

73



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**“EFECTO DEL PROCESO DE ENSILAJE SOBRE LAS  
UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS DE  
HONGOS EN EXCRETAS PORCINAS”**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA  
P R E S E N T A :  
EDUARDO SERRANO GARCIA**

**ASESORES:**

- M.V.Z., M.P.A. MARCO A. HERRADORA LOZANO**
- M.V.Z., M.P.A. LUIS CORONA GOCHI**
- M.V.Z., M.P.A. AURORA H. RAMIREZ PEREZ**
- M.V.Z., M.P.A. SERGIO C. ANGELES CAMPOS**
- BIOL. DAVID BONILLA LOPEZ**





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**“EFECTO DEL PROCESO DE ENSILAJE SOBRE LAS UNIDADES  
FORMADORAS DE COLONIAS DE HONGOS EN EXCRETAS PORCINAS”**

**Tesis presentada ante la División de Estudios Superiores de la Facultad de  
Medicina Veterinaria y Zootecnia**

**de la**

**Universidad Nacional Autónoma de México  
para la obtención del título de  
Médico Veterinario Zootecnista**

**por**

**EDUARDO SERRANO GARCÍA**

**Asesores:**

**M.V.Z., M.P.A. Marco A. Herradora lozano**

**M.V.Z., M.P.A. Luis Corona Gochi**

**M.V.Z., M.P.A. Aurora H. Ramírez Pérez**

**M.V.Z., M.P.A. Sergio C. Angeles Campos**

**Biol. David Bonilla López**

**México D.F. 2001**

## DEDICATORIA

A la memoria de mi abuela María Cruz Mendoza y mi tío abuelo Andrés Cruz Mendoza.

A mi padres Francisco Serrano Cruz y Juana García V. que me enseñaron a luchar por lo que uno quiere en la vida, ser tolerante y honesto con las personas que me rodean.

A mis hermanos: Fernando, Alejandro y Alma Delia, por su apoyo, sus consejos y soportarme durante esta alucinante experiencia.

A mis tíos: Graciela, Ubaldo, Sergio, Aurora, Pepe, Marcial, Rosa, Mario, Jesús por sus consejos y apoyo moral.

A la pequeña Diana por su gran sonrisa.

A todos mis asesores, en especial a la Dra. Hilda Ramírez P., Dra. Silvia E. Buntinx, Quim. Ma. Antonieta Aguirre, Dr. Francisco Castrejón P. y al Dr. Humberto Troncoso Altamirano, por su ayuda, consejos y comprensión

A Laura Tenorio A. por su sabiduría, ser una gran amiga y la bruja más buena y bonita del planeta.

**“Vivir amablemente con uno mismo y con los demás, sin recurrir a la infamia, a la cobardía y a la traición es ser valiente; ya que se requiere valor para aceptar un error propio, pero más para aprender de él y probar otra vez”**

## **AGRADECIMIENTOS**

**"A mis amigos y enemigos de toda la vida"**

**En especial a: Christian T., La Neurótica, Ana Pefia, Fer, Luígi Rekas, Fabiola, Alejandro Granada, Juan M. Santos, Barriguins, Renegro, Morris, Claudia P. Pillo, Totol, Maribeto, Cho-Cho, Andrés Ruíz, La Abuela, Zyla, Diana, Monnomu, Chack, Toño, Rulas, Reno, Mascarita, Abel, Chucho Pérez, Chucho Loza, Guadalupe Rendón, Jorge E. L. Nolasco, Yuri, Daniel Uribe, Fam. Domínguez Gutiérrez, Fam. Huería Jiménez, Fam. López Pérez, Fam. Granada Macías, Fam. Ruíz Alcántara, Departamento de Bioquímica y Nutrición Animal y a todo el personal del Laboratorio de Fitopatología de S.A.G.A.R.P.A.**

**"La paciencia es amarga, pero el fruto que produce es muy dulce"**

**"La gente es extraña, cuando eres extraño"**

**J.M.**

## CONTENIDO

	Página
Título.....	I
Dedicatoria.....	II
Agradecimientos.....	III
Contenido.....	IV
Lista de Cuadros.....	VI
Lista de Figuras.....	VII
Resumen.....	VIII
I. Introducción.....	1
<b>Revisión de Literatura</b>	
1.1. Contaminación ambiental causada por las excretas porcinas.....	2
1.2. Control de la contaminación generada por las excretas.....	5
1.2.1. Marco legal.....	5
1.2.2. Reciclaje de las excretas porcinas.....	5
1.2.2.1. Tratamientos físicos.....	7
1.2.2.2. Tratamientos químicos.....	7
1.2.2.3. Tratamientos biológicos.....	7
1.3. Ensilaje de excretas porcinas.....	9
1.4. Efectos del reciclaje de excretas sobre la salud pública.....	11
1.5. Hongos.....	11
1.5.1. Características de los hongos.....	12
1.5.2. Factores físicos que condicionan el crecimiento de los hongos.....	13
1.5.2.1. Humedad.....	13
1.5.2.2. Temperatura.....	13
1.5.2.3. pH.....	13
1.5.2.4. Oxígeno.....	14

1.5.2.5.	Otros organismos.....	14
1.5.3.	Reproducción.....	14
5.4.	Relación hongo-micotoxina.....	15
1.5.4.1.	Micotoxinas de importancia en los animales domésticos.....	15
1.5.4.1.1.	Micotoxinas que afectan al cerdo.....	15
	Justificación.....	18
	Hipótesis.....	18
	Objetivo general.....	20
	Objetivos específicos.....	20
II.	Material y métodos.....	21
2.1.	Fase de campo.....	21
2.2.	Fase de laboratorio.....	22
2.3.	Análisis estadístico.....	24
III.	Resultados.....	25
IV.	Discusión.....	28
V.	Conclusiones.....	34
VI.	Recomendaciones.....	35
VII.	Literatura citada.....	36
VIII.	Índice de cuadros.....	VI
IX.	Índice de figuras.....	VII
X.	Anexo.....	52

Cuadro 1. Análisis de varianza de parcelas divididas para el $\log^{10}$ de las UFC de hongos sometidos al efecto del ensilaje.....	40
Cuadro 2. $\log^{10}$ de las UFC de hongos (dilución $10^{-2}$ )/g en el ensilaje de sólidos de excretas porcinas.....	41
Cuadro 3. Coeficientes de correlación en controles sin ensilar con residuales sólidos de excretas porcinas.....	42
Cuadro 4. Coeficientes de correlación en microsilos con residuales sólidos de excretas porcinas.....	43
Cuadro 5. Comportamiento de pH, en los distintos tiempos de apertura, en los controles y microsilos elaborados con la fracción sólida de excretas porcinas.....	44
Cuadro 6. Porcentaje de materia seca en los distintos tiempos de apertura, en los controles y microsilos elaborados con la fracción sólida de excretas porcinas.....	45
Cuadro 7. Temperatura observada en los distintos tiempos de apertura, en los controles y microsilos elaborados con la fracción sólida de excretas porcinas.....	46

Índice de Figuras	Página
Figura 1. Comportamiento de las UFC $10^{-2}$ ( $\log^{10}$ ) de <i>Absidia spp.</i> en controles y microsilos a distintos tiempos de apertura.....	47
Figura 2. Comportamiento de las UFC $10^{-2}$ ( $\log^{10}$ ) de <i>Aspergillus spp.</i> en controles y microsilos a distintos tiempos de apertura.....	48
Figura 3. Comportamiento de las UFC $10^{-2}$ ( $\log^{10}$ ) de <i>Penicillium spp.</i> en controles y microsilos a distintos tiempos de apertura.....	49
Figura 4. Comportamiento de las UFC $10^{-2}$ ( $\log^{10}$ ) de <i>Rhizopus spp.</i> en controles y microsilos a distintos tiempos de apertura.....	50
Figura 5. Comportamiento de las UFC $10^{-2}$ ( $\log^{10}$ ) de colonias que no fructiferan en controles y microsilos a distintos tiempos de apertura.....	51

## RESUMEN

Serrano García Eduardo: "Efecto del proceso de ensilaje sobre las unidades formadoras de colonias de hongos en excretas porcinas", bajo la asesoría de M.V.Z. M.P.A. Herradora L.M.A., M.V.Z. M.P.A. Corona G.L., M.V.Z. M.P.A. Ramírez P.A.H., M.V.Z. M.P.A. Angeles C.S.C., Biol. Bonilla L.D.

El objetivo del presente estudio fue determinar e identificar la presencia de hongos, en ensilados elaborados con la fracción sólida de excretas porcinas (FSEP) a diferentes días de apertura. Se ensilo una mezcla en base húmeda (BH): 82 % de FSEP, 8 % de melaza y 10 % de grano de sorgo molido. En 50 frascos de plástico con tapa de cierre hermético, se envasaron 500 g de la mezcla en cada recipiente y se distribuyeron en un diseño experimental de parcelas divididas. La parcela grande correspondió al tratamiento (T1 = sin ensilar y T2 = ensilado), la parcela chica al tiempo de apertura (0,7,14,28 y 56 días), con 5 repeticiones por cada tiempo. En el laboratorio se realizaron cultivos micológicos en Agar Papa Dextrosa, a partir de 1 g de muestra y sus diluciones  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ , los cultivos se incubaron 72 h. a  $35^{\circ}$  C, y se revisaron cada 24 h, durante 5 días consecutivos. Los géneros de hongos que proliferaron fueron: *Absidia spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Rhizopus spp.* y colonias que no fructificaron. En la dilución  $10^{-2}$  se cuantificaron las Unidades Formadoras de Colonias (UFC/g de muestra) y se transformaron a  $\log^{10}$ . Estos resultados fueron sometidos al análisis de varianza para el diseño descrito anteriormente. El proceso de ensilaje disminuyó la cantidad de hongos ( $P < 0.05$ ) y el tiempo de apertura afectó al número de UFC ( $P < 0.05$ ), [día 0, T1 =  $4.2020^a \pm 0.1443$  Error Estándar de la Media (EEM) vs T2 =  $4.2500^a \pm 0.1024$  EEM; día 7, T1 =  $4.7140^a \pm 0.0664$  vs T2 =  $1.6340^b \pm 1.0187$  EEM; día 14, T1 =  $4.5720^a \pm 0.0344$  EEM vs T2 =  $0.6520^b \pm 0.3520$  EEM; día 28, T1 =  $4.5440^a \pm 0.0347$  EEM vs T2 =  $0.8800^b \pm 0.8800$  EEM; día 56, T1 =  $4.7660^a \pm 0.0720$  EEM vs T2 =  $0.0000^b \pm 0.0000$  EEM]. Las condiciones evaluadas en este estudio (pH, Materia Seca y Temperatura) de los ensilados tuvieron una correlación alta con  $\log^{10}$  UFC/g (dilución  $10^{-2}$ ), siendo el pH y la anaerobiosis las condiciones fundamentales para la inhibición de las UFC de los hongos. Se concluye que bajo las condiciones de este estudio, el ensilaje de la FSEP adicionada con sorgo y melaza, se provoca la disminución de las UFC/g de muestra, a partir del día 14 del proceso.

**Palabras clave:** Ensilado, fracción sólida de excretas de cerdo, hongos.

## I. INTRODUCCIÓN

La mayor cantidad de carne que se produce en el mundo es la de porcino; México se ubica en el lugar número 18 del ámbito mundial y, es el segundo productor latinoamericano. Durante el período de 1990 a 1997, la producción de carne porcina en el país mostró un crecimiento anual del 3.1 %. Para el año 2000 se estimó una producción de un millón de toneladas de carne, la cual representaba el 26 % del total de carne producida, permitiendo calcular la disponibilidad per cápita de carne de cerdo en aproximadamente 12 kg por año. Por lo tanto, la porcicultura debe considerarse como una actividad relevante en el sector pecuario nacional, ocupando después de la cría de bovinos y aves, el tercer lugar en importancia como sistema productor de carne nacional.<sup>1,2,3,4</sup>

Las granjas porcícolas se encuentran ampliamente distribuidas en el territorio nacional. En México, coexisten tres estratos de producción: el tecnificado, el semitecnificado y el de traspatio. En el primero de ellos se utilizan las tecnologías empleadas en las naciones más desarrolladas en porcicultura; de esta forma, muchas alcanzan un grado de integración vertical y horizontal total, disponiendo de plantas de alimentos balanceados, con sistemas automatizados de balanceo de raciones, e inclusive de plantas procesadoras de oleaginosas; sus medidas de bioseguridad son estrictas para el control de las principales enfermedades, cuentan con rastros, especialmente Tipo Inspección Federal (TIF), y se estima que la participación de este estrato en el mercado nacional es aproximadamente del 50 %.<sup>1,2,3,5</sup>

En el estrato semitecnificado se presentan diversos grados de tecnificación, generalmente su producción es reducida; en muchas ocasiones, el pie de cría es similar al del sistema tecnificado; sin embargo, las instalaciones y las medidas zoonosanitarias no son adecuadas; este sistema emplea alimentos balanceados comerciales, con lo que aumentan los costos de producción; la industrialización se realiza en rastros municipales o privados. Este sistema aporta el 20 % al mercado doméstico.<sup>1,2,5</sup>

