muy diferentes (Orskov & Ryle, 1998).

En la práctica, la síntesis de proteína microbiana suele medirse como la cantidad de proteína microbiana sintetizada en el rumen que fluye al intestino delgado del rumiante (flujo de proteína microbiana). La síntesis neta y el flujo de proteína al intestino no son equivalentes, debido al reciclaje de proteína en el rumen. También se considera que en su totalidad es de origen bacteriano, porque aunque los protozoos puedan llegar a representar el 40% del nitrógeno microbiano total, quedan secuestrados en el rumen y contribuyen minoritariamente, entre un 10 y un 30 % al flujo de proteína microbiana que llega a duodeno (Leng, 1990; Veira, 1986). Por otra parte, hay muy poca información sobre la composición aminoácídica de los protozoos y se considera que es la misma que la bacteriana.

### **2.2.3. Unidad de análisis (Ovinos)**

#### **2.2.3.1. Descripción de la especie.**

Existen numerosas razas de esta especie por lo que pueden ser muy variables en tamaño y color (negro, café, café claro, manchado, blanco, etc.). En general se caracterizan por tener un cuerpo y patas relativamente robustas, pelaje abundante y largo, hocico alargado y cola pequeña; orejas pequeñas a grandes. Poseen cuernos

gruesos y en forme de una marcada espiral que va hacia arriba, luego atrás y finalmente hacia el frente, extendiéndose un poco hacia los lados; pueden estar presentes o no en las hembras. Algunas razas pueden incluso presentar uno o hasta 4 cuernos. El pelaje puede variar en color del café, blanco, negro o una mezcla de estos. En los ejemplares silvestres y algunas razas primitivas, la cubierta de pelaje inferior (compuesta por pelos cortos y lanosos) se muda cada año en la primavera. La cubierta de pelaje exterior está compuesta por pelos largos y más gruesos y rígidos. Las principales diferencias con las cabras es que los machos no son olorosos, no presentan barba y la cabeza es cóncava y no convexa (Álvarez-Romero, 2005).

### 2.2.3.2. Información taxonómica.

Los ovinos son mamíferos cordados pertenecientes a la familia *Bovidae*. Su clasificación taxonómica completa se encuentra en la tabla 4. Existen numerosas razas de esta especie por lo que pueden ser muy variables en tamaño y color (negro, café, café claro, manchado, blanco, etc.). En general se caracterizan por tener un cuerpo y patas relativamente robustas, pelaje abundante y largo, hocico alargado y cola pequeña; orejas pequeñas a grandes. Poseen cuernos gruesos y en forme de una marcada espiral que va hacia arriba, luego atrás y finalmente hacia el frente, extendiéndose un poco hacia los lados; pueden estar presentes o no en las hembras. Algunas razas pueden incluso presentar uno o hasta 4 cuernos. El pelaje puede variar en color del café, blanco, negro o una mezcla de estos. En los ejemplares silvestres y algunas razas primitivas, la cubierta de pelaje inferior (compuesta por pelos cortos y lanosos) se muda cada año en la primavera. La cubierta de pelaje exterior está compuesta por pelos largos y más gruesos y rígidos. Las principales diferencias con las cabras es que los machos no son olorosos, no presentan barba y la cabeza es cóncava y no convexa (Álvarez-Romero, 2005; Clutton-Brock, 1999; Nowak, 1999).

**Tabla 3:** Clasificación taxonómica de los ovinos ( Adaptado de Linnaeus, 1758 por (Álvarez-Romero, 2005)

<b>Reino</b>	<b>Animalia</b>
Phylum	Chordata
Clase	Mammalia
Orden	Artiodactyla
Familia	Bovidae
Nombre científico	<i>Ovis aries</i>

## CAPÍTULO III

### 3.1. HIPÓTESIS

La inclusión de *Lupinus mutabilis* como fuente de tanino en la dieta de ovinos, favorece la fermentación ruminal, incrementa la retención de nitrógeno y la síntesis de proteína microbiana.

### 3.2. OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto del consumo voluntario de dietas con niveles ascendentes de *Lupinus mutabilis* sobre la fermentación ruminal, balance de nitrógeno, síntesis de proteína microbiana en ovinos, así como, el efecto de las dietas sobre la producción de gas *in vitro*

#### 3.2.1. Objetivos Específicos

- Determinar el efecto del consumo de dieta con niveles ascendentes de *Lupinus mutabilis* sobre el patrón de fermentación (AGVs), nitrógeno amoniacal, digestibilidad aparente de los nutrientes, y en ovinos.
- Evaluar el efecto del consumo de dieta con niveles ascendentes de *Lupinus mutabilis* sobre el balance de nitrógeno y síntesis de proteína microbiana en ovinos.
- Estimar la producción de gas *in vitro* como efecto de las dietas con niveles ascendentes de *Lupinus mutabilis*.

## CAPÍTULO IV

### 4.1. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 4.1.1. Ubicación del experimento

El trabajo se realizó en la Granja Experimental Docente Querochaca, ubicada en el sector de El Tambo, parroquia la Matriz, cantón Cevallos, provincia de Tungurahua, a una altitud de 2868 msnm; en las coordenadas geográficas 1° 21' 02" de latitud Sur y 78° 36' 21" de longitud Oeste (Sistema de Posicionamiento Global, GPS).

#### 4.1.2. Animal, alojamiento, alimentación y tratamientos

**Tabla 4.** Ingredientes y composición química de las dietas experimentales con niveles ascendentes de *Lupinus mutabilis* (g/kg MS; excepto donde se menciona lo contrario)

	Tratamientos				
	T1	T2	T3	T4	T5
Palmiste	189.7	189.3	190.0	189.7	202.8
Afrecho	531.2	530.3	525.3	527.8	423.8
Soya	147.5	98.4	50.6	0	0
Maíz	42.6	42.6	42.8	42.6	45.4
Chocho	0	50.5	100.5	150.0	200.0
Aceite palma	64.0	63.9	65.8	64.9	103.0
Sal	10	10	10	10	10
V+M	15	15	15	15	15
Total	1000	1000	1000	1000	1000
Composición química					
MS	887.0	899.1	901.0	910.0	903.1
MO	962.3	974.6	960.5	958.9	965.8
PC	209.1	202.7	209.7	200.0	201.5
FDN	425.1	439.4	406.0	436.2	398.2
FDA	174.3	188.9	167.2	196.7	188.5
EB (MJ/kg MS)	20.2	20.4	20.7	20.7	21.7
TC	Nd	11.0	22.1	33.0	45.8

Se utilizaron cinco ovinos machos enteros con un promedio de 31.3 Kg, a los cuales se les suministro una dieta isoenergética e isoproteica con diferentes niveles de chocho para observar la función ruminal al incluir en la dieta taninos, los animales pasaron por un periodo de adaptación de quince días más un periodo de cinco días donde se recolectaban las muestras para los análisis de laboratorio, dando como

resultado un trabajo de campo de 100 días donde cada animal pasaba confinado a su jaula metabólica.

