

UTILIZACION DE LUPINO AMARGO EN GALLINAS PONEDORAS:  
EFECTOS EN SU SALUD

"BITTER LUPIN UTILIZATION IN LAYING HENS:  
EFFECTS IN THEIR HEALTH"

JUAN CARLOS LOPEZ S.<sup>1</sup>, AIDA CUBILLOS G.<sup>1</sup>, VICTOR CUBILLOS G.<sup>1</sup>, HELGA  
BÖHMWALD L.<sup>1</sup> e IRMA MOLINA V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile. Casilla 567, Valdivia

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias Econ. y Adm., Universidad Austral de Chile. Casilla 567, Valdivia

## RESUMEN

Se incorporó semilla de lupino amargo a la ración de gallinas ponedoras, evaluándose la funcionalidad hepática, la mortalidad y los cambios macro y microscópicos en hígado, riñón y cerebro. Un total de 160 gallinas White Leghorn, línea Shaver Starcross 288, de 34 semanas de edad, se dividieron al azar en 4 grupos. Las aves se alimentaron durante 22 semanas con una dieta basal más un 10% de semilla amarga (2,63% de alcaloides totales) de *Lupinus albus* cv. Multolupa. Se midieron las enzimas aspartato-aminotransferasa, alanino-aminotransferasa y fosfatasa alcalina para funcionalidad hepática, recolectándose muestras de hígado, cerebro y riñón para estudio macro y microscópico, y se registró la mortalidad. Los valores enzimáticos no revelaron una actividad que indique alteración en la funcionalidad hepática atribuible al lupino. Las principales alteraciones morfológicas encontradas fueron en cerebro, donde se apreciaron trastornos degenerativos y necróticos en igual proporción en los 4 grupos. Los túbulos renales evidenciaron trastornos degenerativos en los grupos con mayor inclusión de alcaloides. Las lesiones en hígado, no mostraron un claro compromiso de este órgano. No hubo mortalidad atribuible al lupino. Se concluye que la semilla de lupino amargo (2,63% de alcaloides totales) incorporada hasta en un 10% de la ración y por un lapso de 22 semanas, no produce efectos nocivos en la salud de gallinas ponedoras durante su primera fase de postura.

## INTRODUCCION

El lupino constituye un interesante recurso en avicultura por ser una importante fuente de proteína, energía y efectos pigmentantes en piel y yema de huevos (Portaluppi, 1973; Cubillos *et al.*, 1983).

## MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron 160 gallinas White Leghorn (línea Shaver Starcross 288) de 34 a 56 semanas de edad, durante 22 semanas. Las aves fueron mantenidas en jaulas individuales, administrándoles 112,5 g de alimento/día/ave y agua *ad libitum*. Además, se llevó control de luz mediante reloj-control hasta completar 15 hrs/luz/día, cantidad de horas luz utilizada hasta el término de la experiencia.

Se trabajó con semilla de *Lupinus albus* cv. Multolupa tanto dulce como amarga, con un 10% de inclusión en las raciones, las cuales se componían de una dieta basal (maíz, afrechillo de trigo, harina de pescado, ácidos grasos, conchuela, fosfato 10%, metionina, vitaminas, minerales y sal). La semilla dulce y amarga contenían 0,043% y 2,63%, de alcaloides totales, respectivamente, expresados como lupanina.

Se utilizaron 4 grupos (40 aves cada uno), según los niveles de alcaloides incluidos en la ración:

Grupo A: Ración dulce (0,0105 g % de alcaloides).

Grupo B: Ración semidulce (0,0421 g % de alcaloides).

Grupo C: Ración semiamarga (0,106 g % de alcaloides).

Grupo D: Ración amarga (0,148 g % de alcaloides).

**Estudio enzimático.** Se midió la actividad de las enzimas aspartato-aminotransferasa (AST) (EC 2.6.1.1.), alanino-aminotransferasa (ALT) (EC 2.6.1.2.) y fosfatasa alcalina (FA) (EC 3.1.3.1.). Se realizaron 5 muestreos a partir del inicio y hasta el final de la experiencia, separados por un intervalo de 30 días, obteniéndose en cada muestreo sangre entera vía punción de la vena alar. El muestreo se realizó al 10% de las aves de cada grupo.