El estrato conocido como de traspatio, rural o de autoabastecimiento se encuentra en todo el territorio nacional, y se considera una fuente de abasto de carne en zonas donde las canales comerciales formales no operan, la calidad genética de los animales es pobre aunque su rusticidad y adaptación al medio les permite producir carne con un mínimo de nutrientes; los cerdos se alimentan con subproductos y granos. Se estima que este sistema de producción contribuye con el 30 % de la producción nacional.<sup>1,2,5</sup>

La producción porcina, como cualquier otra industria pecuaria requiere insumos que proporciona la naturaleza, ubicándose como la principal actividad ganadera demandante de granos forrajeros, ocupando el tercer lugar en la demanda de pastas oleaginosas; cabe señalar que, en promedio México importa el 40 % de los granos de cereales y el 60 % de pastas de oleaginosas que consume; aunado a esto, el pie de cría es también de importación. El incremento en el precio de los insumos alimenticios observado en los últimos años y la carencia de programas de evaluación de la calidad nutricional de los mismos, ha provocado una disminución de la rentabilidad y una pérdida de la competitividad de la porcicultura mexicana. El costo y la calidad de las materias primas sobre los márgenes de ganancia económica ha originado que en los costos totales de producción, el concepto de alimentación represente entre el 70 y el 80 %.<sup>1,2,3,6,7</sup>

## Revolución de literatura

### 1.1. Contaminación ambiental causada por las excretas porcinas

Uno de los problemas importantes de la porcicultura es la generación de excretas. En general, se clasifica a un residuo de la producción animal como contaminante cuando hay conciencia social al respecto y cuando la legislación así lo indica, sin que haya necesariamente un criterio razonable de cultura o tecnología ecológica que respalde la opinión pública; la contaminación ambiental generada por los animales existe y es consecuencia de las prácticas intensivas de explotación. El impacto ambiental de los desechos porcinos incluye, además de los efectos directos sobre suelo, aire y los recursos hídricos, los factores de perturbación como

olores, plagas de insectos, así como efectos indirectos, sociales y políticos, que son imposibles de cuantificar. Actualmente, en el país existen leyes gubernamentales que exigen a los porcicultores implementar sistemas de tratamiento de sus desechos antes de eliminar estos de las granjas, para disminuir la contaminación del aire, agua (superficiales y subterráneas) y suelo. Las instituciones bancarias están actualmente exigiendo a los productores que cumplan con los estándares para la disminución de la contaminación para ser sujetos de créditos.<sup>2,3,5,6,8,9,10</sup>

Algunos estudios indican que un cerdo produce aproximadamente 6.17 kg de excretas al día, el 45 % corresponde a orina y el 55 % a heces, las cuales presentan 88 % de humedad y, cerca del 90 % de los sólidos se excretan a través de ellas y el 10 % restante en la orina, principalmente en forma de potasio disuelto, algo de amonio-nitrógeno y urea. Este último elemento representa su mayor riqueza y, en general, se encuentra en mayor cantidad en las deyecciones de aves (como ácido úrico), seguido por la de los cerdos y finalmente por la de los bovinos. La composición del estiércol del cerdo, depende principalmente de la ración que consumen los animales y puede contener una porción de alimento sin digerir, descamaciones y bacterias transformadas por la actividad metabólica que se lleva a cabo en el tracto digestivo. Así, el contenido de sólidos totales y de materia orgánica del estiércol depende del tipo de alimentación y particularmente de las condiciones ambientales, las cuales influyen en el consumo de agua por los animales.<sup>2,9,11,12</sup>

Las excretas porcinas son contaminantes potenciales a causa de sus elevadas concentraciones de microorganismos patógenos (bacterias, hongos, virus, helmintos y otros parásitos), materia orgánica, nitrógeno y minerales principalmente cobre, zinc, fósforo y potasio. Los procesos biológicos y fisicoquímicos que se observan en el acumulamiento de las heces, con respecto a estos elementos, dan lugar a la formación de compuestos químicos y gases nocivos, como el dióxido de carbono, amoniaco, metano y sulfuro de hidrógeno. Este último elemento, al entrar en contacto con el agua produce ácido sulfúrico e hidroclorados, que afectan el

desarrollo de la vegetación. De igual manera, la acumulación de nitrógeno en forma de nitratos o nitritos puede llegar a contaminar el agua, causando serios problemas de salud; además, la elevada cantidad de materia orgánica incrementa la demanda bioquímica de oxígeno lo cual afecta nuevamente a la salud humana y a la de los animales, deteriorando los recursos naturales; e incidiendo negativamente en la calidad de vida de la población humana.<sup>1,3</sup>

Entre los parámetros que más se utilizan para medir la capacidad contaminante de las excretas se encuentran: la presencia de sólidos suspendidos totales, la demanda bioquímica de oxígeno, la temperatura, el potencial de hidrógeno (pH) y otros. Por otra parte los problemas ambientales que acarrea la porcicultura en México están estrechamente ligados al modelo de crecimiento de esta industria, que ha polarizado la producción con características que limitan el manejo adecuado de las excretas, debido a los siguientes factores: desarrollo especializado sin vinculación a la agricultura; concentración de la pira en un número cada vez menor de grandes granjas, carencia de un programa de reubicación de dichas granjas que se encuentran próximas de ciertos núcleos urbanos cuyo crecimiento ha sido incontrolado; empleo de sistemas de alimentación con alto contenido de proteína, falta de atención al sector de traspatio, falta de disponibilidad de terrenos agrícolas para el uso de las excretas como fertilizantes y mejoradores de suelo; reducida recuperación o reciclaje de sustancias residuales como fertilizantes elaborados (deshidratados o peletizados) o para la generación de biogás, falta de atención a los problemas ambientales; falta de personal profesional capacitado en el manejo de los residuos. A este modelo de producción nocivo para el ambiente y la salud pública, se suman diversos aspectos derivados de la conducta humana: la resistencia a enfrentar el problema ambiental debido a que se considera que la solución sólo representa un costo y no un beneficio; el conocimiento superficial y falta de confianza en las tecnologías disponibles, ya que sus beneficios no son difundidos; el desconocimiento de los costos reales de los diferentes sistemas de tratamiento y reciclaje; un escaso conocimiento de la legislación ambiental, fiscal y

de las normas vigentes, así como las irregularidades administrativas relativas al uso y conservación del agua, la politización de los problemas ambientales.<sup>4,8,9,13</sup>

## **1.2. Control de la contaminación generada por las excretas**

### **1.2.1. Marco legal**

El marco legal de los aspectos ambientales esta constituido por cuatro leyes: la Ley General de Equilibrio Ecológico y de Protección al Ambiente; la Ley de Aguas Nacionales; la Ley General de Salud y, la Ley Federal de Derechos. En enero de 1997, se publicó una norma específica sobre descargas de aguas residuales, la cual es genérica y regula seis cuerpos receptores y cinco usos posibles del agua de estos cuerpos; establece además, límites máximos permisibles para el pH, la temperatura, los coliformes fecales, los huevecillos de helmintos, el contenido de cianuro y ocho metales pesados. La aplicación de la norma es gradual y las fechas de cumplimiento son los años 2000, 2005 y 2010, según la carga contaminante medida por la demanda bioquímica de oxígeno o sólidos suspendidos totales. Dicho documento presenta varias deficiencias: la principal es que otorga el derecho de contaminar a cambio de un pago; además, deja fuera de control el nitrógeno y el fósforo cuando las aguas residuales se usan para el riego agrícola, y establece un límite máximo permisible para coliformes fecales, lo cual es imposible de alcanzar con un tratamiento secundario. Los instrumentos económicos para la solución de los problemas ambientales relacionados con las descargas de aguas residuales son únicamente dos y están en el ámbito de la política tributaria como un incentivo fiscal, el cual consiste en deducir el 100 % del monto de las inversiones en equipo para prevenir y controlar la contaminación ambiental, además del pago de un derecho por la descarga de aguas residuales a aguas y terrenos de propiedad de la nación, consignado en la Ley Federal de Derechos.<sup>1,2,8,9,13</sup>

### **1.2.2. Reciclaje de las excretas porcinas**

La utilización de las excretas excedentes a las necesidades de fertilización de los suelos ha sido destinada a la elaboración de alimentos designados al consumo

animal, lo cual es una alternativa no contaminante y obedece principalmente a su elevado contenido de minerales y de nitrógeno. Además, por su gran disponibilidad han cobrado mayor relevancia en la engorda de rumiantes, ya sea como actividad secundaria a la cría de cerdos, o bien, como un producto exportado a las engordas intensivas de ganado. Los rumiantes tienen como ventaja el haber desarrollado un mecanismo natural para la fermentación del alimento, que incluye: la producción de ácidos grasos volátiles en anaerobiosis, temperatura, presión osmótica en el rumen, además, de las enzimas proteolíticas y el pH ácido abomasal que les permite probablemente la eliminación de las bacterias patógenas; por esta razón, estos animales pueden ser alimentados con excretas porcinas. Esto resulta en un beneficio para el ambiente, ya que las excretas de los animales que poseen cámara de fermentación, provocan una menor demanda química y bioquímica de oxígeno, además contienen cantidades menores de nitrógeno, fósforo y otros elementos minerales, por lo que contaminan en menor grado. Varios estudios económicos han demostrado que la utilización de excretas de animales en la alimentación de rumiantes tiene un valor económico de tres a diez veces superior respecto a su utilización como fertilizante.<sup>5,8,9,14</sup>

La utilización de las excretas porcinas depende en gran medida de la granja de la cual se obtengan. Así, se ha encontrado que el 80 % de las empresas porcinas en México limpian los corrales con el sistema tradicional de barrido y arrastre, lo que facilita la recuperación de los sólidos para la alimentación; en cambio, en instalaciones con pisos de rejilla, se tiene que recurrir a mecanismos de separación de la fracción sólida de los desechos. Para transformar el estiércol de cerdo en un ingrediente de las raciones, mejorando sus propiedades alimenticias y de manejo, se recomienda utilizar cualquiera de los siguientes tratamientos, que además reducen el impacto de las excretas en los cuerpos de agua y suelo; sin embargo, son poco conocidos.<sup>1,5,8,9</sup>

### 1.2.2.1. Tratamientos físicos

- Separación sólido-líquido. Para recuperar el alimento no digerido. Estos sistemas son usados en zonas donde el recurso agua es abundante; pero debe considerarse el costo adicional por concepto de tratamiento del líquido, si se va a reintegrar a un cuerpo receptor.<sup>5,6,9,15,17,18</sup>
- Deshidratación. Este procedimiento se emplea para lograr un producto seco que pueda ser almacenado. Durante el proceso las pérdidas de nitrógeno y su equivalencia en proteína son elevadas (35-40 %), por otra parte hay patógenos que sobreviven al tratamiento.<sup>5,6,9,15</sup>
- Secado artificial. Al igual que la deshidratación el producto obtenido es también fácil de manejar, pero el equipo y los costos de energía son altos. Este sistema es utilizado en zonas áridas y semiáridas.<sup>5,6,9,15</sup>

### 1.2.2.2. Tratamientos químicos

Incluyen el mezclado de un bactericida biodegradable para tratar las excretas en un periodo corto y el uso de solventes para extraer la proteína. Estos tratamientos se han utilizado cuando se necesita recircular el estiércol inmediatamente después de que es colectado. Los olores son controlados pero se requiere de equipo de mezclado adecuado y los productos químicos utilizados generalmente son costosos, y no siempre están disponibles en el mercado; además de que algunos por su naturaleza corrosiva resultan peligrosos para su manejo, por esta razón son poco utilizados en las granjas porcícolas.<sup>5,6,9,15</sup>

### 1.2.2.3. Tratamientos Biológicos

- Lagunas de oxidación. Este sistema generalmente se realiza en forma paralela a la separación sólido-líquido con la intención de reutilizar el agua en la limpieza de las instalaciones. Para su operación se requiere de grandes volúmenes de

dicho líquido y de una superficie extra de terreno para la laguna, sin embargo es necesaria la implementación de aireadores mecánicos y un monitoreo constante para determinar el grado de oxidación del material. Por otra parte, en el fondo de la laguna de oxidación se va acumulando una cantidad considerable de material (partículas finas), que la malla del equipo de separación sólido-líquido no retiene y progresivamente se genera una insuficiente oxigenación de la laguna, dando como consecuencia que ese material se recicle hacia las instalaciones de la granja apareciendo en los corrales. Los costos de operación de este sistema por concepto de consumo de combustible son elevados.<sup>5,6,9,15</sup>

- Tecnología de la producción del biogás. Esta alternativa aplicada al tratamiento de las excretas del ganado porcino brinda varios beneficios como son: la producción de biogás (metano), que puede ser empleado en la generación de energía eléctrica, mecánica y calórica; el control de la contaminación generada por estos residuos y disminución de ambientes enrarecidos, así como la producción de lodos digeridos con alto valor como alimento y/o como fertilizante. Si bien, la producción de biogás aún no forma parte de los tratamientos de aguas residuales en México (por su elevado costo), esta opción deberá ser contemplada a futuro a causa del encarecimiento interno de los productos energéticos y como medio para conseguir la sustentabilidad de la producción porcícola.<sup>5,6,9,15</sup>
- Ensilaje. Este tratamiento preserva los nutrientes, y el producto resultante puede ser utilizado por animales no rumiantes y en mayor grado por los rumiantes.<sup>5,6,9,15</sup>

