

37



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

PRESENCIA DE HONGOS EN AMBIENTE, ALIMENTO,
HECES Y RESIDUALES EN UNA GRANJA PORCINA
DURANTE DOS EPOCAS DEL AÑO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

MARIANA HUERTA JIMENEZ

ASESORES:

M.V.Z. M.C. FRANCISCO A. CASTREJON PINEDA

M.V.Z. M.Sc. PhD. SILVIA ELENA BUNTINX DIOS

M.V.Z ALMA ALVARADO RODRIGUEZ

BIOL. DAVID BONILLA LOPEZ



MEXICO, D.F.

2001



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

DEDICATORIA

A mi mami y mejor amiga y a mi papi por sus grandes esfuerzos de formarme espiritual y profesionalmente ante la vida.

A mi hermanita por darme el ejemplo para lograr cualquier meta y a mi pequeño hermano por su gran carácter.

A daisy, goliath, angus, totis, nina y leoncito por mantener mi vida llena de humanidad y cariño hacia los animales.

A toda la sociedad mexicana.

AGRADECIMIENTOS

A la Dirección General de Apoyos para el Personal Académico que a través del PROYECTO PAPIIT IN210997 aportó los recursos económicos para la realización de esta investigación.

A la Dirección General de Sanidad Vegetal, SAGAR, por el gran apoyo a la realización de este tabajo.

A mis asesores con respeto y admiración.

A todos los académicos y laboratoristas del Departamento de Nutrición y Alimentación Animal.

Al Departamento de Administración y Economía por todo su apoyo y vinculación profesional, especialmente al MPA Valentín Espinosa y al MA Jorge Reyes Castro por ser un gran amigo.

A la familia Serrano García y a Lalo por su amistad incondicional.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN	1
I. INTRODUCCIÓN	2
1.1. Producción de estiércol de cerdo.....	3
1.2. Impacto ambiental de las granjas porcinas.....	4
1.3. Uso del estiércol porcino.....	8
1.4. Características nutricionales de las excretas porcinas.....	10
1.5. Tratamiento de las excretas animales.....	13
1.6. Riesgos relacionados con el empleo de estiércol como alimento	17
1.7. Características de los hongos.....	18
1.7.1 Relación Hongo-Micotoxina.....	22
1.7.2 Daños que una invasión fúngica descontrolada provoca en las materias primas y alimentos compuestos.....	22
1.7.3 Problemas que los hongos pueden provocar en los animales.....	23
1.8. JUSTIFICACIÓN.....	25
1.9. HIPÓTESIS.....	25
1.10. OBJETIVO GENERAL.....	26
1.11. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
II. MATERIAL Y MÉTODOS	
2.1. FASE DE CAMPO	
2.1.1. Localización y descripción de la granja.....	27
2.1.2. Muestreo en la granja.....	27
2.1.3. Muestreo del alimento.....	30
2.1.4. Muestreo de heces.....	31
2.1.5. Muestreo de líquidos de ls registros de drenaje..	32

2.1.6.	Muestreo del ambiente.....	33
2.1.7.	Muestreo de los sólidos del cárcamo.....	34
2.2.	FASE DE LABORATORIO.....	35
2.3.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	38
IV. RESULTADOS		
4.1.	Alimento.....	39
4.2.	Heces y líquidos de registros.....	40
4.3.	Medio ambiente.....	41
4.4.	Sólidos.....	43
4.5.	Correlaciones.....	45
4.6.	Géneros identificados.....	50
V.	DISCUSIÓN.....	59
VI.	CONCLUSIONES.....	64
VII.	RECOMENDACIONES.....	65
VIII.	LITERATURA CITADA.....	66
IX.	INDICE DE CUADROS.....	VI
X.	INDICE DE FIGURAS.....	VIII
XI.	ANEXOS.....	IX

Indice de Cuadros	<u>Página</u>
Cuadro 1. Composición química de las heces de porcino (base seca).....	12
Cuadro 2. Relación entre la humedad de varios cereales y semillas y las diferentes HRE a una temperatura de 25-30°C.....	20
Cuadro 3. Tipos de flora fúngica.....	21
Cuadro 4. Desarrollo de algunos géneros de hongos dependiendo de la época climática.....	22
Cuadro 5. Análisis de varianza para las unidades formadoras de colonias (UFC/g) en el alimento.....	39
Cuadro 6. Unidades formadoras de colonias (UFC/g) en el alimento por etapa productiva.....	40
Cuadro 7. Análisis de varianza para las unidades formadoras de colonias (UFC/g) de heces.....	40
Cuadro 8. Análisis de varianza para las unidades formadoras de colonias (UFC/g) de los líquidos de los registros.....	41
Cuadro 9. Análisis de varianza para las unidades formadoras de colonia (UFC/m ³) en el ambiente.....	41
Cuadro 10. Unidades formadoras de colonias (UFC/m ³) en el ambiente por época del año y por etapa productiva	42
Cuadro 11. Promedio y D.E de las temperaturas Ambientales y humedades relativas registradas en el ambiente por época y etapa productiva.....	42

Indice de Figuras	<u>Página</u>
Figura 1. Diagrama de muestreo en las diferentes áreas de la granja.....	29
Figura 2. Comportamiento del crecimiento de hongos en los sólidos de excretas porcinas (UFC/g en log ₁₀) que permanecieron acumulados de 1 a 4 días.....	44
Figura 3. Correlación de las UFC/g y el pH de los sólidos de excretas porcina acumulados durante 1 día...	48
Figura 4. Correlación de las UFC/g y la altura de crecimiento de hongos en los sólidos de excreta porcina acumulados durante 1 día.....	49
Figura 5. Aspergillus spp.....	52
Figura 6. Absidia spp.....	53
Figura 7. Penicillium spp.....	54
Figura 8. No fructíferas.....	55
Figura 9. Rhizopus spp.....	56
Figura 10. Mucor spp.....	56
Figura 11. Alternaria spp.....	57
Figura 12. Stemphylium spp.....	58

RESUMEN

HUERTA JIMÉNEZ MARIANA. "Presencia de hongos en ambiente, alimento, heces y residuales en una granja porcina durante dos épocas del año", bajo la asesoría de Castrejón PFA, Buntinx DSE, Alvarado RA, Bonilla LD.