**Estudios macro y microscópico.** Se realizó un estudio anatómico e histopatológico del 5% de las aves al inicio de la experiencia (grupo control inicial) y del 20% de cada grupo al finalizar el estudio, obteniéndose muestras de hígado, riñón y cerebro, realizándose *in situ*

el estudio macroscópico. Para el análisis microscópico, se extrajeron muestras de dichos órganos y se fijaron en formalina tamponada al 10%. Posteriormente, se procesaron en autotécnico e incluyeron en parafina para ser cortados a 5 micras y teñidas con hematoxilina-eosina.

**Estudio de mortalidad.** Se llevó registro de mortalidad.

**Análisis de Laboratorio.** La actividad enzimática se determinó mediante método cinético UV a 30° C según IFCC y DGKC. Se utilizaron kits enzimáticos Boehringer-Mannheim (AST: N° 1.442.708; ALT: N° 487.368 y FA: N° 1.442.236), empleando un fotómetro HITACHI 4020. Los niveles de alcaloides tanto en la semilla como en las raciones, se determinaron con el método de cromatografía en capa fina, en el Depto. de Análisis Instrumental de la Fac. de Química y Farmacia de la Universidad de Concepción.

**Análisis estadístico.** Se practicó la prueba de  $\chi^2$  (ji cuadrado) de homogeneidad entre los grupos con un nivel de significación del 5% en el análisis de los trastornos macro y microscópicos al final de la experiencia, y un análisis de varianza de 2 vías para el estudio enzimático, empleándose el programa computacional MICROSTAT versión 4.0.

## RESULTADOS

### Estudio enzimático

**Aspartato-aminotransferasa.** En la actividad de esta enzima, no hubo diferencias significativas al 5% entre los 4 grupos, como tampoco entre los muestreos realizados (Cuadro 1).

**Alanino-aminotransferasa.** Esta enzima evidenció diferencias significativas al 5% entre los grupos en estudio en el 3<sup>er</sup> muestreo, y entre los muestreos (Cuadro 2).

Cuadro 1. Valores promedio de aspartato-aminotransferasa (UI/L) por grupo y muestreo de gallinas alimentadas con semilla de *Lupinus albus* (dulce y amargo) durante 22 semanas

Muestreos	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
I	115,50	109,25	106,00	118,25
II	112,50	108,75	106,25	114,00
III	122,00	117,00	104,75	138,25
IV	110,25	105,75	114,25	113,75
V	123,50	126,50	128,75	125,50

Nota: Sin diferencias significativas al 5%

Cuadro 2. Valores promedio de alanino-aminotransferasa (UI/L) por grupo y muestreo de gallinas alimentadas con semilla de *Lupinus albus* (dulce y amargo) durante 22 semanas

Muestreos	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
I	6,75 a	6,25 a	6,00 a	6,25 a
II	6,75 a	6,25 a	5,00 a	6,00 a
III	18,50 b	51,00 b*	27,25 b	10,75 b
IV	9,75 a	6,25 a	7,25 a	7,25 a
V	4,00 a	6,75 a	3,25 a	8,25 a

Nota: Letras distintas indican diferencias significativas al 5% entre muestreos, y el \* indica diferencias entre grupos

**Fosfatasa alcalina.** La actividad de esta enzima evidenció diferencias significativas al 5% entre los distintos muestreos, no apreciándose diferencias entre los grupos alimenticios (Cuadro 3).

Cuadro 3. Valores promedio de fosfata alcalina (UI/L) por grupo y muestreo de gallinas alimentadas con semilla de *Lupinus albus* (dulce y amargo) durante 22 semanas

Muestréos	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
I	2.313,75 a	2.158,75 a	1.754,50 a	2.722,50 a
II	932,25 b	1.017,50 b	896,50 b	1.070,25 b
III	319,75 c	666,75 c	607,75 c	718,00 c
IV	228,25 c	632,50 c	552,75 c	376,75 c
V	416,25 c	654,50 c	713,75 c	767,25 c

Nota: letras distintas indican diferencias significativas al 5% entre muestreos

#### Estudios macro y microscópicos

**Análisis macroscópico.** El exámen microscópico de hígado, cerebro y riñón al inicio de la experiencia, no reveló lesiones. Sin embargo, al término de ésta, el parénquima hepático se presentó friable y congestivo en los 4 grupos (Cuadro 4). Los riñones presentaron focos hemorrágicos en los grupos C y D y congestión en la totalidad de ellos, no observándose diferencias significativas al 5% entre grupos (Cuadro 5). En el cerebro se evidenció edema en los grupos, al finalizar el estudio.