Los diferentes tratamientos para el reciclaje de las excretas porcinas, se han puesto en marcha para buscar un método económico vigilando, por una parte el costo agregado por el proceso para no generar un producto incosteable y por otra, que la pérdida de nutrientes sea la menos posible o incluso se induzca un

aumento en su digestibilidad. Para utilizar cualquiera de estos métodos se debe considerar la compatibilidad con el clima predominante en la localidad, el tipo de instalaciones de la granja y el sistema de alimentación.<sup>6</sup>

El costo de un sistema de tratamiento representa un porcentaje reducido (entre el 2 y el 6 %), de los egresos anuales de la granja, la inversión inicial es elevada pero puede realizarse en forma gradual, se considera que los porcicultores pueden hacer frente a los costos ambientales.<sup>2,6</sup>

El ecosistema se ha mantenido por el reciclaje del estiércol generado y los recursos locales usados, los cuales permiten a los porcicultores del estrato semitecnificado, sobrevivir a las crisis; sin embargo, para garantizar la estrategia alimentaria con estiércol de cerdo fresco reciclado en la alimentación de rumiantes se requiere de un sistema de producción sostenible. El reciclaje de heces o sólidos recuperados de cerdos, es una buena opción de control de la contaminación ya que las excretas de los rumiantes tienen un menor valor contaminante al provocar una menor demanda química y biológica de oxígeno, o por su menor contenido de nitrógeno, fósforo y otros elementos minerales.<sup>5,6</sup>

### **1.3. Ensilaje de excretas porcinas**

El ensilaje ha resultado ser el método más promisorio cuando se pretende reciclar las excretas como alimento. Este proceso requiere una fuente de azúcares de fácil degradación para inducir el proceso fermentativo productor del ácido láctico; este método es económico, sencillo de realizar y ayuda a conservar de manera favorable las características nutritivas del estiércol. El ensilado es el resultado de los procesos de conservación y fermentación en condiciones anaeróbicas; es en este ambiente en el que los carbohidratos solubles son transformados en ácidos orgánicos por la acción de las bacterias ácido lácticas, lo que provoca una disminución del pH entre 3.5 a 4.5. La acidez preserva el ensilaje con un buen estado de palatabilidad para los animales, mientras se mantenga en un ambiente anaeróbico; además de que la proteína verdadera se ve incrementada conforme transcurre el proceso fermentativo, de tal forma que el producto es rico en ácido

láctico y otros ácidos orgánicos, lo que produce una disminución en el olor desagradable (característico de las heces) y en la población de patógenos.<sup>6,9,19</sup>

La fermentación inicia cuando se coloca el material a ensilar en recipientes cerrados y se compacta perfectamente, en estas condiciones se favorece la producción de calor y de dióxido de carbono, facilitando de esta manera las condiciones anaeróbicas esenciales para la proliferación de bacterias productoras de ácido láctico. Este ácido es el de mayor cuantía y el principal responsable de la estabilización y conservación del ensilado.<sup>6,9,19</sup>

Como fuente de hidratos de carbono (CHO'S) de fácil fermentación, se pueden emplear ingredientes de uso común en granjas porcinas, tal es el caso del sorgo molido que puede incluirse entre un 10 y 20 %, y la melaza de caña que puede utilizarse entre el 5 y 8 %. El resto del ensilado, está conformado por estiércol. Al adicionarse melaza de caña, disminuye el pH rápidamente, por contener carbohidratos solubles, los cuales son utilizados por las bacterias fermentadoras; el sorgo molido tiene una mejor respuesta en cuanto a proteína verdadera, al utilizar la mezcla de estos ingredientes se puede aprovechar los dos efectos. Una ventaja adicional es que al someter los residuales porcinos (fracción sólida) a este proceso, se libera a las aguas residuales de la granja de materia orgánica mejorando sustancialmente su calidad biológica.<sup>6,9</sup>

Los factores que pueden afectar la fermentación y calidad del ensilado de excretas porcinas son:

- Contenido de humedad, debe ser del 30-40 %, un mayor porcentaje puede acarrear una pérdida por escurrimiento de líquido, que contiene de 5 a 8 % de materia seca de alto valor nutritivo.<sup>19</sup>
- Rapidez de llenado del silo, lo que favorece la fermentación anaeróbica, beneficiando la calidad del ensilado.<sup>19</sup>

- Compactación, se debe llevar a cabo conjuntamente con el llenado adecuado, actividad que tiene como principal objetivo eliminar el aire, ya que las partes no compactadas del silo alcanzan temperaturas más altas que las porciones compactadas en forma eficiente esto produce como resultado un ensilado de menor valor nutritivo.<sup>19</sup>

#### 1.4. Efectos del reciclaje de excretas sobre la salud pública

Por varios años en nuestro país, el estiércol de aves fue utilizado satisfactoriamente en los programas de alimentación animal, sin problemas serios en la salud animal. Sin embargo, los siguientes agentes son considerados como riesgos potenciales al utilizar el estiércol como alimento: virus, toxinas, parásitos, hongos, arsenicales, antibióticos, hormonas, coccidios, metales pesados, elementos traza, antihelmínticos y nitrofuranos; mismo que deben ser evaluados antes de que el estiércol sea utilizado como alimento. Por consiguiente, es necesario realizar investigaciones adicionales sobre aquellos elementos o agentes considerados como patógenos para los animales en los que se recicla el estiércol y así poder determinar el nivel de seguridad sanitaria de este producto. Sobre la toxicidad del estiércol animal, se ha encontrado a través de pruebas bacteriológicas, que el estiércol de cerdo resultó tres veces menos tóxico que el de aves. Las bacterias asociadas a la cerdaza, de especial importancia por su patogenicidad son: *Salmonella spp.*, *Mycobacterium spp.*, *Brucella spp.*, *E. coli.*, *Leptospira spp.*, *Yersinia spp.* y *Campilobacter spp.*, estas bacterias no siempre se presentan en el estiércol si no que son prevalentes en los cerdos infectados.<sup>6</sup>

Algunas evidencias sugieren, que las bacterias patógenas desaparecen a lo largo del tracto digestivo de los rumiantes alimentados con estiércol fresco de cerdo contaminado con *Salmonella spp.*, *E. coli.*, y *Yersinia spp.*, también se asume que hay condiciones ruminales y abomasales que inducen su desaparición.<sup>6</sup> Sin embargo, esto no ha sido debidamente estudiado y respaldado con la investigación.

## **1.5. Hongos**

Constituyen un grupo extenso de organismos saprófitos que se encuentra en muchos nichos ecológicos. Son agentes que causan putrefacciones particularmente en ecosistemas forestales, donde son los principales agentes que descomponen la celulosa y la lignina. Son capaces de degradar muchos productos útiles al ser humano, como telas, artículos de piel, algunos combustibles (gasolina y lubricantes).<sup>20,21,22,23,24,25</sup>

Los hongos son importantes por el hecho de producir varias sustancias tóxicas (micotoxinas), sobre ciertos materiales de consumo humano y animal. Como los hongos se desarrollan en todos los ambientes, también lo hacen cuando se amontonan los residuos sólidos de las excretas porcinas.<sup>21</sup>

Sin embargo, se ha estudiado poco acerca de los géneros de hongos que se desarrollan en las heces amontonadas y la investigación relativa al efecto del proceso de ensilaje sobre los hongos es escasa.

### **1.5.1. Características de los hongos**

Los hongos son vegetales carentes de clorofila pertenecientes al tipo talofitas, ésta carencia de clorofila no es solo una característica que distingue a los hongos de otros vegetales, si no que también es un condicionante importante en su actividad biológica ya que al carecer de clorofila, provoca que no sean capaces de sintetizar materia orgánica utilizando la luz solar como fuente energética, por este motivo deben desarrollarse en un sustrato que contenga materia orgánica. Este factor condiciona los lugares de crecimiento. Cada producto alimenticio es un sistema ecológico especial en el que la interacción de factores químicos, físicos y biológicos tiene un papel fundamental en el deterioro del alimento, debido a un crecimiento y proliferación fungal. Las micosis y micotoxicosis en el animal son patologías causadas por el consumo de alimento contaminado. Así que estos vegetales forman un grupo importante de la microbiología alimentaria.<sup>20,21</sup>

Los hongos tienen una gran capacidad de infectar tejidos vegetales vivos, algunos tienen la capacidad genética de producir un metabolito secundario tóxico

denominados micotoxinas, con la consecuente posibilidad de producir micotoxicosis en los animales que consumen alimento contaminado.<sup>20,21</sup>

## **1.5.2. Factores físicos que condicionan el crecimiento de los hongos**

### **1.5.2.1. Humedad**

La cantidad de agua existente en el ambiente y en los sustratos es uno de los factores importantes para el desarrollo de los hongos y para la producción de micotoxinas; además de la cantidad de agua, también la forma de presentación de la misma influye. El agua se puede encontrar en forma libre o combinada, la forma libre existe dentro y alrededor de los tejidos vegetales o de las células y puede ser eliminada sin interferir seriamente con los procesos vitales, la combinada esta presente en tejidos animales y vegetales, formando parte integrante de las células que las componen y en unión con las proteínas y glúcidos. Para la germinación de las esporas de hongos es necesario que el agua se encuentre en su forma libre.<sup>20,21,22,24,25</sup>

### **1.5.2.2. Temperatura**

La temperatura óptima para el desarrollo de los hongos se encuentra entre 25 y 30° C y el límite máximo entre 40 y 45° C, la mayor parte de los hongos no crecen por abajo de 5° C, sin embargo, existen hongos como *Aspergillus flavus*, *A. candidus* y *A. fumigatus* que pueden crecer sin problemas hasta los 55° C, y otros como *Penicillium expansum* y *P. cyclopium* que pueden crecer a 0° C.<sup>20,21,22,23,24,25</sup>

### **1.5.2.3. pH**

Los hongos toleran un amplio intervalo de pH (2.5 a 7.5). En forma general soportan más el medio ácido que el alcalino, ellos mismos son capaces de alterar el pH utilizando como fuente los ácidos orgánicos del alimento o los excretados por bacterias acidificantes que pueden aparecer durante el período de deterioro del alimento. Los hongos no son exigentes desde el punto de vista nutricional, ellos se nutren de los macro y microelementos existentes en el sustrato donde se

desarrollan, sin embargo la composición del sustrato esta ligada a la producción de la micotoxina.<sup>20,21,22,22,24,25</sup>

#### **1.5.2.4. Oxígeno**

La mayor parte de los hongos son aeróbios y por lo tanto requieren oxígeno para el desarrollo de sus reacciones metabólicas, una carencia de oxígeno condiciona el crecimiento de los hongos y la ausencia total puede llegar a producir la muerte de éstos. El anhídrico carbónico permite inhibir la formación de algunas micotoxinas, como las aflatoxinas y una atmósfera con 20 a 40 % de CO<sub>2</sub> en combinación de una temperatura mínima (17° C) o bien una humedad relativa reducida o ambos factores previenen la formación de aflatoxinas.<sup>20,21,22,23,24,25</sup>

#### **1.5.2.5. Otros organismos**

La presencia de insectos actúa como agente de diseminación de la microflora y por lo tanto contribuye al crecimiento y multiplicación de los hongos, el propio metabolismo del insecto eleva el contenido de humedad del sustrato; por otra parte la ruptura del pericarpio ocasionada por la hidratación permite la infección del interior del grano.<sup>21</sup>

#### **1.5.3. Reproducción**

Estos organismos se reproducen principalmente por esporas que se pueden formar asexualmente (mediante la producción del micelio del hongo, por las células especializadas, o por el resultado de un proceso sexual); en los hongos inferiores, las esporas asexuales se forman en el interior de un saco denominado esporangio, algunas son flageladas y se les llama zooporas; otros hongos producen esporas asexuales denominadas conidios que se desprenden de las células terminales denominadas conidióforos. En algunos hongos, las células terminales o laterales se alargan, y estas células están rodeadas por una pared densa que se separa para formar clamidosporas. En otros grupos, los conidios se forman en el interior de la estructura de la pared gruesa, llamado picnidio. En la reproducción sexual de

algunos grupos intervienen un par de células (gametos) de tamaño y forma semejante, producen un cigoto (zigospora); y en otros, los gametos son de tamaño distinto, y al cigoto que forman se le llama oospora.<sup>20,21,23,24,25</sup>

#### **5.4. Relación hongo-micotoxina**

La presencia de hongos no implica la producción de micotoxinas, además de la capacidad genética del microorganismo es necesario que ciertas condiciones sean satisfechas para que haya producción de éstos metabolitos, los cuales se pueden detectar sin la presencia del hongo productor; ya que las formas vegetativas y germinativas de dicho hongo pueden ser inactivadas por los procesos químicos o por alteración de los factores ecológicos, no ocurriendo lo mismo con las micotoxinas las cuales permanecen en el sustrato.<sup>21,23,24</sup>

##### **1.5.4.1. Micotoxinas de importancia en los animales domésticos**

Las micotoxinas son compuestos policetónicos, resultantes de las reacciones de condensación que tiene lugar cuando se interrumpe la reducción de los grupos cetónicos en la biosíntesis de los ácidos grasos realizada por los hongos. Algunos factores que influyen en la toxicidad de las micotoxinas, son los siguientes: la especie, raza, edad y sexo; nutrición y salud de los animales, infecciones virales o parasitarias, condiciones inadecuadas en el hábitat (temperatura, humedad, ventilación, etc.), fármacos suministrados, nivel y duración de la contaminación con la micotoxina, presencia de varias micotoxinas, sinergismo entre ellas, tipo y variedades de materias primas.<sup>21,25</sup>

Las micotoxinas más significativas que afectan a los animales según su especie son presentadas a continuación.