### **Consumo voluntario y digestibilidad aparente de los nutrientes**

Para obtener el consumo voluntario se suministraba 2 Kg de concentrado peletizado durante un periodo de 24 horas, después de este tiempo se recolectaba la cantidad de alimento sobrante en el comedero para pesarlo y restar del alimento ofrecido.

Cada 24 horas se recolectaba además las heces y se pesaba para luego guardar una muestra de 200 gr de cada animal, con las cuales se hicieron los análisis digestibilidad aparente de los nutrientes.

### **Ácidos grasos volátiles y Nitrógeno amoniacal.**

Las muestras fueron recolectadas el último día de cada periodo experimental directamente desde el rumen por medio de una sonda naso gástrico y absorbido a presión mediante una jeringuilla de alimentación. Un total de 50 ml de líquido ruminal fue obtenido de cada animal. Las muestras fueron filtradas para sacar submuestras de 10 ml las cuales fueron preservadas con 10 ml de HCL al 5% y almacenadas a 4°C del cual se obtuvo el N-NH<sub>3</sub>; otra submuestra de 10 ml de líquido ruminal fue mezclado con 2,5 ml de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> al 25 % y almacenado a 4°C del cual se obtuvo los AGVs.

### **Balance de nitrógeno**

Se recolecto orina consecutivamente los últimos cinco días de cada tratamiento y se midió el total del volumen para luego tomar muestras de 50 ml las cuales se llevaron al laboratorio para estabilizar las muestras con HCL y se mantuvieron a una temperatura de 4°C, hasta cuando todos los animales pasaron por todos los tratamientos, una vez que se obtuvieron todas las muestras se realizó un mezcla con las muestras según el tratamiento. De estas muestras se obtuvo nitrógeno ureico, ácido úrico, urea y derivados de purinas.

Se realizó el mismo proceso con las heces y se midió la cantidad de proteína mediante el método de DUMAS para aplicar la fórmula de retención de Nitrógeno.

## **Producción de gas *in vitro***

Para estas pruebas el contenido ruminal (líquido y la fracción sólida) se obtuvo de forma separada de los toros directamente de las fistulas ruminales, el contenido ruminal fue colectado antes de la alimentación en la mañana y almacenado en recipientes plásticos y transportados al laboratorio donde fueron procesados dentro de la primera hora tras la colección. Las muestras de alimento fueron tomadas según los tratamientos. La preparación de medios ricos en N (saliva artificial) se realizó según lo descrito por Menke & Steingass 1988.

La producción de gas se realizó mediante la técnica *in vitro* descrita por Theodorou 1994 la cual consiste en colocar 0,500 mg de MS de muestra (dietas experimentales) en botellas de vidrio con capacidad de 100 ml; en las botellas se incubará 60 ml de inóculo (70:30 medio; saliva artificial/inóculo; contenido ruminal) bajo constante flujo de CO<sub>2</sub>. Las botellas se incubarán entre 39 – 40 °C. La medición de la presión de gas y el volumen fue medido manualmente a los siguientes tiempos 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 30 y 48 horas posterior a la incubación con un transductor de presión (DO 9704, Delta OHM, Italia) y jeringas plásticas. Para cada tratamiento 6 botellas fueron usadas por tratamiento en cada tiempo y tres botellas adicionales se usaron como blancos. Al final de las 48 horas de incubación se estimó la digestibilidad *in vitro*.

## **Análisis químicos**

La Materia Seca, Nitrógeno, y Ceniza fueron determinados según la metodología descrita por AOAC (1990). La Fibra Detergente Neutra y la Fibra Detergente Ácida se determinaron mediante el método 5 y 6 respectivamente del analizador Ankom Technology 2000. Los AGVs se determinaron de acuerdo a la metodología descrita por Ryan (1980) usando un cromatógrafo de gases. El N-NH<sub>3</sub> se determinó con una técnica colorimétrica usando un espectrofotómetro según la metodología descrita por Barros-Rodríguez et al. (2015). La Energía se obtuvo a partir de un Calorímetro isoperibólico (J/g). Y la Proteína se obtuvo mediante el método DUMAS.

## Diseño experimental y análisis estadísticos

Se realizó un diseño de cuadrado latino 5 x 5 utilizando como factor de bloqueo el tiempo (periodos experimentales) como se puede observar en la tabla 6. El primer periodo experimental comprendió 15 días de adaptación y 5 días de muestreo, al terminar este, cada animal pasó al siguiente tratamiento por los mismos tiempos de adaptación y muestreo hasta que todos los animales pasaron por todos los tratamientos. Todas las variables fueron analizadas según el diseño planteado, mediante el PROC GLM SAS 2009.

Digestibilidad *in vitro* y producción de gas se realizó mediante un diseño de cuadrado latino con cinco repeticiones y cinco tratamientos. Estos datos se analizaron mediante el PROC GLM SAS 2009. La comparación de medias de todas las variables se analizaron mediante la prueba de Tukey del paquete estadístico SAS 2009.

**Tabla 5.** Modelo estadístico: cuadrado latino 5x5

	COLUMNAS				
H	AT1	BT2	CT3	DT4	ET5
I	BT3	CT4	DT5	ET1	AT2
L	CT1	DT2	ET3	AT4	BT5
E	DT1	ET2	AT3	BT4	CT5
R	ET4	AT5	BT1	CT2	DT3
A					
S					

## CAPITULO V

### 5.1. RESULTADOS

#### Consumo voluntario y digestibilidad de nutrientes

El consumo voluntario de Taninos Condensados (TC) mostró un incremento lineal ( $p < 0.0001$ ) a medida que se aumenta los niveles de *Lupinus mutabilis* en la dieta de los ovinos. Sin embargo, esto no afectó el consumo voluntario de nutrientes, consumo por PV<sup>0.75</sup> y consumo de nutrientes digestibles, ni la digestibilidad de la MS, MO y FDN entre los tratamientos ( $p > 0.05$ ). No obstante, la digestibilidad de la PC fue mayor ( $p = 0.0007$ ) en los tratamientos con niveles ascendentes de *Lupinus mutabilis* en la dieta, observándose una respuesta lineal y cuadrática ( $p = 0.0002$  y  $p = 0.0080$  respectivamente). Con respecto a la digestibilidad de la FDA se observó diferencias ( $p = 0.0033$ ) entre tratamientos, disminuyendo la digestibilidad de forma lineal ( $p = 0.0003$ ) a medida que se incrementa el consumo TC provenientes del *Lupinus mutabilis* en la dieta (Tabla 7).