#### Análisis microscópico

**Hígado.** Al inicio de la experiencia, se evidenciaron trastornos degenerativos y necróticos de carácter leve, en el 5% de los hígados. Al final del estudio, las alteraciones histopatológicas encontradas en el 20% de los hígados correspondieron a trastornos necróticos, degenerativos, circulatorios y del crecimiento celular, no observándose diferencias significativas al 5% entre los grupos (Cuadro 6).



Cuadro 4 Alteraciones macroscópicas en hígados de gallinas a las 56 semanas de edad, alimentadas con semilla de *Lupinus albus* (dulce y amargo) durante 22 semanas

Grupos	Hígados Normales		Alteraciones hepáticas					
			Parenquima friable		Congestión		Deg. grasa	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
A (8 aves)	2	25	4	50	2	25	3	38
B (8 aves)	2	25	3	38	3	38	-	-
C (8 aves)	5	63	3	38	-	-	2	25
D (8 aves)	3	38	3	38	2	25	-	-

Cuadro 5. Alteraciones macroscópicas en riñones de gallinas a las 56 semanas de edad, alimentadas con semilla de *Lupinus albus* (dulce y amargo) durante 22 semanas

Grupos	Riñones normales		Trastornos circulatorios			
			Hemorragias		Congestión	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
A (8 aves)	5	63	-	-	3	38
B (8 aves)	4	50	-	-	4	50
C (8 aves)	4	50	2	25	2	25
D (8 aves)	3	38	3	38	2	25

Cuadro 6. Alteraciones histopatológicas en hígados de gallinas a las 56 semanas de edad, alimentadas con semilla de *Lupinus albus* (dulce y amargo) durante 22 semanas

Grupos	Tipos de trastornos degenerativos			
	T. Turbia		Deg. grasa	
	Nº	%	Nº	%
A (8 aves)	5	63	5	63
B (8 aves)	6	75	7	83
C (8 aves)	5	63	4	50
D (8 aves)	5	63	8	100

**Riñón.** Al inicio de la experiencia, el 5% de los riñones examinados presentaron trastornos inflamatorios, degenerativos, del crecimiento celular, y necróticos. Al finalizar el estudio, en el 20% de los riñones se apreciaron trastornos necróticos e inflamatorios y del crecimiento celular, no observándose diferencias significativas al 5% entre los grupos. Trastornos degenerativos focales de carácter vacuolar se observaron en los grupos B, C y D, apreciándose diferencias significativas con el control (Cuadro 7).

**Cerebro.** A nivel cerebral, en el 5% de los órganos de las gallinas ponedoras sólo se evidenció edema leve. En el 20% de los cerebros, al final de la experiencia, se observaron trastornos necróticos, degenerativos, circulatorios y del crecimiento celular, no observándose diferencias significativas al 5% entre los grupos (Cuadro 8).

#### Mortalidad y descarte

En el transcurso del ensayo se observó una (1) muerte súbita, producto de un infarto del miocardio en un ave del grupo control. Se sacrificaron 3 aves por presentar Fatiga de Jaula.

Cuadro 7. Alteraciones histopatológicas en riñones de gallinas a las 56 semanas de edad, alimentadas con semilla de *Lupinus albus* (dulce y amargo) durante 22 semanas

Grupos	Tipos de trastornos									
	Inflamatorios		Degenerativos				Necróticos		Del crec. celular	
	Infil. Linf.		T. Turbia		Deg. Vacuo-lar <sup>1</sup>		Picnosis		P.C.O.G. <sup>2</sup>	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
A (8 aves)	1	13	7	88	-	-	1	13	7	88
B (8 aves)	1	13	8	100	6	75	4	50	7	88
C (8 aves)	2	25	8	100	8	100	2	25	7	88
D (8 aves)	3	38	7	88	8	100	4	50	7	88