##### **1.5.4.1.1. Micotoxinas que afectan al cerdo**

Las micotoxinas más significativas son las siguientes:

- **Aflatoxinas:** producidas esencialmente por *Aspergillus flavus*, y *A. parasiticus*, existen hasta el momento 18 tipos de ellas, de las cuales la más tóxica es la

aflatoxina M1, la cual es un derivado metabólico de la aflatoxina B1 (se encuentra normalmente en la leche y en la orina). Producen problemas hepatotóxicos, pudiendo provocar también problemas renales y cerebrales. Se pueden encontrar como contaminantes naturales en los cereales y sus subproductos así como en oleaginosas. Un incremento en la susceptibilidad a la salmonelosis y disentería porcina, se ha asociado con el consumo de alimento contaminado con aflatoxinas.<sup>21,23,24,25,26,27,28,29</sup>

- Ocratoxinas: son producidas esencialmente por *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium viridicatum* y *P. cyclopium*, existen 7 tipos de ocratoxinas, siendo la más tóxica la ocratoxina A. Se puede encontrar como contaminante natural en los cereales (esencialmente en la cebada y el arroz), harina de cacahuete y en algunos alimentos para humanos. El principal síndrome que producen es el nefrotóxico, pero también trastornos en el hígado, dando lugar a una acumulación de glucógeno en los tejidos hepático y muscular, estas micotoxinas son inmunosupresoras.<sup>21</sup>
- Citrinina: producida por *Penicillium citratum*, *P. viridicatum*, *P. citroviridae*, y *P. expansum*. Puede encontrarse como contaminante natural en cereales, ensilados y frutas. Son nefrotóxicas y además favorece el cáncer renal que puede ser producido por la existencia de otros potentes carcinogénicos.<sup>21</sup>
- Zearalenona: los hongos que la producen son: *Fusarium roseum*, *F. monilliforme* y *F. tricinctum*, existen 16 derivados de ésta micotoxina, siendo la más importante la zearalenona. Se puede encontrar como contaminante natural en cereales y los subproductos de ellos, heno y ensilados. El principal síndrome que está micotoxina produce es el estrogénico, afectando al sistema reproductor.<sup>21,26</sup>

- **Toxinas tricotricenas:** son producidas por *Fusarium tricinctum*, *F. nivale* y *F. roseum*, existen 40 derivados de tricotricenos, pero solo son cuatro los más importantes por el momento, toxina T2, diacetoxiscirpenol, nivalenol y vomitoxina o deoxinivalenol, y es esta última la que causa patologías en el cerdo. Pueden encontrarse como contaminantes naturales en los cereales (maíz y subproductos, cebada, sorgo, avena, trigo y subproductos, arroz, centeno y mijo), el principal síndrome que provocan es el gastroentérico, los sistemas afectados son: el digestivo, el nervioso, el circulatorio y el tegumentario. Es característico que la vomitoxina provoque emesis y rechazo del alimento.<sup>21</sup>
- **Fumonisinias:** son producidas por *Fusarium moniliforme*, existen 6 tipos de ellas, la B1, B2, B3, B4, A1 y A2, sin embargo las que suelen encontrarse con más frecuencia y las más importantes son: la B1 y B2, y se pueden encontrar como contaminantes naturales en el maíz y sus subproductos, los principales síndromes que producen son: neurotóxicos (leucoencefalomalacia); nefrotóxicos; edema pulmonar y cerebral; hepatotóxicos y lesiones cardíacas. Los órganos afectados son: cerebro, pulmones, hígado, riñón y corazón.<sup>21</sup>

Si las excretas van a ser utilizadas con la finalidad de disminuir los costos de alimentación, se recomiendan usar tratamientos físicos, químicos o biológicos antes mencionados para su reciclaje. El ensilaje es uno de los más recomendados, ya que disminuye el olor de las excretas, preserva la mayor parte de los nutrimentos y favorece la fermentación anaeróbica de los carbohidratos solubles, generando una disminución del pH, originada por el aumento de la cantidad de ácido láctico, el cual inhibe el crecimiento de agentes patógenos. Además el olor y sabor ácido del ensilado favorece la palatabilidad e ingestión al modificarse sus características sensoriales.<sup>3</sup> El ensilaje destruye la mayor cantidad de bacterias patógenas<sup>3</sup>, excepto las esporuladas del género *Clostridium spp.*<sup>30</sup>, destruye la mayor parte de virus y parásitos porcinos<sup>3,31</sup>, sin embargo, es escasa la

**investigación que se ha realizado acerca del efecto del ensilaje sobre los hongos presentes en los residuales porcinos.**

## **JUSTIFICACIÓN**

Debido a la enorme cantidad de excretas porcinas que se generan en los centros de producción y los problemas de contaminación que estas han causado al ambiente, por su acumulación excesiva sin ningún tratamiento previo; se han estudiado alternativas de utilización de excretas a través de su reciclaje en la alimentación animal, sin embargo, hacerlo en forma directa puede ocasionar reciclaje de agentes patógenos entre los cuales se encuentran los hongos. El ensilaje disminuye una gran cantidad de bacterias y otros organismos patógenos, sin embargo, son pocos los estudios que se han realizado acerca del efecto de este proceso sobre el crecimiento de los hongos. Por esta razón, con el presente trabajo se pretendió determinar, si al someter las excretas porcinas al proceso de ensilaje se lograba inhibir la presencia de hongos en la fracción sólida de excretas porcinas, con la finalidad de obtener un producto alimenticio de mejor calidad microbiológica que sea factible de ser utilizado en la alimentación animal, contribuyendo a su vez a la reducción del problema de contaminación ambiental.

## **HIPÓTESIS**

El proceso de ensilaje puede llegar a disminuir la cantidad y el crecimiento de hongos en residuales sólidos de excretas porcinas.

### **OBJETIVO GENERAL**

Determinar e identificar la presencia de hongos, en los ensilados elaborados con FSEP, adicionadas con melaza y sorgo, y cuantificar su variabilidad a los 0, 7, 14, 28 y 56 días de fermentación.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Identificar el género de hongos presentes en los ensilados de las FSEP a distintos tiempos de ensilaje
- Determinar la variabilidad de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC), a distintos tiempos de ensilaje en esos ensilados con FSEP.
- Comparar la cantidad de UFC de hongos presentes en los microsilos y las UFC de hongos que desarrollaron en recipientes control.

## II. MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó en dos etapas. La primera o fase de campo se llevó a cabo en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Porcina (C.E.I.E.P.P.), perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Nacional Autónoma de México (F.M.V.Z. U.N.A.M.), localizado en Jilotepec, Estado de México. Este Centro cuenta con un separador de sólidos tipo Cascada para la recuperación de los desechos de la granja. La segunda fase se realizó en el Laboratorio de Micología de la Dirección General de Sanidad Vegetal de la Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación (S.A.G.A.R.P.A.).

### 2.1. Fase de campo

Los ingredientes: grano de sorgo molido, melaza y la fracción sólida de excretas porcinas (FSEP), fueron proporcionados por el C.E.I.E.P.P. Con ellos se elaboró manualmente una mezcla con las siguientes proporciones: 82 % FSEP, 10 % de sorgo y 8 % de melaza.

Después de obtener una mezcla homogénea, se depositó y se llenaron 50 envases de plástico opaco blanco (13 cm de largo y 7 cm de diámetro) con tapa de rosca y tapón de hule en el centro de la tapa. Los cuales, bajo un diseño de parcelas divididas se dividieron en dos tratamientos, 25 microsilos y 25 sin ensilar, (estos últimos se utilizaron como control). Así, la parcela grande correspondió al tratamiento y la chica al tiempo de apertura (0, 7, 14, 28 y 56 días), con cinco repeticiones cada una.

#### • Elaboración de los microsilos

En los frascos de plástico se colocó en capas de 3 cm de espesor la mezcla elaborada y posteriormente se compactó con una botella de fondo plano hasta obtener aproximadamente 0.5 kg de material ensilado.<sup>3</sup> Después de llenar los recipientes, y con la finalidad de propiciar un ambiente anaerobio se sellaron herméticamente y se extrajo el aire residual de los envases con una jeringa de 60

ml y aguja del nº 23, la cual se introdujo por el tapón de hule localizado en el centro de las tapas.

- **Control**

Se llenaron también los envases correspondientes a este tratamiento pero a diferencia de los microsilos, no se compactó su contenido y se mantuvieron destapados, únicamente se cubrió la boca del frasco con cinta microporo para evitar la contaminación del producto con huevos y larvas de insectos. Al finalizar esta parte del trabajo, los frascos se lotificaron e identificaron completamente al azar de acuerdo al tratamiento y al tiempo de apertura (0, 7, 14, 28 y 56 días). El día 0 se destaparon los recipientes correspondientes y se registró la temperatura del contenido. Posteriormente se tomaron porciones de este material a cinco estratos diferentes, las cuales se depositaron en una bolsa de plástico estéril para formar una muestra compuesta por repetición. De ésta última se tomaron aproximadamente 100 g y se guardaron a una temperatura de 4° C en frascos de vidrio, estériles e identificados, para su posterior traslado al laboratorio. Los recipientes que se abrieron los días 7, 14, 28 y 56 fueron almacenados en un lugar cerrado y protegidos del medio ambiente, para su posterior apertura en el laboratorio.<sup>32</sup>

## **2.2. Fase de Laboratorio.**

En el laboratorio se valoró el pH, contenido de materia seca (MS) y temperatura en los dos tratamientos, de acuerdo a la metodología descrita por Tejada, citado por Ramírez.<sup>3</sup> El cultivo de las muestras obtenidas e identificación de los géneros de hongos se realizó de acuerdo a la metodología que se describe a continuación.

- **Cultivo de las muestras**

Bajo condiciones y con materiales y soluciones estériles, se realizó el cultivo micológico en un gabinete de bioseguridad<sup>a</sup>. En una balanza analítica y en

---

<sup>a</sup> Forma científica, 1102 s/n 141

navecilla para tal fin, se pesó 1 g de la muestra la cual se depositó en un tubo de cultivo (15 x 150 ml, con tapón de vaquelita), el cual contenía nueve partes de agua destilada (dilución  $10^{-1}$ ). Se tomó con pipeta bacteriológica un ml de esta primera dilución y se mezcló con nueve partes de agua destilada ( $10^{-2}$ ). A partir de  $10^{-2}$  se siguió el mismo procedimiento para obtener  $10^{-3}$ . De las diluciones obtenidas se tomó con una pipeta bacteriológica 1 ml de líquido para sembrarlo en cajas de Petri desechables de (8 cm de diámetro) a las cuales se adicionaron 10 ml de Agar Papa Dextrosa<sup>β</sup> (PDA) como medio de cultivo. Mediante suaves movimientos circulares se logró mezclar la muestra en dilución con el medio de cultivo, se dejaron a temperatura ambiente, para su posterior incubación por 72 horas en una estufa de cultivo<sup>α</sup> a 35° C. durante los siguientes 5 días, una vez que finalizó el período de incubación y cada 24 horas a partir de este plazo, se revisaron las cajas para asegurarse del desarrollo de los hongos. Cabe señalar que se utilizaron cajas de Petri como controles para descartar la contaminación de las muestras, dichas cajas se llenaron únicamente con PDA.<sup>32,33,34,35,36,37</sup>

#### ◦ Identificación de las muestras y cuantificación de las UFC

Una vez que se desarrollaron las colonias de hongos, las cajas de Petri fueron retiradas de la estufa de cultivo y mantenidas en refrigeración a 4° C. Posteriormente y mediante la utilización del microscopio estereoscópico se determinó el género de hongo desarrollado. Para confirmar lo anterior, se prepararon laminillas utilizando lactofenol azul de algodón como tinción y se observaron al microscopio compuesto.

La cuantificación de las UFC/g de muestra se hizo conforme a lo especificado en la Norma Oficial Mexicana NOM 111-SSA1-1994.<sup>38</sup> Con este fin se utilizó la microscopía estereoscópica, en las diluciones  $10^{-2}$  ya que en ellas el conteo de las UFC resultó más fácil.<sup>32,38</sup>

---

<sup>β</sup> Bioxon

<sup>α</sup> FANM LTDA, RETILINEA

### 2.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El conteo de la UFC se sometió a una transformación logarítmica y esta transformación fue analizada por un ANDEVA para el diseño anteriormente descrito, bajo el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + R_i + T_j + RT_{ij} + D_k + TD_{jk} + E_{ijk}$$

Donde:

$Y_{ijk}$  = variable de respuesta (Unidades Formadoras de Colonias de Hongos)

$\mu$  = media poblacional

$R_i$  = efecto de la i-ésima repetición,  $i = 1, \dots, 5$

$T_j$  = efecto del j-ésimo tratamiento,  $j = 1, 2$

$RT_{ij}$  = error A, para probar R y T

$D_k$  = efecto de días en ensilado y no ensilado,  $k = 1, \dots, 5$

$TD_{jk}$  = efecto de la interacción, tratamiento por días de ensilado

$E_{ijk}$  = error experimental

El análisis de las diferencias entre días de apertura (0, 7, 14, 28 y 56) se realizó a través de contrastes polinomiales ortogonales.<sup>39,40</sup>

Para temperatura, materia seca, pH y  $\log^{10}$  de las UFC de hongos, se realizó un análisis de correlación.<sup>39,40</sup>

Se utilizó el paquete estadístico de SAS para los análisis antes citados (PROC GLM Y PROC CORR).