#### Nitrógeno amoniacal y ácidos grasos volátiles

El contenido de N-NH<sub>3</sub> en el líquido ruminal fue mayor ( $p = 0.0006$ ) en los tratamientos T1 y T2 (29.2 y 27.8 mg/L respectivamente) observándose una reducción lineal ( $p = 0.0001$ ) a medida que aumenta los niveles de *Lupinus mutabilis* en la dieta. Con respecto a los ácidos grasos volátiles no se observó diferencias ( $p > 0.05$ ) entre tratamientos. Sin embargo, se observa una disminución lineal ( $p = 0.0065$ ) en el ácido acético y un incremento lineal en el ácido Isovalérico y ratio Acético/Propiónico ( $p = 0.0170$  y  $p = 0.0039$  respectivamente) a medida que aumenta los niveles de *Lupinus mutabilis* en la dieta (Tabla 8).

#### Balance de nitrógeno y aporte de N microbial

El consumo de nitrógeno no mostró diferencias ( $p = 0.9761$ ) entre tratamientos. La excreción mostró una disminución lineal ( $p = 0.0128$ ) y cuadrática ( $p = 0.0106$ ) a medida que incrementa los niveles de *Lupinus mutabilis* en la dieta. Obteniendo el mayor ( $p = 0.0148$ ) contenido de N en las heces los tratamientos T2, T3. Con respecto al N en la orina se observa una disminución lineal ( $p < 0.0001$ ) al incrementarse los

niveles de *Lupinus mutabilis* en la dieta, obteniendo la mayor ( $p<0.0001$ ) excreción de N los tratamientos T1, T2 y T3. La retención de N fue mayor ( $p<0.0001$ ) en los tratamientos T4 y T5 obteniendo una respuesta lineal ( $p<0.0001$ ) a los niveles de *Lupinus mutabilis* en la dieta (Tabla 9).

**Tabla 6:** Consumo voluntario y digestibilidad de los nutrientes (g/Kg MS excepto donde se muestra lo contrario) de dietas con niveles crecientes de *Lupinus mutabilis*.

	Tratamientos					ESM	P	Contrastes		
	T1	T2	T3	T4	T5			L	C	Q
Consumo voluntario										
MS	1195.0 a	1179.6 a	1192.9 a	1151.2 a	1158.6 a	131.0 0	0.9989	0.8092	0.984 8	0.961 3
MO	1149.9 a	1149.7 a	1145.9 a	1103.9 a	1118.9 a	126.0 9	0.9984	0.7897	0.987 0	0.880 7
PC	249.8a	246.6a	249.4 <sup>a</sup>	240.7a	242.2a	27.39	0.9989	0.8095	0.984 6	0.960 7
FDN	508.0a	518.3a	484.3 <sup>a</sup>	500.9a	461.3a	55.58	0.9554	0.5360	0.815 0	0.946 1
FDA	208.3a	222.8a	199.4 <sup>a</sup>	226.4a	218.3a	24.12	0.9296	0.7585	0.954 8	0.970 7
TC	0.0d	12.9dc	26.3cb	37.9b	53.0a	3.44	<0.000 1	<0.000 1	0.854 3	0.781 9
Consumo PV <sup>0.75</sup>										
MS	73.8a	72.2a	73.0a	69.7a	72.4a	6.83	0.9949	0.8081	0.857 9	0.871 6
MO	71.0a	70.4a	70.1 <sup>a</sup>	66.9a	69.9a	6.57	0.8755	0.4108	0.509 8	0.995 8
PC	15.4a	15.1a	15.2 <sup>a</sup>	14.5a	15.1a	1.42	0.9939	0.7930	0.853 3	0.861 1
FDN	31.4a	31.7a	29.6 <sup>a</sup>	30.3a	28.8a	2.91	0.9505	0.4904	0.939 4	0.977 8
FDA	12.8a	13.6a	12.1 <sup>a</sup>	13.7a	13.6a	1.26	0.8826	0.6823	0.779 8	0.886 1
Consumo de nutrientes digestibles										
MS	829.5a	858.6a	859.5a	825.8a	839.5a	93.77	0.9983	0.9641	0.852 2	0.802 7
MO	769.2a	780.5a	789.9a	756.8a	768.6a	86.95	0.9992	0.9292	0.909 7	0.866 6
PC	174.7a	188.3a	197.0a	190.4a	191.6a	20.63	0.9546	0.5872	0.608 6	0.846 4
FDN	284.9a	299.9a	269.1a	273.2a	253.4a	25.41	0.7566	0.2779	0.718 7	0.789 8
FDA	158.8a	171.4a	152.3a	168.8a	155.7a	17.47	0.9200	0.8742	0.813 6	0.969 8
Digestibilidad										
MS	697.4a	726.2a	721.1a	716.1a	722.4 <sup>a</sup>	9.21	0.2343	0.1856	0.206 7	0.136 3
MO	669.1a	682.8a	686.2a	689.6a	685.8 <sup>a</sup>	18.32	0.9409	0.4955	0.615 0	0.956 2
PC	696.2b	765.8a	793.4a	796.5a	793.2 <sup>a</sup>	15.46	0.0007	0.0002	0.008 0	0.474 6
FDN	569.7a	581.8a	565.9a	554.4a	552.6 <sup>a</sup>	21.78	0.8744	0.3830	0.776 5	0.590 1
FDA	770.0a	771.4a	763.8a	744.9a b	714.0b	10.15	0.0033	0.0003	0.059 7	0.922 1

<sup>a,b</sup> Medias con la misma letra en una fila no difieren  $P>0.05$ . T1: dieta sin *Lupinus mutabilis* T2: T3: T4 y T5.(5, 10, 15, 20 % inclusión de chocho), EEM: error estándar de la media

La excreción de derivados de purina en la orina de los ovino mostró una disminución lineal ( $p < 0.0001$  y  $p < 0.0001$  respectivamente) en Alantonía y ácido úrico a medida que incrementa el *Lupinus mutabilis* en la dieta. Con respecto a la Xantina + Hiposantina no mostró diferencias ( $p = 0.7843$ ) entre tratamientos. La mayor ( $p < 0.0001$ ) excreción total de purinas, aporte de N microbial y eficiencia de conversión de N microbial en g/día fue en T4 y T5, observándose una respuesta lineal a los tratamientos (Tabla 9).