<sup>1</sup> Diferencias significativas al 5% entre los grupos

<sup>2</sup> Proliferación Celular del Ovillo Glomerular

Cuadro 8. Alteraciones histopatológicas en cerebros de gallinas a las 56 semanas de edad, alimentadas con semilla de *Lupinus albus* (dulce y amargo) durante 22 semanas

Grupos	Tipos de trastornos									
	Circulatorios		Degenerativos		Necróticos				Del crec. Celular	
	Edema		Deg. Neuronal		Satelitosis		Picnosis		Proliferación Gial	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
A (8 aves)	5	63	7	88	6	75	7	88	4	50
B (8 aves)	8	100	7	88	5	63	7	88	2	25
C (8 aves)	5	63	8	100	7	88	8	100	2	25
D (8 aves)	6	75	4	50	5	63	8	100	2	25

## DISCUSION

### Estudio enzimático

La enzima AST no evidenció variaciones entre grupos ni entre los 5 muestreos realizados. Fernández *et al.* (1994), describen valores de referencia normales de 195 +/- 34,7 UI/L en gallinas ponedoras (Hyssex-Brown) de 27 semanas de edad. Además, Altman (1979) señala que actividades superiores a 230 UI/L deben ser consideradas elevadas, y ser sospecha de hepatopatía. Comparando estos valores con los obtenidos en esta investigación, se observa que la actividad de esta enzima se encuentra dentro de los rangos normales, en todos los grupos y muestreos.

Los valores de referencia para la enzima ALT en gallinas ponedoras Hyssex Brown de 27 semanas de edad descritos por Fernández *et al.* (1994), son del orden de 12,9 +/- 5,2 UI/L. Por otra parte, esta enzima evidenció un aumento significativo en su actividad en el 3<sup>er</sup> muestreo, el cual se observó en todos los grupos, siendo mayor en el grupo con lupino semidulce. Este aumento, comparado con las otras enzimas analizadas en el mismo



muestreo, demuestra que sólo ALT subió, concluyendo que este aumento es inespecífico y no se relacionaría con un daño hepático.

Para FA se describen valores de normalidad en ponedoras durante su primera fase de postura de hasta 2300 UI/L; sobre este valor son considerados anormales (Hung, comunicación personal <sup>(1)</sup>). Los valores obtenidos muestran un aumento de actividad al inicio en los 4 grupos, descendiendo en los sucesivos muestreos, lo cual coincide con lo expresado por Bell (1960), quien señala que la actividad fosfatásica se eleva al comienzo de la postura, para caer a valores normales después de 3 a 4 semanas.

#### **Análisis macroscópico**

De las lesiones observadas a nivel hepático, la friabilidad fue el trastorno más frecuente, asociándose con hepatitis grasa leve. Riddell (1987) señala que esta lesión se observa principalmente en cuadros de hepatitis grasa, la cual tiene su origen en procesos tóxicos, cuadros carenciales o dietas hiperlipídicas. Por otra parte, las alteraciones macroscópicas diagnosticadas en la presente investigación, no concuerdan con lo reportado por González (1990) en ponedoras White Leghorn alimentadas durante 7 días con lupino (1,57% alcaloides totales) en un 6% de la ración, quien encontró degeneración grasa más severa que la observada y coágulos en la superficie hepática producto de ruptura de la cápsula de Glisson, asociando este autor las lesiones a la acción de los alcaloides. Al respecto, las diferencias entre ambos trabajos radican en la cantidad de grasa presente en las células hepáticas, ya que ésta es responsable de la friabilidad observada, y por consiguiente, de la ruptura de la cápsula. En riñón, las lesiones circulatorias no son afecciones específicas que se relacionen con la acción de los alcaloides, ya que estas lesiones también se presentan en septicemias e hipoxias (Jubb *et al.*, 1985).

---

<sup>1</sup> Dr. Armando Hung. Profesor de Patología Clínica. Universidad Mayor de Lima, Perú

### Análisis microscópico

**Hígado.** El análisis histopatológico al inicio de la experiencia, permite deducir que las afecciones observadas se relacionan con la alimentación recibida, la cual es responsable de los trastornos necróticos y degenerativos presentes en las células hepáticas. A las 56 semanas, los hígados sólo evidenciaron trastornos degenerativos de carácter graso. Esta lesión en gallinas ponedoras se considera normal, dado el fuerte estrés metabólico que les origina la postura (Riddell, 1987). Cabe destacar que, si bien es cierto se observaron diferencias en la cantidad de grasa en el parénquima entre los grupos, éstas no fueron significativas. Según lo obtenido en la presente investigación, y considerando la estructura química de los alcaloides del lupino (quinolizidínicos), se descarta la acción hepatotóxica en ponedoras.