### III. RESULTADOS

El Análisis de Varianza para los logaritmos de las UFC de hongos ( $10^2/g$ ), en los materiales estudiados, mostró diferencias estadísticamente significativas atribuibles al tratamiento ( $P = 0.0001$ ), al día de apertura ( $P = 0.0001$ ) y a una interacción entre el tratamiento y el día de apertura ( $P = 0.0006$ ). (Cuadro 1)

Se observó disminución ( $P < 0.05$ ) del  $\log^{10}$  de las UFC de hongos ( $10^2/g$ ) en los ensilados [ $1.483 \pm 0.2966$  Error Estándar de la Media (EEM)] respecto a los controles ( $4.58 \pm 0.316$  EEM). En el cuadro 2 se presentan las medias del  $\log^{10}$  UFC de hongos (dilución  $10^2/g$  de muestra) y la diferencia entre ellos. Se observó que las UFC de hongos en los microsilos del día 7 en adelante, fueron menores ( $P < 0.05$ ), a las encontradas en los diferentes días de apertura de los controles y en los ensilados al día 0.

Los resultados, del análisis de correlación de los  $\log^{10}$  de las UFC de hongos en cada uno de los tratamientos por separado se muestran en los cuadros 3 y 4.

El crecimiento de colonias fungales registradas en el grupo control, se correlacionó positivamente entre el pH y la MS, ( $P = 0.04$ ;  $r = 0.4109$ ). Mientras que en los microsilos, existieron las siguientes correlaciones positivas:  $\log^{10}$  UFC y MS ( $P = 0.0003$ ;  $r = 0.6660$ ),  $\log^{10}$  UFC con pH ( $P = 0.0002$ ;  $r = 0.6746$ ), MS y pH ( $P = 0.0001$ ;  $r = 0.7187$ ).

Los distintos géneros de hongos encontrados (*Absidia spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Rhizopus spp.* y No fructíferas), se comportaron de forma distinta conforme se fueron destapando a distintos tiempos los microsilos y los controles.

El comportamiento de *Absidia spp.*, fue el siguiente: al día 0, se encontró un crecimiento muy semejante de los  $\log^{10}$  UFC/g de muestra tanto en los controles como en los microsilos ( $2.89 \pm 0.54$ ,  $2.96 \pm 0.65$  respectivamente), sin embargo, en los controles al día 7 de apertura el crecimiento disminuyó, manteniéndose en 0  $\log^{10}$  UFC/g, hasta el día 14. Al día 28 se observó en este mismo tratamiento un incremento de *Absidia spp.* ( $2.17 \pm 1.96$ ) y al día 56 el hongo ya no se desarrolló. En los ensilados después del día 0 se observó una disminución en *Absidia spp.* en el día 7 se cuantificaron  $1.92 \pm 1.77 \log^{10}$  UFC/g de muestra, esta cantidad

disminuyó al día 14 a  $0.6 \pm 1.34$  y se mantuvo por abajo de  $0.8 \pm 1.10 \log^{10}$  UFC/g de muestra, hasta el día 56. (Figura 1)

*Aspergillus spp.* en los controles, inicialmente se desarrolló en  $1.24 \pm 1.74 \log^{10}$  UFC/g de muestra, cifra semejante a la de los ensilados, posteriormente se incrementó el valor a  $2.84 \pm 1.60 \log^{10}$  UFC/g de muestra, al día 7, esta cantidad se mantuvo casi constante hasta el día 28 ( $3.66 \pm 0.14 \log^{10}$  UFC/g), y disminuyó nuevamente al día 56 ( $2.32 \pm 2.19 \log^{10}$  UFC/g). En el ensilado sucedió lo contrario, se cuantificaron el día 0,  $1.75 \pm 1.61 \log^{10}$  UFC/g de muestra, se inhibieron en su totalidad al día 14 de apertura, y este resultado se mantuvo en 0 hasta el día 56. (Figura 2).

*Penicillium spp.* fue otro de los hongos identificados y cuantificado en los controles y en los microsilos. En los controles se cuantificó inicialmente  $1.76 \pm 1.62 \log^{10}$  UFC/g, manteniendo una irregularidad en su crecimiento, en el día 56 presentó  $3.07 \pm 1.75 \log^{10}$  UFC/g. En los microsilos se cuantificaron  $1.42 \pm 1.38 \log^{10}$  UFC/g al día 0, este desarrollo se incremento ligeramente al día 14 ( $1.63 \pm 1.51 \log^{10}$  UFC/g), posteriormente disminuyó a 0 al día 28; al día 56 se presentó de nuevo crecimiento de *Penicillium spp.* ( $0.4 \pm 0.89 \log^{10}$  UFC/g). Cabe señalar que también en las cajas utilizadas como blanco, se presentó crecimiento de este género los días 28 y 56. (Figura 3)

*Rhizopus spp.* mostró un patrón irregular de crecimiento, en el control, inicialmente se cuantificaron  $1.02 \pm 1.39 \log^{10}$  UFC/g al día 0, el día 7 no desarrollaron, en el día 14 mostraron un crecimiento equivalente a  $2.63 \pm 1.43 \log^{10}$  UFC/g y, al día 28 no se desarrollaron; finalmente, al día 56 se presentaron  $1.46 \pm 2.00 \log^{10}$  UFC/g. En los ensilados el crecimiento fue diferente se presentaron  $0.62 \pm 1.38 \log^{10}$  UFC/g al día 0, posteriormente se inhibieron en su totalidad a partir del día 7 hasta el 56. (Figura 4)

Las colonias fungales, clasificadas como no fructíferas, en los controles y en los ensilados, se presentaron de manera diferente. En los controles al día 0 se cuantificaron  $2.79 \pm 0.80 \log^{10}$  UFC/g, disminuyeron al día 7 ( $1.02 \pm 1.45 \log^{10}$  UFC/g), y 14 ( $0.54 \pm 1.21 \log^{10}$  UFC/g), y se inhibieron en su totalidad a partir del

día 28 manteniendo está tendencia hasta el día 56. En los microsilos al día 0 se cuantificaron  $2.37 \pm 1.37 \log^{10}$  UFC/g, disminuyeron a  $1.02 \pm 1.45 \log^{10}$  UFC/g el día 7 y se mantuvieron alrededor de  $0.4 \pm 0.89 \log^{10}$  UFC/g, hasta el día 56, (Figura 5).

#### IV. DISCUSIÓN

Después de haber destapado los ensilados, se encontró que con el proceso de ensilaje, los residuales sólidos de excretas porcinas presentaron una adecuada fermentación anaeróbica a partir del día 14 de ensilaje; lo cual se puede afirmar por las características organolépticas encontradas en los ensilados que fueron similares a las indicadas por Hernández<sup>41</sup> en cuanto al aumento de olor ácido, disminución al olor a excretas, coloración café rojiza y principalmente por disminución en los valores de pH (<4.01) obtenidos en los diferentes tratamientos. En los controles no se dieron las condiciones óptimas para la fermentación por falta de compactación y anaerobiosis, y por ende, no hubo una disminución del pH y este fue mayor a 4.52.

En el presente estudio, con el proceso de ensilaje se provocó una reducción del pH hacia el día 7, lo que coincide con los resultados de otros autores en periodos mayores (Hernández<sup>41</sup>, Cabrera<sup>42</sup>, Toledo<sup>14</sup>; y es similar al resultado obtenido por Martínez<sup>3</sup>), quien señala una disminución en el pH en ensilados iguales a los de la presente investigación, a partir de las 72 horas de ensilaje, alcanzando una adecuada fermentación láctica con dicho procedimiento.

Caballero<sup>31</sup>, utilizando una mezcla similar a la empleada en este estudio, observó una disminución del pH menor a 4.37 a los 7 días de ensilado, lo cuál coincide con el valor obtenido al mismo tiempo de apertura, en la presente investigación (Cuadro 5).

Hernández<sup>41</sup> y Cabrera<sup>42</sup>, observaron que al ensilar excretas de cerdo en recipientes de 2.5 kg, se producía olor ácido y color café en los microsilos. Las mismas características físicas se desarrollaron en los microsilos utilizados en este estudio. Sin embargo, aquellos autores no observaron macroscopicamente crecimiento fungal en la superficie o en otra parte de los mismos. Por su parte Hernández<sup>41</sup> que utilizó cajas de petri estériles para realizar cultivos bacterianos, detectó la presencia de hongos, que contaminaron algunas de las cajas, determinando que estos organismos están presentes de forma microscópica pero inhibidos momentáneamente, lo que coincide con esta investigación, en donde, los

hongos no se observaron a simple vista sobre la superficie o en los estratos medios de los microsilos; sin embargo, estuvieron presentes en forma asexual (esporas), ya que al proporcionar las condiciones adecuadas para su crecimiento, estos se desarrollaron en las cantidades indicadas en el cuadro 2.

A partir del séptimo día de ensilaje, el pH empezó a disminuir, debido a la acidez generada por la fermentación anaeróbica. La acidez y la anaerobiosis fueron condiciones desfavorables para el crecimiento de los distintos géneros de hongos, ya que la mayoría de estos microorganismos son aeróbios y no soportan pH ácido.<sup>24,25</sup>

Berger *et al.*<sup>43</sup> ensilaron la fracción sólida de residuales porcinos en distintas proporciones, (30 a 80 % de excretas de cerdo), obtuvieron los mejores resultados con una mezcla del 60 % de excretas de cerdo con granos de maíz o algún forraje (40 %), en un período de 42 días. Encontraron sin embargo, que cuando trabajaron con una mezcla con 70 % de excreta completa y 30 % de maíz en grano o forraje en BH, en el mismo período, se dificultó el manejo del producto por métodos convencionales y no disminuyó el olor de las excretas.

Lo anterior no coincide con lo observado en esta investigación, en donde la mezcla utilizada fue de 80 % de sólidos de excretas y no se tuvo ninguna dificultad para ensilar, obteniendo una buena fermentación a partir del día 7 de ensilado, lo cual pudo ser el resultado de la adición de melaza en la mezcla (8 %), ya que este ingrediente aporta carbohidratos solubles, los cuales son escasos en los residuales de las excretas porcinas y son rápidamente utilizados por los microorganismos para la producción de ácido láctico.<sup>46,47</sup> Otra razón puede ser que en esta investigación se utilizó la FSEP y el hecho de incluir un porcentaje elevado (80 %) de estos residuos sólidos en lugar de excretas frescas, destaca la importancia de llevar a cabo la separación de este material, ya que el ensilado obtenido, carece de las características indeseables encontradas por Berger *et al.*<sup>43</sup>.

Corman *et al.*<sup>44</sup> y Berger *et al.*<sup>43</sup> indicaron que al someter una mezcla de excretas de bovino con forraje, el proceso de ensilaje inhibió el crecimiento de algunos patógenos, entre ellos coliformes fecales como: *Salmonella spp.*, *Shigalla spp.* y

*Proteus spp.* a los 10 días de haber ensilado. Harmon *et al.*<sup>45</sup> demostraron que el ensilado de excretas porcinas con algún forraje o grano, controla y disminuye el crecimiento de agentes patógenos. Por su parte Martínez<sup>3</sup> demostró también que al ensilar la fracción sólida de excretas porcinas, se destruyeron otros agentes patógenos como virus y bacterias, a consecuencia de la disminución del pH en el ensilado, ya que la mayoría de las bacterias y virus no proliferan con un pH menor a 4.

La disminución del pH es una situación provocada por una compactación adecuada, con la cual, se induce a una fermentación anaeróbica dentro del silo. En la fermentación se lleva a cabo una serie de cambios químicos producidos en los compuestos orgánicos, por la acción de los microorganismos. Dentro de los productos que se forman destacan los ácidos láctico, acético y butírico, el primero es el más importante, el cual debe predominar para obtener la estabilización del ensilado. Al prevalecer este en el ensilado el ácido butírico comienza a disminuir por efecto de la elevación de ácido láctico, produciéndose la disminución del pH a menos de 4.8, el cual no soportan los organismos productores de ácido butírico, (*Clostridium spp.*). En conjunto estos ácidos se conocen como ácidos grasos volátiles del ensilado; el nitrógeno amoniacal está presente en una mínima proporción.<sup>46,47,48</sup>

El pH ácido (< 4.01) del ensilaje tuvo una correlación positiva con las UFC/g  $\log^{10}$ . Esto debe ser interpretado adecuadamente, y lo que indica es que en los microsilos cuando aumentó el pH, se incrementó también la cantidad de hongos, lo contrario sucede, cuando desciende el pH en los microsilos disminuye el crecimiento fungal. El contenido de materia seca presente en los microsilos fue de 41.33 %, esto coincide con lo reportado por Caballero<sup>31</sup>, Hernández<sup>41</sup> y Cabrera<sup>42</sup>, en ensilados similares a los de la presente investigación. Además el contenido de materia seca estuvo dentro de lo recomendado por McCaskey<sup>49</sup> e Ifígez<sup>30</sup> en ensilado de maíz, de excretas y forrajes los cuales indican que con una humedad del 60 %, el ensilado alcanza una buena fermentación. (Cuadro 6)

Esos mismos autores indicaron que niveles superiores a 60 % de materia seca, provocaron que se dificultara la compactación, lo que represento una deficiente anaerobiosis, presentándose una mayor pérdida de nutrimentos en los ensilados. Algo similar sucedió cuando se utilizaron ingredientes con menor cantidad de materia seca (28 %), ya que limitaron una adecuada fermentación por un aumento de temperatura (50° C), lo cual también provoca una pérdida de nutrimentos Hernández<sup>41</sup>.