### Cinética de producción de gas *in vitro*

La producción de gas *in vitro* (PG) fue menor ( $p = 0.0005$ ) en los tratamientos con niveles ascendentes de *Lupinus mutabilis* en la dieta, con una reducción de 55 a 76 mL/0.5g MS fermentable frente al testigo (T1), mostrando una respuesta lineal ( $P = 0.0022$ ), cuadrática ( $p = 0.0143$ ) y cubica ( $p = 0.0046$ ) a los tratamientos. La asíntota de producción de gas ( $B1$ ) no mostró diferencias ( $p = 0.1239$ ) entre tratamientos. La tasa de producción de gas  $h^{-1}$  ( $C1$ ) fue mayor ( $p < 0.0001$ ) en T2, T3 y T4 mostrando una respuesta cuadrática ( $p < 0.0001$ ) a los tratamientos. Con respecto a las horas de producción de gas *in vitro* en todas las horas de muestreo se observó una disminución lineal ( $p < 0.05$ ) a medida que se incorpora el *Lupinus mutabilis* en la dieta de los ovinos (Tabla 10).

**Tabla 7:** Nitrógeno amoniacal y ácidos grasos volátiles de dietas a niveles crecientes de *Lupinus mutabilis*.

	Tratamientos					ESM	P	Contrastes		
	T1	T2	T3	T4	T5			L	C	Q
N-NH <sub>3</sub> mg/L	29.2a	27.8ab	26.5b	26.9b	24.9b	2.95	0.0006	0.0001	0.0873	0.9843
AGV individual moles %										
Acetico	53.22a	52.60a	51.70a	51.5a	50.8a	0.61	0.0871	0.0065	0.8299	0.9190
Propoónico	32.04a	32.10a	33.0a	33.04a	33.07a	0.66	0.3802	0.0571	0.8930	0.9180
Butírico	11.00a	11.5a	11.4 <sup>a</sup>	11.4a	11.6a	0.521	0.9374	0.5196	0.7924	0.6158
Isobutírico	1.32a	1.30a	1.40 <sup>a</sup>	1.3a	1.22a	0.070	0.5214	0.3799	0.2388	0.6582
Isovalerico	1.14a	1.24a	1.22 <sup>a</sup>	1.34a	1.32a	0.055	0.1201	0.0170	0.6375	0.9110
Valerico	1.44a	1.34a	1.30 <sup>a</sup>	1.50a	1.44a	0.052	0.0822	0.3470	0.1192	0.0684
Ratio A/P	1.66a	1.64a	1.57 <sup>a</sup>	1.56a	1.51a	0.037	0.0559	0.0039	0.9888	0.9203

Medias con la misma letra en una fila no difieren  $P > 0.05$ . T1; dieta sin *Lupinus mutabilis* T2: T3: T4 y T5. (5, 10, 15, 20 % inclusión de chocho), EEM: error estándar de la media

## 5.1. DISCUSIÓN

Las dietas a base de chocho mostraron mejores resultados en cuanto a digestibilidad, degradabilidad, síntesis de proteína microbial y producción de gas en comparación a la dieta testigo formulada a base de soya. Los resultados de digestibilidad obtenidos en la Tabla 6 son mejores en el tratamiento 2 el cuales tiene una inclusión del 5 % de *Lupinus mutabilis* esto se debió a la cantidad de compuestos secundarios presentes en la mayoría de las leguminosas, siendo los más comunes los taninos y las saponinas. Se ha demostrado que los compuestos secundarios son benéficos en una dieta de hasta el 4% de inclusión, por ejemplo los taninos hidrolizados mejoran el balance de nitrógeno debido a que las uniones tanino-proteína son hidrófobos aumentando la cantidad de proteína digestible en el intestino (efecto by-pass); a partir de esa concentración presentan efectos anti-nutricionales para los rumiantes: los efectos negativos de los taninos son: 1. inhibición sobre las enzimas: proteasas, zimógenos, lipasas, a amilasas, celulasas, b glucosidasas y ureasas, dando como resultado menor proporción de energía y proteína disponible para las colonias ruminales; 2. Reducción selectiva de poblaciones bacterianas celulolíticas, lo cual se traduce en la menor digestión de FDA y FDN (efecto que se muestra en la tabla 6), 3. Los taninos condensados forman complejos muy fuertes que disminuyen la digestión de las proteínas para los microorganismos ruminales aumentando la cantidad de proteína en las heces. En tanto que las saponinas forman complejos con los esteroides en las membranas de los protozoos causando su muerte, si las poblaciones metanogénicas disminuyen se obtiene menor cantidad de AGV's de cadena corta (Goel & Makkar, 2012; Jayanegara, Leiber, & Kreuzer, 2012). Las concentraciones de taninos son benéficos del 2-4 %, los efectos anti nutricionales se observan a partir del 5-9 % y los efectos tóxicos o mortales son a partir del 9% (Seresinhe & Pathirana, 2003).

La producción de metano, AGVs y Materia Orgánica fermentable disminuye mientras se aumentan los niveles de taninos en las dietas. La disminución de Co<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub> se debe a la reducción de protozoos metanogénicos o a la reducción de poblaciones metanogénicas asociadas a la pared protozoaria. El efecto positivo de esta supresión protozoaria se evidencia al mejorar la eficiencia energética del rumiante, puesto que el hidrogeno libre resultante de la metanogénesis es reciclado y

redireccionado para la formación de productos como propionato y butirato (Cieslak et al., 2016; Silva et al., 2017).

**Tabla 8:** Balance de nitrógeno y síntesis de proteína microbial.

	Tratamientos					ESM	P	Contrastes		
	T1	T2	T3	T4	T5			L	C	Q
Balance de nitrógeno (g/d)										
Consumo N	39.9a	38.2a	39.9 <sup>a</sup>	36.8 a	37.3a	4.28	0.9761	0.6334	0.9725	0.9930
N en heces	7.9ab	8.7 <sup>a</sup>	8.2 <sup>a</sup>	8.0ab	6.2b	0.46	0.0148	0.0128	0.0106	0.8691
N en orina	23.1a	19.5a	20.4 <sup>a</sup>	15.6b	15.6b	1.00	<.0001	<.0001	0.7221	0.9020
Retención	8.8c	9.9c	11.2c b	13.1a b	15.3a	0.57	<.0001	<.0001	0.1877	0.9922
Derivados de purinas										
Alantoína	15.3c	16.8c	21.1b	28.3 a	29.3a	0.72	<.0001	<.0001	0.4625	0.0009
Ácido úrico	9.7c	12.7b	13.7b	14.6a b	16.7a	0.58	<.0001	<.0001	0.4044	0.1079
Xa + Hi	3.4a	3.9 <sup>a</sup>	3.1 <sup>a</sup>	3.4 a	2.8a	0.61	0.7843	0.4151	0.6503	0.8235
Total	28.5d	33.5c	37.9b	46.4 a	49.0a	0.80	<.0001	<.0001	0.7675	0.0475
ANM g/día	24.6d	29.0c	32.8b	40.2 a	42.4a	0.69	<.0001	<.0001	0.7905	0.0449
ENM	57.1c	65.5c b	73.7b	89.9a	95.3a	2.51	<.0001	<.0001	0.8189	0.1914