**Riñón.** Los hallazgos microscópicos renales al inicio de la experiencia, se relacionan con la alimentación o cuadros infecciosos subclínicos, los cuales son responsables de los trastornos observados en los túbulos y glomérulos. Al término de la experiencia, se evidenció un aumento de los trastornos degenerativos de tipo vacuolar en las células epiteliales tubulares de los grupos que recibieron mayores niveles de alcaloides. Las otras alteraciones diagnosticadas no presentaron diferencias entre los grupos, de tal modo, se puede señalar que, en los porcentajes de inclusión y en el período administrado, el lupino amargo no origina alteraciones de relevancia en los riñones atribuibles a los alcaloides en la dieta.

**Cerebro.** En el exámen histopatológico a las 34 semanas de edad, sólo se evidenció edema, producto del proceso mismo de eutanasia. Sin embargo, al final del estudio, lo más significativo lo constituyó la presencia de degeneración neuronal, satelitosis, picnosis y proliferación de las células de la glía. Por otra parte, Riddell (1987) señala que se pueden encontrar lesiones degenerativas y proliferativas de carácter leve en aves adultas clínicamente sanas. Es importante señalar, que si bien es cierto se observaron trastornos a nivel cerebral, estos fueron de carácter leve, no apreciándose signología nerviosa en el transcurso de la experiencia. Se podría suponer que pequeñas cantidades de alcaloides

en la dieta de las aves son suficientes para originar trastornos degenerativos y necróticos de carácter leve en el Sistema Nervioso Central. A su vez, estas alteraciones no producirían signología clínica.

#### **Mortalidad y descarte**

A la luz de los resultados, se descarta el efecto tóxico de los alcaloides como responsable de mortalidad.

#### **CONCLUSION**

La semilla de lupino amargo, con 2,63% de alcaloides totales, incorporada hasta en un 10% de la ración de gallinas ponedoras durante su primera fase de postura, no origina efectos nocivos en la salud.

#### **LITERATURA CITADA**

- ALTMAN B. 1979. Avian clinical pathology, radiology, parasitic and infectious diseases. Proceedings of the American Anual Hospital Association (A.A.H.A). Citado por Coles, E., En : Veterinary Clinical Pathology, 4<sup>th</sup> Ed. 1986
- BELL D.J. 1960. Tissue components of the domestic fowl. 4: Plasma-alkaline-phosphate activity. Biochemical Journal 75: 224. Citado por Sturkie, En : Fisiología Aviar. 1968. 2<sup>a</sup> Ed., Acribia, España
- CUBILLOS A , GODOY J. , CACERES O. , ULLOA J. y DE VEER C. 1983. Estudio de calidad de huevos de ponedoras livianas blancas y alimentadas con semilla de altramuza (*L. albus*) var. Multulupa. En : IX Región Latinoamericana de Producción Animal, Santiago, Chile
- FERNANDEZ A, VERDE M.T., GASCON M., RAMOS J., GOMEZ J., LUCO D.F. and CHAVEZ G. 1994. Variations of clinical biochemical parameters of laying hens and broiler chickens fed aflatoxin containing fed. Avian Pathology 23 (1): 37-47

- GONZALEZ N. 1990. Intoxicación por lupino en ponedoras comerciales. En: IV Jornadas de Avances en Patología y Producción Avícola, Santiago, Chile. pp. 31-37
- JUBB K., KENNEDY P. and PALMER P. 1985. Pathology of Domestic Animals. Vol. 1, 2 y 3. 3ª ed., Academic Press, Inc. U.S.A.
- PORTALUPI D. 1993. Efecto pigmentante del *Lupinus luteus* en la piel de broilers y yema de huesos. Tesis. Facultad de Agronomía. Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile
- RIDDELL C. 1987. Avian Histopathology. 1ª Ed., American Association of Avian Pathologists. Canadá
- SHAVER. 1993. Shaver 288. Guía de Manejo para Producción de Huevos. Ontario, Canadá