Inicialmente, se encontró 46 % de MS en la mezcla ensilada al día 0, esta disminuyó hasta 39.52 % el día 56; lo anterior coincidió con lo reportado por Cadena<sup>50</sup>, quien refirió que la disminución de MS es causada por efecto de la compactación, lo cual causó desplazamientos de nutrientes hacia el fondo de los microsilos.

Otra pérdida de nutrimentos es la que se desprende en forma de gases (principalmente CO<sub>2</sub>), durante las primeras fases de fermentación. La acción de las bacterias heterolácticas sobre los carbohidratos solubles producen, además de ácido láctico, ácido acético, manitol, etano y dióxido de carbono, este último es el compuesto que representa la mayor pérdida.

La temperatura en los microsilos (19.52 a 24.42° C) no se correlacionó positivamente con las UFC/g de los hongos, ya que no se encontró dentro de los intervalos (35 a 37° C) señalados por McCastey<sup>48</sup> e Iñiguez<sup>30</sup>, favorables al desarrollo de los microorganismos. Es probable que se modificó por la temperatura ambiente del lugar en donde se almacenaron los microsilos y los controles, en donde prevaleció una temperatura promedio de 20° C. A su vez, la temperatura dentro del intervalo encontrado no fue un factor determinante para la inhibición de los hongos ya que algunos géneros soportan temperaturas de refrigeración.<sup>24,25</sup> (Cuadro 7)

De acuerdo con lo mencionado anteriormente se concluyó que el pH y la anaerobiosis tuvieron un papel fundamental en la inhibición del desarrollo de los hongos en el ensilado; no así la materia seca y la temperatura que estuvieron en

intervalos con valores dentro de los cuales estos factores no fueron determinantes sobre el crecimiento de los hongos.

- ***Absidia spp.* y *Rhizopus spp.***

Estos Zygomycetos (ver anexo), son cosmopolitas y se aíslan con frecuencia del suelo, materia orgánica en descomposición y en el ambiente, en el caso del género *Rhizopus spp.* junto con el género *Mucor spp.* (no encontrado en este estudio) ocupan el cuarto lugar como contaminantes del aire. En esta investigación se encontraron tanto el género *Rhizopus spp.* como *Absidia spp.* al día cero, lo cual se explica por lo antes expuesto.<sup>51</sup> Sin embargo en los microsilos se observó que estos hongos disminuyeron su presencia, incluso llegó a desaparecer el género *Rhizopus spp.*, esto puede ser debido a las condiciones de anaerobiosis del ensilado, aunque en la literatura revisada no se encontraron datos al respecto. Las condiciones de acidosis presentes en el ensilado no se señalan como causantes de la desaparición de estos hongos, ya que estos hongos presentan su máxima actividad en pH ácidos incluso el *Rhizopus spp.* presenta un sistema acetona-reductasa, con máxima actividad en pH ácido<sup>24,51</sup>, similar al que se encontró en la presente investigación.

En cuanto a los controles se observó en ambos géneros un crecimiento irregular, en ese caso las condiciones fueron de aerobiosis, sin embargo, el pH después del día 14 de almacenaje se elevó.

- ***Aspergillus spp.***

En este estudio se observó la presencia de este hongo (el cual es el de mayor riesgo para la salud humana y animal), al día cero de apertura; ya que este género es cosmopolita, se aísla con frecuencia del aire, tierra, plantas, materia orgánica en descomposición y como contaminantes de alimentos sobre todo los ricos en carbohidratos y fibras; y son considerados entre los principales contaminantes del aire.<sup>51</sup>

En cuanto al control, el hongo no se vio afectado, sin embargo, en el ensilado desapareció este organismo, lo cual se explica por que este género es

estrictamente aeróbio<sup>23</sup> la cual es una característica presente en un correcto proceso de ensilaje.

- ***Penicillium spp.***

Este género es cosmopolita se aísla con frecuencia del aire, materia orgánica en descomposición, plantas y alimentos, es considerado como un contaminante del ambiente, es utilizado en la industria alimenticia para la fermentación y en la industria farmacéutica como productor de antibióticos. En esta investigación se encontró este género en el día cero de apertura tanto en los microsilos como en los controles, mostrando un crecimiento irregular. La acidez posterior en los microsilos no fue un factor determinante sobre el crecimiento, ya que este género es ácido tolerante (pH 2.0) y soporta temperaturas de refrigeración<sup>24,51</sup>.

- **Colonias que no fructifiraron.**

Este tipo de colonias que no fructifiraron se encontraron tanto en el control como en los microsilos, mostrando un crecimiento irregular, en los controles se inhibió su crecimiento al día 28, y no aparecieron nuevamente. En los microsilos estuvieron presentes hasta el último día de apertura (día 56), no obstante disminuyeron paulatinamente. El comportamiento de desaparición del hongo en una fecha de estudio y su aparición nuevamente en una fecha posterior (Figura 5), probablemente se debió a una falla en la forma de tomar la muestra, la cual aún cuando se obtuvo inmediatamente después de hacer la agitación de los tubos, puede ser que en algunas ocasiones no se mezclara perfectamente o no se incluyera el hongo a pesar que estaba presente en el medio, por esta razón en las fechas posteriores, al realizar el muestreo este volvió a crecer.<sup>◊</sup>

Cabe destacar que los géneros encontrados, son contaminantes del ambiente, por lo cual se debe tener una caja control (blanco), para descartar este tipo de hongos en los cultivos y reportarlos como contaminantes.<sup>51</sup>

---

◊ Comunicación personal del Biólogo David Bonilla López, S.A.G.A.R.P.A.

## V. CONCLUSIONES

Los géneros de hongos que se desarrollaron en los ensilados hechos a base de FSEP, fueron: *Absidia spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Rhizopus spp.* y Colonias que no Fructireraron, de los cuales algunas especies de *Aspergillus spp.*, son de importancia en la salud pública. Sin embargo, se encontró que bajo las condiciones en las que se realizó este estudio el ensilaje contribuye a la disminución de las UFC de hongos en el producto final.

Los distintos géneros de hongos presentes en los microsilos elaborados con la FSEP, disminuyen a partir del día 14 de fermentación, esto es debido a los cambios químicos que se producen durante el proceso de ensilaje los cuales son el resultado del medio anaerobio que se genera en el microsilo

## **VI. RECOMENDACIONES**

En la elaboración del ensilado que incluye la fracción sólida de excretas porcinas, es importante realizar:

- La presencia de una humedad adecuada en el material (fracción sólida de excretas porcinas)
- Asegurar la adición de una buena fuente de carbohidratos solubles; para obtener un ensilado de buena calidad y libre de patógenos.
- Lograr una compactación adecuada

El ensilado realizado con la FSEP se puede utilizar en la alimentación animal a partir del día 14, sin ningún efecto sobre la salud, ya que hay inhibición en el crecimiento fungal. Sin embargo, se debe considerar la posible contaminación del ensilado al ser abierto.

El presente trabajo se concreto a evaluar el efecto del ensilaje sobre las UFC, pero no se evaluó el impacto sobre las micotoxinas, por lo que investigaciones posteriores deberán abocarse a este respecto

## VI. LITERATURA CITADA

1. Gómez RS. Líder nacional del programa CENID, Fisiología y mejoramiento animal. 1999, Inifap-Conacyt: [www.inifap.conacyt.mx](http://www.inifap.conacyt.mx).
2. Pérez ER. Porcicultura intensiva en México. 1999 Oct-Dec. [www.fao.org.docrep/x17t/x1700t03.htm](http://www.fao.org/docrep/x17t/x1700t03.htm).
3. Martínez GR. Evaluación microbiológica en ensilados a base de excretas porcinas (tesis de maestría). México D.F. U.N.A.M. 1999.
4. SAGAR. Situación actual y perspectiva de la producción de carne de porcino en México (D.F.): SAGAR.1999.
5. Gutiérrez VE, Preston TR. ¿El reciclaje del estiércol fresco de cerdo en la alimentación en la alimentación productiva sostenible? *Livestock. Research for Rural Development*.1995;6:23-32
6. Salazar GG, Cuarón IJ. Usos de los desechos de origen animal en México.2000 Nov. Cap. 8, Available from: [www.fao.org./ag/Aga/AGAP/FRG/APH134/cap8.htm](http://www.fao.org/ag/Aga/AGAP/FRG/APH134/cap8.htm)
7. Verdín SH, Hernández AA, Orozco HJ. Deyecciones animales ¿Las deyecciones animales un problema sin solución? 1999 Cualtos-UDG; [www.cualtos.udg.mx](http://www.cualtos.udg.mx).
8. Análisis de la contaminación ambiental generada por los animales. Mesa 18. Memorias de la 4ª reunión anual Consejo Técnico consultivo Nacional de Sanidad Animal. 1995 octubre, México (D.F.) Comisión Nacional de Sanidad Animal. 1995: 409-419.
9. INIFAP. Salazar GG. Uso y manejo de excretas de cerdo en la alimentación animal México D.F. INIFAP, 1996.
10. Directrices sobre el uso de aguas residuales en agricultura y acuicultura. Informe de un grupo científico de la OMS. 1989 [www.oms.com](http://www.oms.com).
11. AGRORED. Tratamiento anaeróbico de estiércol porcino. 2000 Nov. [www.agrored.com.mx/agrocultura/61-puercos.htm](http://www.agrored.com.mx/agrocultura/61-puercos.htm).
12. Domínguez LE. Un problema controlable a mediano plazo. *Acont. Porcino*. 1993; 1:1-12.

13. Domínguez LE. Contaminación generada por animales. Memorias de la 3ª reunión anual Consejo Técnico consultivo Nacional de Sanidad Animal. 1995 octubre, México (D.F.) Comisión Nacional de Sanidad Animal. 1994: 73-76.
14. Toledo BA. Caracterización nutricional de ensilado de excretas porcinas (fracción sólida) con bagazo de caña y melaza. (tesis de licenciatura). México D.F. U.N.A.M. 1997.
15. Alvarado RA. Comportamiento productivo de cerdos en finalización al adicionar ensilado de excretas porcinas en su dieta (tesis de licenciatura). México D.F. U.N.A.M. 1999.
16. Chara OJD. El potencial de las excretas porcinas para usos múltiples y los sistemas de descontaminación productiva. Centro de Investigación de Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria. 1999. Oct-Dec. [www.cipav.org.com/cipavconf/espejo.htm](http://www.cipav.org.com/cipavconf/espejo.htm).
17. Venezuela Porcina. Artículos Libres. 1998: [www.eldish.net/venezuelaporcina/htm](http://www.eldish.net/venezuelaporcina/htm).
18. Iñiguez G. Aprovechamiento del estiércol de cerdo mediante la fermentación. Acont. Porcino. 1996; 1:14-20.
19. Cofre BP. Jahn BE. El ensilaje de maíz Venezuela Bovina. 1995 Artículos Libres. [www.ppa.com/cofre/ban/boll.htm](http://www.ppa.com/cofre/ban/boll.htm).
20. Carcamo RA. Taxonomía y características de hongos fitopatógenos Memorias del primer curso de Enfermedades en Frutales; 2000, agosto 7-11 México D.F. Centro Nacional de Referencia y Diagnostico Fitosanitario, S.A.G.A.R.P.A. 2000: 1-8.
21. Gimeno A. Problema de los hongo y de las micotoxinas en la alimentación animal. 1999 Special Nutriens, Inc [www.mycotoxin.com/mycotoxin/Albertog/gimeno.htm](http://www.mycotoxin.com/mycotoxin/Albertog/gimeno.htm)
22. Bridge CW. The ecology of fungi. CRC Press. USA. 1979.
23. Deacon JW. Introduction to modern mycology. 2ª ed. U.K. Language Book Society/Blickwell Scientific Publications, 1994.

24. Webster J. Introduction of fungi 2ª ed. New York, USA: Cambridge University Press, 1986.
25. Ainsworth GC. Sparrow FK. Sussman AS. The fungi. USA Academic Press, 1973.
26. Taylor DJ. Enfermedades del cerdo. 2ª ed. México D.F. Manual Moderno, 1992.
27. Moreno ME. Manual para la identificación de hongos. México D.F. U.N.A.M. 1988.
28. Hagan JG. Timoney JB. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. 4ª ed. México D.F. La Prensa Médica, 1983.
29. Rodríguez BG. Control de aflatoxinas en explotaciones porcinas. Acont. Porcino. 1996; II:22-26.
30. Iñiguez CG. Fermentación de estiércol de cerdo para la obtención de un alimento para rumiantes (tesis de doctorado) México D.F. U.N.A.M. 1991.
31. Caballero HI. Efecto del proceso de ensilaje sobre la viabilidad de los parásitos en las excretas porcinas (tesis de licenciatura) México D.F. U.N.A.M. 2000.
32. Perdomo DR. Normas para la recolección y envío de muestras para análisis de laboratorio. Programa Regional de Diagnostico. Caracas Ven. 1980.
33. Pijoan AC. Manual de micología veterinaria. México D.F. ENEP, Cuautitlán, U.N.A.M. 1990
34. Moreno ME. Manual para la identificación de hongos. México D.F. U.N.A.M. 1998
35. Jungerman PF. Schwartzman RM. Micología médica veterinaria. México D.F. Continental, 1997.
36. Brasdsahw JL. Micología de laboratorio. México D.F. Manual Moderno, 1976.
37. García TR; Cordoba PR. Manual ilustrado de técnicas de laboratorio utilizadas en bacteriología y micología. México D.F. Instituto Internacional de Cooperación para la Agricultura, 1988.
38. Norma Oficial Mexicana, NOM 111-SSA1-1994, Bienes y servicios. Métodos para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. México D.F. S.S.A. 1994.