Medias con la misma letra en una fila no difieren  $P > 0.05$ . T1; dieta sin *Lupinus mutabilis* T2: T3: T4y T5., EEM: error estándar de la media. Xa+Hi: Xantina e Hipoxantina

El metano es un gas producido por la fermentación de carbohidratos y otros sustratos a nivel ruminal, los taninos tienen la habilidad de ligarse a las proteínas, esta unión se mantiene gracias al pH ruminal (5-7) pero al pasar hacia el abomaso el pH baja (2,5-3,5) lo que permite la liberación de la proteína para ser absorbida a nivel de duodeno (Mohammadabadi, Chaji, & Tabatabaei, 2010); si disminuimos la fermentación proteica ruminal cambiamos indirectamente el patrón de fermentación ruminal y producción de AGVs ya que se disminuye los niveles de amoníaco, los niveles inferiores a 80 mg N/l ocasionan una depresión de la digestibilidad de FDA y FDN, además que NH<sub>3</sub> es un producto de la desaminación de amino ácidos mientras que AGVs como: isobutírico e isovalérico son productos del rompimiento de esqueletos carbonados de los aminoácidos en la fermentación ruminal. En resumen la formación de complejos tanino- proteína ocasiona: 1. Reducción de actividades enzimáticas celulolítica, proteolítica y ureolítica, 2. Altera el patrón de fermentación ruminal inhibiendo las poblaciones metanogénicas, 3. Reduce la degradación microbial de carbohidratos, 4. Disminución de concentraciones de amoníaco debido a la reducción de la actividad proteolítica, degradación de péptidos y desaminación de aminoácidos en el rumen (Gemedá & Hassen, 2015; Mohammadabadi et al., 2010).

**Tabla 9.** Cinética de producción de gas in vitro (ml/0.5g MS fermentable).

	Tratamientos					EEM	P	Contrastes		
	T1	T2	T3	T4	T5			L	C	Cu
Parámetros de producción de gas										
PG	409.9a	333.5b	345.0b	354.3b	336.5b	11.66	0.0005	0.0022	0.0143	0.0046
B1	17.7a	15.6 <sup>a</sup>	16.8a	17.6 <sup>a</sup>	18.7a	0.79	0.1239	0.1272	0.6290	0.2667
C1	1.169b	1.233 <sup>a</sup>	1.236a	1.230 <sup>a</sup>	1.172b	0.0095	<.0001	0.9390	<.0001	0.7557
Horas de producción de gas										
3	52.4a	43.2b	42.0b	41.6b	40.8b	2.08	0.0035	0.0010	0.0328	0.2126
6	89.3a	77.0ab	74.7ab	73.6ab	70.6b	3.88	0.0223	0.0028	0.1881	0.3426
9	128.4a	112.4ab	108.6ab	106.9ab	100.9b	5.59	0.0230	0.0021	0.2985	0.3631
12	156.8a	138.9ab	135.2ab	133.4ab	124.8b	6.60	0.0300	0.0027	0.4128	0.3258
18	206.3a	180.7ab	178.2ab	178.1ab	163.3b	7.61	0.0098	0.0011	0.4068	0.1296
24	242.2a	211.8ab	211.7ab	212.3ab	194.3b	8.08	0.0066	0.0010	0.4052	0.0669
36	283.7a	243.9b	246.0b	248.5ab	227.8b	9.05	0.0037	0.0010	0.2621	0.0316
48	316.4a	268.9b	273.8b	275.8b	256.1b	9.31	0.0017	0.0007	0.1437	0.0188
60	334.3a	282.8b	288.7b	293.1b	272.4b	9.70	0.0016	0.0011	0.1104	0.0126
72	344.8a	290.8b	297.3b	303.0b	281.3b	9.88	0.0014	0.0011	0.0958	0.0094
96	354.2a	297.5b	303.9b	309.9b	287.1b	10.28	0.0012	0.0009	0.0920	0.0091

a,b Medias con la misma letra en una fila no difieren P=0.05. T1: T2: T3: T4: y T5 EEM: error estándar de la media. PG, B y C: son parámetros de la ecuación mL gas = PG (1 + (B/t)C)-1 (Groot et al., 1996)

Los taninos forman complejos con las muco-proteínas salivares, este mecanismo provoca la formación de precipitados insolubles estimulando mecanorreceptores bucales lo que a su vez disminuye la función lubricante de la boca puesto que esta unión fenol/proteínas salivares produce una sensación de dureza y sequedad por lo que se reduce el consumo voluntario (Addisu, 2016; Costa, Antunes, Almeida, & Varela, 2011; Jerónimo et al., 2016) este efecto se evidencia cuando el aporte de taninos es superior al 5 % en la dieta, en la presente investigación no existe disminución del consumo voluntario debido a que ninguna de las dietas formuladas con *Lupinus mutabilis* supera el rango tolerable de taninos. Los taninos pueden incrementar la eficiencia de reciclado de urea del rumen, los taninos disminuyen el porcentaje de degradación y desaminación proteica en el rumen y por lo tanto disminuye el NH<sub>3</sub> ruminal. El nitrógeno plasmático, NH<sub>3</sub> ruminal y nitrógeno ureico fueron menores en ovejas y cabras alimentadas con leguminosas ricas en taninos (Addisu, 2016). Los taninos pueden incrementar el contenido de glicoproteínas y la excreción de saliva, estas a su vez pueden ligar más N reciclado del rumen (Costa et al., 2011). Los complejos tanino- proteínas formadas a nivel ruminal son

desaminados a nivel de abomaso y desaminados en duodeno por lo cual la proteína libre es absorbida aumentando la cantidad de N retenido (Jerónimo et al., 2016).

## CAPÍTULO VI.

### 6.1. CONCLUSIONES

De acuerdo a la investigación realizada se puede concluir que las dietas a base *Lupinus mutabilis* con niveles de inclusión de hasta el 20% mejoran los parámetros de consumo voluntario, digestibilidad de los nutrientes, cinética de producción de gas, nitrógeno amoniacal, ácidos grasos volátiles, balance de nitrógeno y síntesis de proteína microbial.

### 6.2. BIBLIOGRAFÍA.

- Addisu, S. (2016). Effect of dietary tannin source feeds on ruminal fermentation and production of cattle ; a review. *Journal of Animal and Feed Research*, 6(2), 45–55.
- Albarracín, J., Henao, F., & Estrada, J. (2013). Impacto de tres dietas basadas en forrajes, sobre la producción de metano y ácidos grasos volátiles en Bos Taurus (BOVIDAE). *Boletín Científico Centro de Museos*, 17(1), 73–80.
- Álvarez-Romero, J. (2005). Ovis aries ( doméstica ) Linnaeus , 1758 Información general Información taxonómica Medidas Distribución Original, 1–7.
- Amela, M. (2012). Recría de bovinos de carne con dietas basadas en granos de maíz o avena pelletizados Beef cattle backgrounding with diets based on pelleted corn or oats grains. *Revista Argentina de Producción Animal*, 32(2), 125–134. <http://ppct.caicyt.gov.ar/index.php/rapa/article/viewFile/2454/pdf>
- Bonilla, J., & Lemus-Flores, C. (2012). Fermentación ruminal, digestibilidad y producción de metano en ovinos alimentados con cuatro niveles de rastrojo de maíz. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 15, 499–509.
- Cheng, K. J., McAllister, T. A., Bae, H. D., & Jones, G. A. (1994). Microbial attachment and feed digestion in the rumen. *Journal of Animal Science*, 72(11), 3004–3018. <https://doi.org/10.2527/1994.72113004X>
- Chesson, A., & Forsberg, C. W. (1997). Polysaccharide degradation by rumen microorganisms. In *The Rumen Microbial Ecosystem* (pp. 329–381). Dordrecht:

Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-009-1453-7\\_8](https://doi.org/10.1007/978-94-009-1453-7_8)

- Cieslak, A., Zmora, P., Matkowski, A., Nawrot-Hadzik, I., Pers-Kamczyc, E., El-Sherbiny, M., ... Szumacher-Strabel, M. (2016). Tannins from *sanguisorba officinalis* affect in vitro rumen methane production and fermentation. *J. Anim. Plant Sci*, 26(1), 54–62. <http://www.thejaps.org.pk/docs/v-26-01/08.pdf>
- Clutton-Brock, J. (1999). *A natural history of domesticated mammals*. Cambridge University Press.
- Costa, A. R., Antunes, C., Almeida, A. M., & Varela, A. (2011). The Efect of Tannins on Mediterranean Ruminant Ingestive Behavior : The Role of the Oral Cavity. *Molecules*, 16, 2766–2784. <https://doi.org/10.3390/molecules16042766>
- Cotta, M. A., & Hespell, R. B. (1986). Proteolytic activity of the ruminal bacterium *Butyrivibrio fibrisolvens*. *Applied and Environmental Microbiology*, 52(1), 51–8. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3524460>
- Erfle, J. D., Mahadevan, S., & Sauer, F. D. (1977). Purification and properties of urease from bovine rumen. *Biochemical Journal*, 163(3).
- Fondevila, M., & Dehority, B. A. (1996). Interactions between *Fibrobacter succinogenes*, *Prevotella ruminicola*, and *Ruminococcus flavefaciens* in the digestion of cellulose from forages. *Journal of Animal Science*, 74(3), 678. <https://doi.org/10.2527/1996.743678x>
- Forsberg, C. W., Lovelock, L. K., Krumholz, L., & Buchanan-Smith, J. G. (1984). Protease activities of rumen protozoa. *Applied and Environmental Microbiology*, 47(1), 101–10. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6364968>
- Galina, M. A., & Puga, L. J. P. D. C. (2009). Cinética ruminal y crecimiento de cabritos suplementados con un probiótico de bacterias ácido-lácticas Ruminal kinetics and growth of kids supplemented with a lactic acid bacteria probiotic, 32(4).
- Galindo, J., & González, N. (2009). Efecto del aceite de coco en la población de bacterias metanogénicas y su relación con otros grupos microbianos del rumen en condiciones in vitro. *Revista Cubana ...*, 43(2), 135–140.

<http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Efecto+del+a+ceite+de+coco+en+la+poblaci?n+de+bacterias+metanog?nicas+y+su+relaci?n+con+otros+grupos+microbianos+del+rumen+en+condiciones+in+vitro+.#0>

García-díaz, L. K., Mantecón, Á. R., Sepúlveda, W. S., & Maza, M. T. (2012). Negocio agropecuario : modelo de producción en castilla y león ( ESPAÑA ) Milk sheep production as an agribusiness alternative : Model of production in Castilla y Leon ( Spain ).

Gemeda, B., & Hassen, A. (2015). Effect of Tannin and Species Variation on in vitro Digestibility, Gas, and Methane Production of Tropical Browse Plants. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 28(2), 188–199. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4283163/pdf/ajas-28-2-188.pdf>

Goel, G., & Makkar, H. P. S. (2012). Methane mitigation from ruminants using tannins and saponins. *Tropical Animal Health and Production*, 44(4), 729–739. <https://doi.org/10.1007/s11250-011-9966-2>

González-Garduño, R.; Blardony-Ricardez, K.; Ramos-Juárez, J. A.; Ramírez-Hernández, B.; Sosa, R., & y Gaona-Ponce. (2013). Rentabilidad de la producción de carne de ovinos Katahdin x Pelibuey con tres tipos de alimentación, *17*(1), 135–148.

Gross, K. L., Hammond, M., & Menalled, F. D. (2001). Weed aboveground and seedbank community responses to agricultural management systems. *Ecological Applications*, 11(6), 1586–1601. [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(2001\)011\[1586:WAASCR\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(2001)011[1586:WAASCR]2.0.CO;2)

Guadalupe, A., Melgarejo, L., & Castañeda, Y. (2003). *edigraphic.com*, 34.

Herrera, J., Jordán, H., & Senra, A. F. (2010). Aspectos del manejo y alimentación de la reproductora ovina Pelibuey en Cuba. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 44(3), 211–219.