39. S.A.S. Institute Inc. Statistical Analysis System. Procedures guide for personal computers. 6<sup>a</sup> ed. U.S.A. North Carolina, 1985.
40. Herrera HJ, Lorenzana CG. Aplicación del SAS (Statistical Analysis System) a los métodos estadísticos. Oaxaca (Oax.); México: 1994.
41. Hernández CB. Determinación de bacterias patógenas en ensilados de excretas porcinas con caña de azúcar (tesis de licenciatura) México D.F. U.N.A.M. 1997.
42. Cabrera MP. Ácidos grasos de cadena corta macro y microminerales en ensilados de excretas porcinas con caña de azúcar picada (tesis de licenciatura) México D.F. U.N.A.M. 1998.
43. Berger JCA, Komegey ET, Fontnot JP, Webb KE. Feeding swine waste ensiled I Fermentation characteristics of swine waste ensiled with ground hay or ground corn grain. *Jor. Anim. Sci.* 1981;52(6)1388-1403.
44. Corman AW, Lamm WD, Webb KE, Fontenot JP. Ensiling cattle waste the rye straw as a diet supplement for ruminants. *Jor. Anim. Sci.* 1981;52(6)1233-1239.
45. Harmon BW, Fontenot JP, Webb KE. Ensiled broiler litter and corn forage I. Fermentation characteristics. *Jor. Anim. Sci.* 1975;40(1)144-155.
46. Hardy C, Domínguez GH, Gutiérrez A. Conservación de pastos y forrajes. En los pastos de Cuba. Instituto de Ciencia Animal. 1986;607(1).
47. Luis L. Obtención y utilización de bacteria ácido lácticas en la conservación de forrajes en forma de ensilaje. Matanzas, Cuba. EEPF, 1991.
48. Watson SJ. El ensilaje. México D.F. Continental, 1969.
49. McCastey TA, Antoni WB. Human and health aspects o feeding live stock excreta. *J. Anim. Sci.* 1979; 41:163-167.
50. Cadena VM. Determinación de minerales y ácidos grasos volátiles en ensilados de excretas de cerdo con planta de maíz en diferentes etapas de maduración (tesis de licenciatura) México D.F. U.N.A.M. 2001.
51. Bonifaz A. Micología médica básica. México D.F.: Méndez editores, 1994.

**Cuadro 1. Análisis de Varianza de parcelas divididas para el  $\log^{10}$  de las UFC de hongos sometidos al efecto del ensilaje.**

Fuente de Variación	G L	Cuadrado Medio	F	Probabilidad
Repetición	4	0.4750	0.36	N.S.
Tratamiento	1	119.8462	89.76	0.0001
Error A	4	0.2461	0.18	N.S.
Día	4	5.2907	3.96	0.0101
Tratamiento x día	4	8.6244	6.46	0.0006
Error B	32	1.3351		
<b>Total</b>	<b>49</b>			

NS = no significativo

G L = Grados de libertad

**Cuadro 2. Log<sup>10</sup> de las UFC de hongos (dilución 10<sup>-2</sup>)/g en el ensilaje de FSEP.**

<b>Día de apertura</b>	<b>Control</b>	<b>EEM ±</b>	<b>Microsilos</b>	<b>EEM ±</b>
0	4.2020 <sup>a</sup>	0.1443	4.2500 <sup>a</sup>	0.1024
7	4.7140 <sup>a</sup>	0.0664	1.6340 <sup>b</sup>	1.0187
14	4.5720 <sup>a</sup>	0.0344	0.6520 <sup>b</sup>	0.6520
28	4.5440 <sup>a</sup>	0.0347	0.8800 <sup>b</sup>	0.8800
56	4.7660 <sup>a</sup>	0.0720	0.0000 <sup>b</sup>	0.0000

a, b= Diferente literal por renglón, indica diferencias significativas (P < 0.05)

E E M = Error Estándar de la Media

**Cuadro 3. Coeficientes de correlación en controles sin ensilar con FSEP.**

	<b>MS</b>	<b>pH</b>	<b>Temperatura</b>
<b>Log<sup>10</sup> UFC (dilución 10<sup>-2</sup>)/g</b>	r = 0.2527 P = 0.2228	r = 0.3011 P = 0.1435	r = 0.1871 P = 0.3695
<b>MS</b>		r = 0.4109 P = 0.0413	r = 0.0941 P = 0.6546
<b>pH</b>			r = 0.3226 P = 0.1157

**Cuadro 4. Coeficientes de correlación en microsilos con FSEP.**

	MS	pH	Temperatura
<b>Log<sup>10</sup> UFC (dilución 10<sup>-2</sup>)/g</b>	r = 0.6660 P = 0.0003*	r = 0.6746 P = 0.0002*	r = 0.2021 P = 0.3325
<b>M S</b>		r = 0.7187 P = 0.0001*	r = 0.4023 P = 0.0461*
<b>pH</b>			r = 0.1060 P = 0.6140

\* Estadísticamente significativos

**Cuadro 5. Comportamiento de pH, en los distintos tiempos de apertura, en los controles y microsilos elaborados con la FSEP.**

<b>DIA</b>	<b>0</b>	<b>7</b>	<b>14</b>	<b>28</b>	<b>56</b>
<b>Control</b>	4.52	4.17	6.75	6.62	6.58
<b>D .E. ±</b>	0.04	0.12	0.06	0.14	0.13
<b>Microsilos</b>	4.61	4.09	3.91	3.64	3.81
<b>D .E. ±</b>	0.06	0.01	0.02	0.03	0.04

D. E. = Desviación Estándar

**Cuadro 6. Porcentaje de Materia Seca observado en los controles y microsilos elaborados con la FSEP, a distintos tiempos de apertura.**

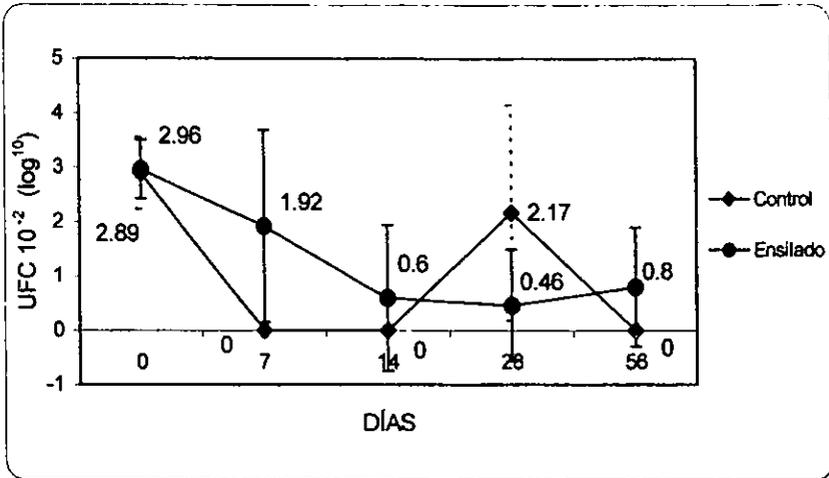
<b>DÍA</b>	<b>0</b>	<b>7</b>	<b>14</b>	<b>28</b>	<b>56</b>
<b>Control</b>	44.8	43.7	44.3	45.7	60.3
<b>D .E. ±</b>	3.11	1.70	1.39	3.02	1.44
<b>Microsilos</b>	46.0	40.1	40.17	40.91	39.52
<b>D .E. ±</b>	2.74	1.52	0.98	0.31	0.62

D. E. = Desviación Estándar

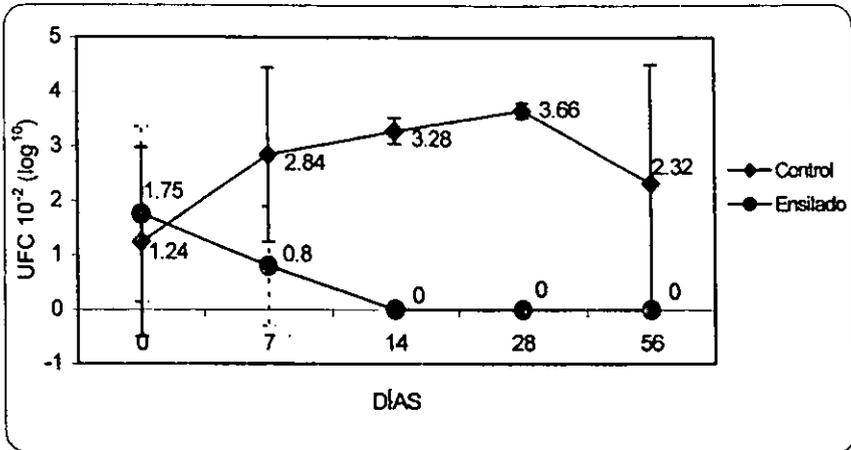
**Cuadro 7. Temperatura observada en los controles y microsilos elaborados con la FSEP, a distintos tiempos de apertura.**

<b>DÍA</b>	<b>0</b>	<b>7</b>	<b>14</b>	<b>28</b>	<b>56</b>
<b>Control</b>	23.96	21.38	27.88	20.36	24.12
<b>D. E. ±</b>	0.29	0.52	0.75	0.86	0.27
<b>Microsilos</b>	24.28	21.38	27.88	20.36	24.12
<b>D. E. ±</b>	0.52	0.33	0.16	0.69	0.22

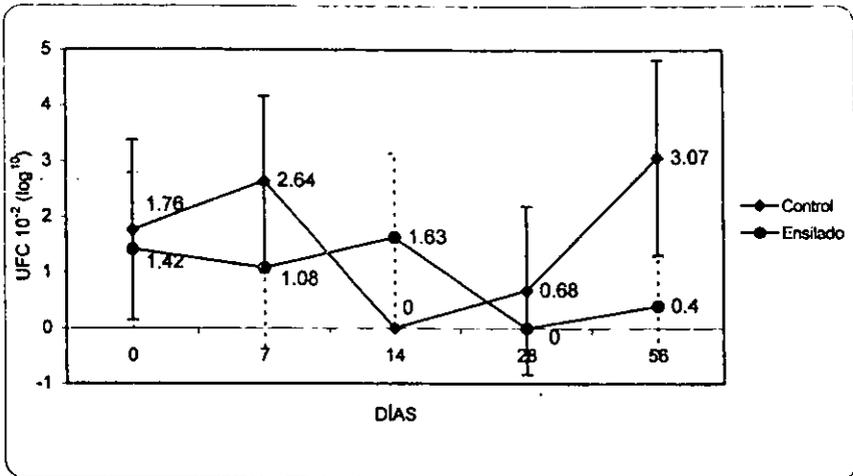
D. E. = Desviación estándar



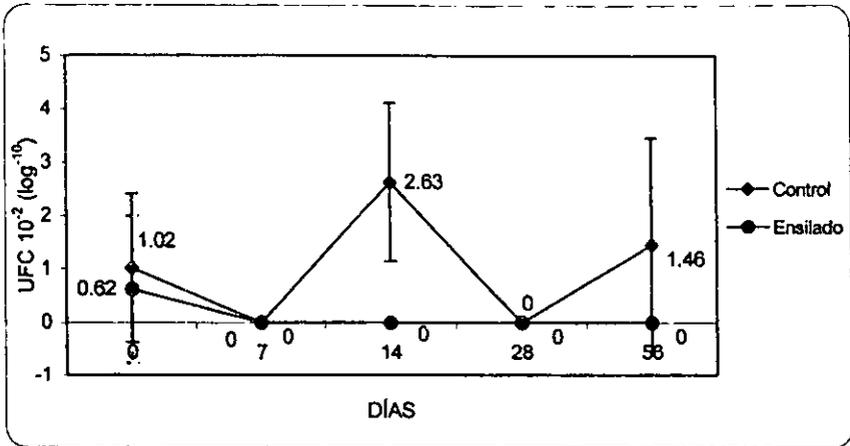
**Figura 1. Comportamiento de las UFC 10<sup>-2</sup> (log<sup>10</sup>) de *Absidia* spp. en controles y microsilos a distintos tiempos de apertura.**