Hino, T., & Russell, J. B. (1985). Effect of reducing-equivalent disposal and NADH/NAD on deamination of amino acids by intact rumen microorganisms and their cell extracts. *Applied and Environmental Microbiology*, 50(6), 1368–74. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4091565>

- Ho, L. C. (1988). Metabolism and Compartmentation of Imported Sugars in Sink Organs in Relation to Sink Strength. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 39(1), 355–378. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.39.060188.002035>
- Hungate, R. E. (1966). Method for measuring diaminopimelic acid in total rumen contents and its application to the estimation of bacterial growth. *Applied Microbiology*, 14(1), 27–30. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5914492>
- Jacobsen, S., & Mujica, A. (2006). El tarwi ( *Lupinus mutabilis* Sweet .) y sus parientes silvestres.
- Jambrina, P. J. L. (n.d.). El empleo del altramuz en la alimentación animal. Retrieved from [http://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf\\_Agri/Agri\\_1995\\_751\\_137\\_139.pdf](http://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_Agri/Agri_1995_751_137_139.pdf)
- Jayanegara, A., Leiber, F., & Kreuzer, M. (2012). Meta-analysis of the relationship between dietary tannin level and methane formation in ruminants from in vivo and in vitro experiments. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 96(3), 365–375. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2011.01172.x>
- Jerónimo, E., Pinheiro, C., Lamy, E., Teresa, M., Sales-baptista, E., Lopes, O., & Capela, F. (2016). Tannins in ruminant nutrition: impact on animal performance and quality of edible products. In *Tannins in Ruminant Nutrition*. Beja, Portugal: Centro de Biotecnologia Agrícola e Agroalimentar do Alentejo.
- Jersonsky, R., & Coria, M. (2014). Metabolic utilization of whole sorghum grains with different tannin contents in British steers. *Pastos Y Forrajes*, 37(2), 191–197. Retrieved from [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03942014000200009](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942014000200009)
- Lampart-Szczapa, E., Siger, A., Trojanowska, K., Nogala-Kalucka, M., Malecka, M., & Pacholek, B. (2003). Chemical composition and antibacterial activities of lupin seeds extracts. *Nahrung/Food*, 47(5), 286–290. <https://doi.org/10.1002/food.200390068>

- Leng, R. A. (1990). Factors affecting the utilization of “poor-quality” forages by ruminants particularly under tropical conditions Requirements for sulphur. *Nutrition Research Reviews*, 3, 277–303. <https://doi.org/10.1079/NRR19900016>
- López, R., Canizales, D., Medina, M., Ballesteros Pelibuey, R. (2012). Determination of the yield of the production of ovines Pelibuey in the North of Sonora.
- Macedo, R., & Castellanos, Y. (2004). Rentabilidad de un sistema intensivo de producción ovino en el trópico. *Revista de Investigacion Y Difusion Cientifica*, 8(May), 1–9.
- Magaña, H. L., Encinia, F. B., Andrés, F., Magaña, L., Meléndez, H., Patricia, S., ... Potosí, L. (2011). Estrategias para incrementar la producción de carne de ovinos de pelo en la Huasteca Potosina , México, 29(3), 255–260.
- Manso, A., Ruiz, A., & Castro, T. (1998). Rendimineto a la canal , quinto, caurto y despiece de corderos de raza Churra sometidos a distintas estrategias de alimentacion. *Arch. Zootec.*, 47, 73–84.
- Mohammadabadi, T., Chaji, M., & Tabatabaei, S. (2010). The effect of Tannic Acid on in vitro Gas Production and Rumen Fermentation of Sunflower meal. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(2), 277–280. <http://docsdrive.com/pdfs/medwelljournals/javaa/2010/277-280.pdf>
- Morillo, F. E., Díaz, Y., Argenti, P., & León, H. Q. L. (2005). leucocephala ) en la alimentación de corderos post-destete en la época seca Resumen Introducción Materiales y métodos, 41–51.
- Nolan, J. V, Provenza, F. D., & Lynch, J. J. (1994). Food aversion conditioned in anesthetized sheep. *Physiology & Behavior*, 55(3), 429–432. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(94\)90096-5](https://doi.org/10.1016/0031-9384(94)90096-5)
- Nowak, R. M. (1999). *Walker’s mammals of the world*. Johns Hopkins University Press. [https://books.google.com.ec/books/about/Walker\\_s\\_Mammals\\_of\\_the\\_World.html?id=T37sFCI43E8C&redir\\_esc=y](https://books.google.com.ec/books/about/Walker_s_Mammals_of_the_World.html?id=T37sFCI43E8C&redir_esc=y)

- Orpin, C. G., & Bountiff, L. (1978). Zoospore Chemotaxis in the Rumen Phycomycete *Neocallimastix frontalis*. *Journal of General Microbiology*, *104*(1), 113–122. <https://doi.org/10.1099/00221287-104-1-113>
- Orskov, E., & Ryle, M. (1998). Feed evaluation with emphasis on fibrous roughages and fluctuating supply of nutrients: A Review. *Small Ruminant Research*, *28*(1), 1–8. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(97\)00042-4](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(97)00042-4)
- Ortega-David, E., Rodríguez, A., David, A., & Zamora-Burbano, Á. (2010). Caracterización de semillas de lupino (*Lupinus mutabilis*) sembrado en los Andes de Colombia. *Acta Agronómica*, *59*(1), 111–118. [http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/acta\\_agronomica/article/view/14094/14957](http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/14094/14957)
- Owens, F. N., Zinn, R. A., & Corona, L. (2006). Impact of corn vitreousness and processing on site and extent of digestion by feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, *84*(11), 3020. <https://doi.org/10.2527/jas.2005-603>
- Pérez, M., Lagunes, L., López, J., Aranda, E., & Ramos, J. (2015). Composición química de especies silvestres del género *Lupinus* del estado de Puebla, México. *Fitotec. Mex*, *38*(1). <http://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/38-1/5a.pdf>
- Pinto, R., Gómez, H., Hernández, A., Medina, F., Martínez, B., & Aguilar, V. H. (2003). Preferencia ovina de árboles forrajeros del centro de Chiapas , México, *26*(4), 329–334.
- Polin, A., Muro, A., & Díaz, L. (2014). Aceites esenciales modificadores de perfiles de fermentación ruminal y mitigación de metano en rumiantes . Revisión Ruminal fermentation modification and methanogenesis mitigation by essential oils from plants . Review. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, *5*(1), 25–47.
- Ríos, L., Alvarez, R., & Rondón, Z. (2005). Uso de morera ( *Morus sp.* ) y mata ratón ( *Gliricidia sepium* ) como sustitutos del alimento concentrado para corderos en ..., (January 2005).
- Rodríguez, R., Sosa, A., & Rodríguez, Y. (2007). La síntesis de proteína microbiana

en el rumen y su importancia para los rumiantes. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 41(4). <http://www.redalyc.org/pdf/1930/193017712001.pdf>

Rotger-Cerdà, A. (2004). Fermentación ruminal, degradación proteica y sincronización energía-proteína en terneras en cebo intensivo., 196. Retrieved from <http://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/5667/arc1de1.pdf?sequence=1>

Russell, J. B. (1985). Fermentation of cellodextrins by cellulolytic and noncellulolytic rumen bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 49(3), 572–6. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3994365>

Salazar, W., Cárdenas, J., Villafuerte, S., Fernández, I., Villegas, L., Pacheco, L., & Untiveros, G. (2008). Estudio fitoquímico y de la actividad antihelmíntica de los extractos de *Sarothamnus scoparius* y *Lupinus ballianus*. *Rev Soc Quim Perú*, 74(2), 100–107. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v74n2/a03v74n2.pdf>

Sallam, S. M. A. (2010). Efecto de diferentes niveles de aceite esencial de cítrico y su componente activo en la fermentación microbiana ruminal y la producción in vitro de metano, 373–378.