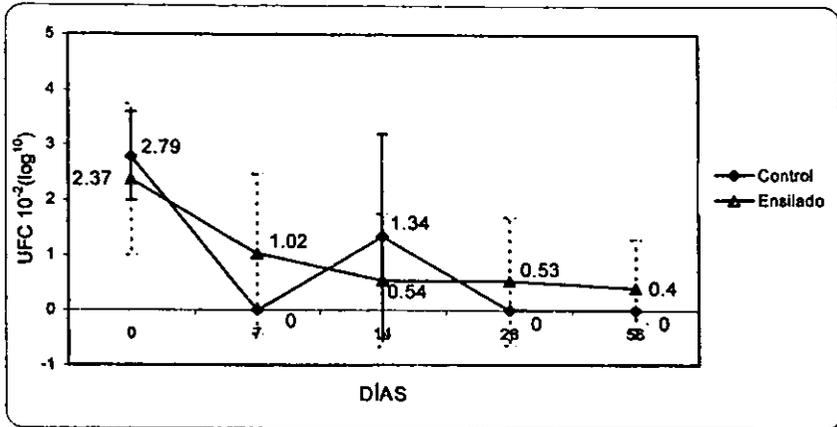
**Figura 2. Comportamiento de las  $UFC \cdot 10^{-2} (\log^{10})$  de *Aspergillus* spp. en controles y microsillos a distintos tiempos de apertura.**



**Figura 3. Comportamiento de las UFC  $10^{-2}$  ( $\log^{10}$ ) de *Penicillium* spp. en controles y microsilos a distintos tiempos de apertura.**



**Figura 4. Comportamiento de las UFC  $10^{-2} (\log^{10})$  de *Rhizopus* spp. en controles y microsilos a distintos tiempos de apertura.**



**Figura 5. Comportamiento de las UFC  $10^{-2}$  ( $\log^{10}$ ) de Colonias No Fructíferas, en controles y microsilos a distintos tiempos de apertura.**

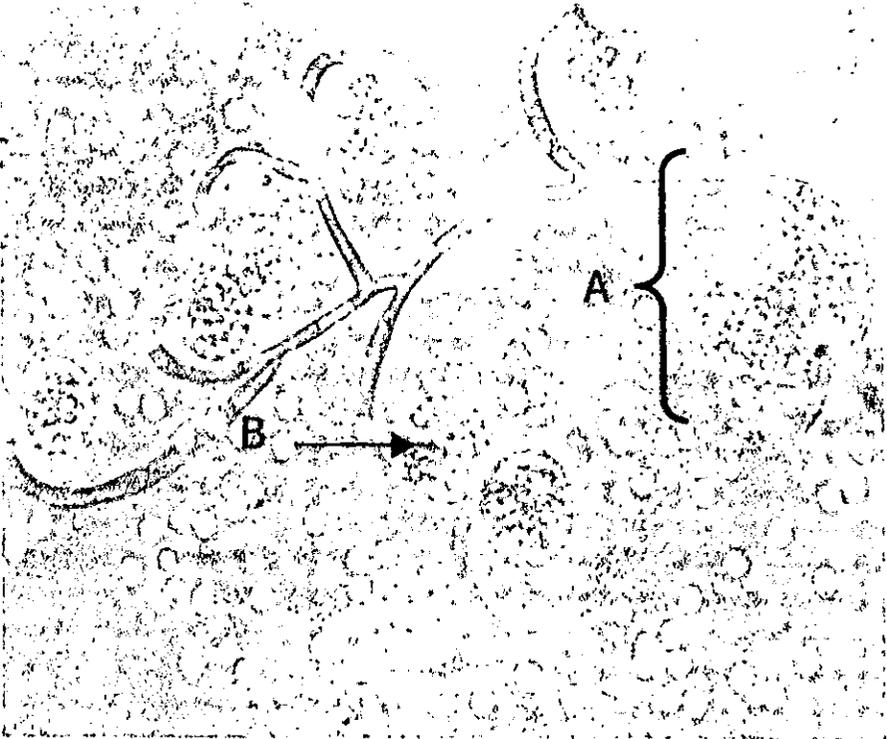
**ANEXO*****Absidia spp.***

Este género fungal, de forma macroscópica presenta inicialmente un color blanco, durante los tres primeros días de cultivo, posteriormente se torna de color blanco-grisáceo, de aspecto veloso-algodonoso seco.<sup>51</sup>



Presenta un micelio macrosifonado de 4 a 8 $\mu$  de diámetro aproximadamente, cenocítico e hialino, el micelio raramente presenta rizoicidios rudimentarios, su reproducción es asexual por medio de esporangiosporas o endosporas redondas (2 a 4 $\mu$  de diámetro), presenta estructuras especializadas como

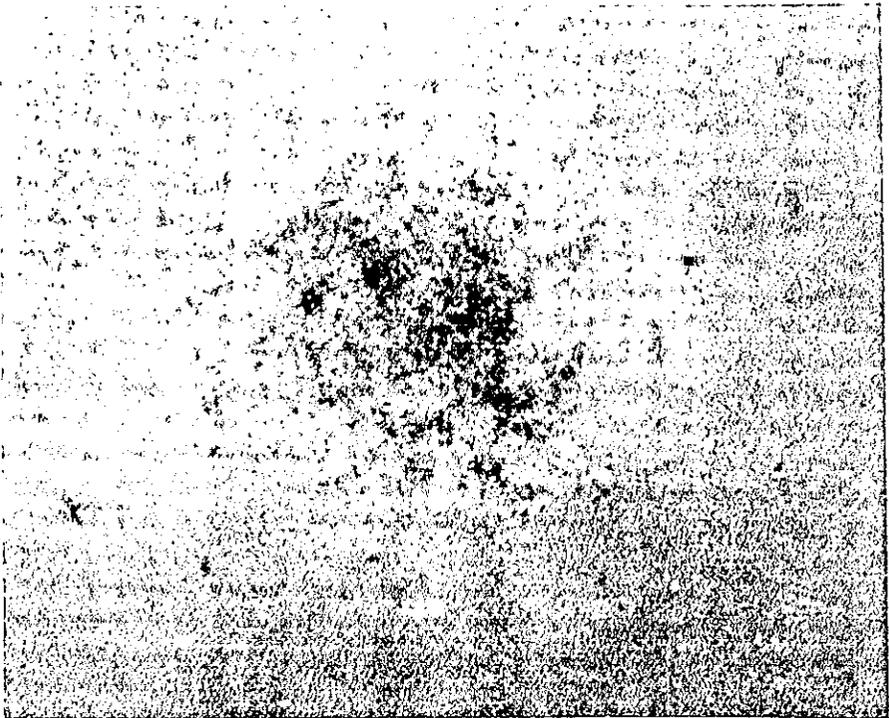
esporangiósforos largos, la característica de estos es la columneja grande y en forma de pera, el esporangio es redondo con un diámetro de 10 a 70 $\mu$ .<sup>51</sup>



A. Micelio  
B. Endosporas

### ***Aspergillus spp.***

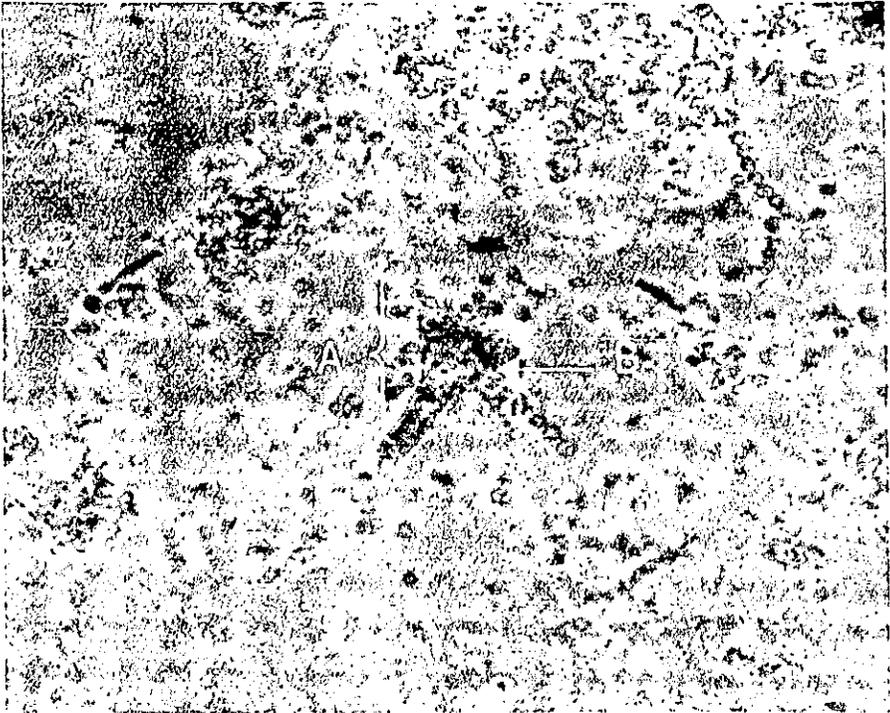
El género presenta variaciones, macroscópicamente se observa un color de la colonia que dependiendo de la especie, puede presentar un color verde, blanco amarillento, o verde con un halo blanco micelial, posteriormente cambia de color, el cual puede ser negro o beige. Con distintos aspectos según la especie, las cuales son de forma purulenta, plano, polvoso, aterciopelado seco, granulosa.<sup>51</sup>



Microscópicamente según la especie presenta un micelio nutritivo, macrosifonado (2 a 4 $\mu$ ) septado e hialino, o

tabicado e hialino, presenta estructuras especializadas, la cabeza aspergilada mide de 80 a 100 $\mu$ , esta compuesta por conidioforos largos (100 a 200 $\mu$ ), vesícula redonda y alrededor nacen dos series de estigmas es un ángulo de 360°. Su reproducción es de forma asexual por medio de microconidias, su reproducción sexual no ha sido reportada.<sup>51</sup>

Son ácidos tolerantes (pH 2.0), el óptimo es de 5.5 a 6, crecen con temperaturas de 40 a 42 °C, pero son termotolerantes (12 a 55 °C), son aeróbios estrictos.<sup>24,25</sup>



A. Cabeza aspergilada  
B. Conidioforos

*Penicillium spp.*

A simple vista se observa de color verde con un halo blanquecino en la periferia de forma y aspecto plano, polvoso, aterciopelado.<sup>51</sup>



Microscópicamente se observa un micelio macrosifonado (2 a 4 $\mu$ ) septado e hialino, presenta conidióforos de 5 a 10 $\mu$  de largo y estigmas, la reproducción de este hongo es sexuada o asexuada en la mayoría de las especies, en esta última es por medio de microconidias redondas que miden de 1 a 3 $\mu$ , de forma sexuada es por ascosporas.<sup>51</sup>

Soporta pH ácido, hasta de 2.0, sin embargo el adecuado para su desarrollo es de 5.5 a 6, soportan temperaturas de refrigeración, por esto son contaminantes del ambiente.<sup>24,25,51</sup>



- A. Micelio macrosifonado
- B. Conidioforos

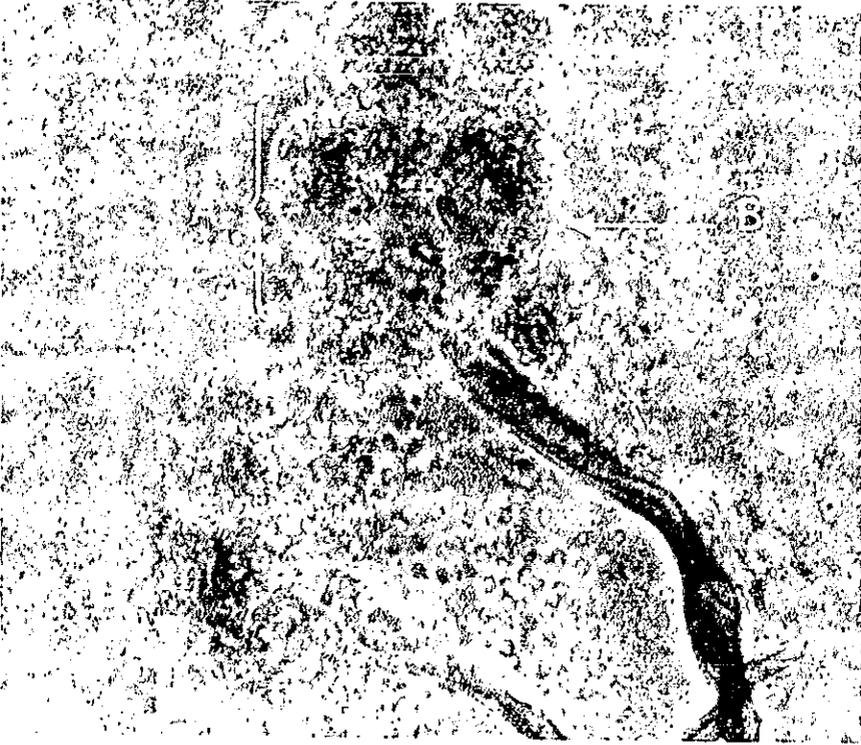
***Rhizopus spp.***

Macroscópicamente presenta un color blanco al inicio (2 a 3 días), posteriormente se torna de color gris oscuro, con un aspecto veloso-algodonoso, seco.<sup>51</sup>



Microscópicamente presenta un micelio macrosifonado de aproximadamente 5 a 10 $\mu$  de diámetro, sin septos e hialino, el micelio presenta rizoides (raíces) y estolones, su reproducción es asexual, en algunos casos puede ser sexual por medio de zigosporas presenta estructuras especializadas las cuales son esporangios largos, con un

diámetro de 100 a 200 $\mu$ , que nunca se ramifican, tiene una columneja pequeña de forma ovoide.<sup>51</sup>



- A. Esporangios.
- B. Zigosporas.