Seresinhe, T., & Pathirana, K. (2003). Forage tannins in ruminant nutrition. *Tropical Agricultural Research and Extension*, 6. <http://dl.nsf.ac.lk/bitstream/handle/1/8168/TARE-6-29.pdf?sequence=2>

Silva, C., Robson, E., Alves, D., Martinele, I., Agosto, M. D., Cedrola, F., ... Delano, F. (2017). Sheep fed with banana leaf hay reduce ruminal protozoa population. *Tropical Animal Health Production*, 5–10. <https://doi.org/10.1007/s11250-017-1265-0>

Soest, R. J. Van. (1987). Comparative digestion of timothy (*Phleurn pratense*) fibre by ruminants, equines and rabbits. *Br. J. Nutr*, 41. <https://doi.org/10.1079/BJN19820035>

Sosa, A., Galindo, J., & Bocourt, R. (2007). Metanogénesis ruminal: aspectos generales y manipulación para su control. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 41(2). <http://www.redalyc.org/pdf/1930/193017658001.pdf>

- Spicer, L. A., Theurer, C. B., Sowe, J., & Noon, T. H. (1986). Ruminant and Post-Ruminal Utilization of Nitrogen and Starch from Sorghum Grain-, Corn- and Barley-Based Diets by Beef Steers. *Journal of Animal Science*, 62(2), 521. <https://doi.org/10.2527/jas1986.622521x>
- Tamminga, S. (1979). Protein Degradation in the Forestomachs of Ruminants. *Journal of Animal Science*, 49(6), 1615. <https://doi.org/10.2527/jas1979.4961615x>
- Toral, N., Hernández, D., Amezcua, E., Izaba, S., & Benito, E. (2001). Caracterización De Los Sistemas De Producción Ovina En El Estado De Tabasco. *Agrociencia*, 35, 469–477.
- Varga, G. A., & Kolver, E. S. (1997). Microbial and animal limitations to fiber digestion and utilization. *The Journal of Nutrition*, 127(5 Suppl), 819S–823S. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9164244>
- Veira, D. M. (1986). The Role of Ciliate Protozoa in Nutrition of the Ruminant. *Journal of Animal Science*, 63(5), 1547. <https://doi.org/10.2527/jas1986.6351547x>
- Wallace, R. J., Onodera, R., & Cotta, M. A. (1997). Metabolism of nitrogen-containing compounds. In *The Rumen Microbial Ecosystem* (pp. 283–328). Dordrecht: Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-009-1453-7\\_7](https://doi.org/10.1007/978-94-009-1453-7_7)
- Zapata, R., Gutiérrez, L., & Polanco, D. (2011). Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias Role of rumen ciliated protozoa in the synthesis of conjugated linoleic acid . A review □ Papel de los protozoos ciliados ruminales en la síntesis de ácido linoleico conjugado . Revisión, 135–149.
- Zavaleta de Lucio, E. (2010). Los ácidos grasos volátiles, fuente de energía en los rumiantes. <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol1/CVv1c09.pdf>

## CAPITULO VII

### PROPUESTA

“Utilización de *Lupinus mutabilis* en dietas para mejorar los parámetros productivos en ovinos.”

#### 7.1. ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA

Las dietas a base de *Lupinus mutabilis* a niveles ascendentes mostraron cambios positivos en el patrón de fermentación ruminal así como un mejoramiento en el aprovechamiento de la síntesis de proteína de origen microbial y una mejor retención de nitrógeno; por lo que podemos concluir que estas dietas en una inclusión de hasta el 20% en rumiantes serán benéficas

Las semillas del género *Lupinus* se han utilizado con efectos benéficos en la alimentación de bovinos de engorde así como también en pequeños rumiantes.(Jambrina, n.d.)

#### 7.2. JUSTIFICACION

El uso de *Lupinus* en contraste con otros granos y concentrados comerciales es muy seguro debido a su alto contenido de fibra (13-17%); normalmente se considera que mayor cantidad de fibra la digestibilidad parte de los nutrientes va a disminuir, este efecto no se observa en los *Lupinus* debido a que la digestibilidad de esta es muy alta por su bajo contenido de lignina. Los factores positivos de los *Lupinus* son altos niveles en energía metabolizable debido a su alta digestibilidad, con un valor de 13.5 megajulios por Kg de materia seca, comparándolo favorablemente con otros concentrados como el trigo, la cebada, el maíz, el sorgo. Además de su contenido proteico que oscila el 44 %. (Jambrina, n.d.; Rotger-Cerdà, 2004; Salazar et al., 2008)

#### 7.3. OBJETIVOS

Realizar concentrados a base de *Lupinus mutabilis* al 20 % como sustituto proteico de soya en ovinos.

## 7.5. MODELO OPERATIVO

La producción de AGVs en los ruminantes proviene de la degradación de los carbohidratos, la calidad y estructura de estos carbohidratos influye directamente en el tipo de ácidos producidos. Sabemos que el ácido propiónico es producido en el rumen a partir del ácido pirúvico o del ácido láctico mediante la formación de oxalacetato y succinato. El ácido propiónico posee la mejor calidad de combustión energética, para incrementar la cantidad de este ácido debemos modificar el patrón de fermentación ruminal, esto como se evidencio en la investigación realizada en los ovinos se logró mediante la adición de carbohidratos no estructurales presentes en la semilla de *Lupinus mutabilis*.

El concentrado debe estar basado en cuanto a proteína y energía metabolizable, de acuerdo a la cantidad de litros de leche producidos al día. El concentrado deberá suministrarse dos veces al día en el momento del ordeño

Elaboración de balanceados para ovinos

- Elaboración de la dieta que se ajuste a 6.4 % de proteína digestible y 1.17 Mcal/Kg. utilizando *Lupinus mutabilis* como fuente proteica.
- Selección de materia primas
- Selección, molienda y almacenamiento de los granos.
- Mezclado de la materia prima.

## 7.6. ADMINISTRACION

Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias Agropecuarias

Autor: Celso Fabián Calderón Zavala.

Coordinador PhD Marcos Barros.