Con la finalidad de cuantificar la población fungal, en Unidades Formadoras de Colonias (UFC), e identificar los géneros de hongos presentes diferentes etapas productivas de una granja porcina y en dos épocas del año, se realizó un muestreo en el Centro de Enseñanza Investigación y Extensión en Producción Porcina (CEIEPP) de la FMVZ - UNAM, ubicado en Jilotepec, Estado de México, utilizando tres áreas [maternidad (M), gestación (G) y reemplazos (R)], tomando muestras de alimento (comederos), heces (rectales), medio ambiente (exponiendo cajas de Petri estériles desechables que tenían agar papa dextrosa (PDA) por media hora) y de los líquidos de los registros del drenaje. Además se utilizó la fracción sólida de las excretas porcinas (FSEP), obtenidas del cárcamo por un separador de sólidos y líquidos, para formar con 45 kg de FSEP un rodete de 1 m de diámetro y 10 cm de altura, durante 1,2,3 y 4 días, con tres repeticiones por día. Pasados estos tiempos se retiró el rodete, se dividió en dos partes cada sección y se muestrearon las áreas que mostraron crecimiento fungal, registrando la altura y la longitud de crecimiento. Además se registraron las variables de temperatura ambiente (°C) y humedad relativa (HRE), para cada uno de los casos. Posteriormente las muestras se procesaron en el laboratorio, empleando diluciones 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} , sembrándose en PDA e incubándose durante 7 días a 25°C. Se identificaron los géneros de hongos presentes. La variable de respuesta para el análisis estadístico fue la UFC/g en la dilución 10^{-2} , transformando los resultados a logaritmo base 10. El análisis de varianza correspondió al de un diseño de bloques completamente al azar, utilizando la época del año (invierno y primavera) como criterio de bloqueo y las áreas de la granja como tratamientos. En el **alimento**, no hubo efecto de época pero sí de etapas ($P < 0.01$); M (3.91^a) tuvo mayor ($P < 0.05$) concentración de hongos que R (2.93^b), pero no fue diferente de G ($3.36^{a,b}$). Las condiciones que favorecieron el crecimiento de hongos en el alimento fueron; 11.4% BH, 46% HRE y 19.5°C. En **ambiente**, el promedio de UFC/m³ fue de 1.62 ± 0.24 , mostrando efecto por época (mayor número de UFC en invierno) y por etapa de producción (mayor número de UFC en reemplazos), siendo 16.2°C y 43.2% HRE las condiciones ambientales en donde los hongos se desarrollaron mejor. En las muestras de **heces y líquidos** no hubo efecto por época ni por etapa de producción, siendo el promedio de UFC/g en heces de 3.22 y en los líquidos de 3.07. En la **FSEP**, el desarrollo de hongos presentó una curva de crecimiento decreciente, hasta los tres días de acumulación, tendiendo a incrementarse al cuarto día. El pH de la FSEP después de 1 día de acumulación se correlacionó negativamente y la altura de crecimiento fungal positivamente, con las UFC/g. El número de UFC de hongos en medio ambiente y sólidos fue mayor en invierno que en primavera. Los géneros identificados (*Aspergillus spp*, *Absidia spp*, *Penicillium spp*, no-fructíferas, *Rhizopus spp*, *Cladosporium spp*, *Mucor spp*, *Trichoderma spp*, *Alternaria spp*, *Geotrichum spp*, *Gliocadium spp*, *Stemphylium spp* y levaduras blancas) fueron similares en las diferentes muestras de estudio y correspondieron a flora de campo y de almacenamiento.

I . I N T R O D U C C I Ó N

Las unidades de producción animal han evolucionado a sistemas intensivos, generalmente en confinamiento, provocando que el manejo de las excretas constituya un problema de contaminación ambiental (1). En ocasiones, se depositan en áreas muy pequeñas, pero con una elevada densidad de población tanto animal como humana; en esas circunstancias se origina, como consecuencia, un problema de contaminación causado por los desechos (heces y orina) o por un inadecuado manejo del estiércol, que repercute en un mayor índice de contaminación del suelo, aire y agua (2). Ante esta problemática, se han establecido normas (3) que exigen un límite de contaminantes para las descargas de aguas residuales vertidas a aguas y bienes nacionales. A su vez, se ha generado una diversidad de investigaciones, en cuanto al manejo, uso y tratamiento de los residuos porcinos, con el fin de atender las necesidades de los productores y el compromiso ambiental.

El aprovechamiento de las excretas de cerdo ha sido ampliamente estudiado desde fines de los 60's ya sea como fertilizante orgánico, como ingrediente en raciones animales (4) o en la producción de gas y sólidos para cama de animales (5). Dentro de esas investigaciones, algunos autores (6) han encontrado que el uso de las excretas es más redituable si se utilizan para la alimentación animal. Además, el reciclaje de excretas en la alimentación de los mismos u otra especie animal, permite disminuir los costos de alimentación al aportar proteínas no competitivas entre el ganado y humanos, en un proceso que ayuda a

conservar los recursos naturales (7).

El estiércol animal ha sido usado satisfactoriamente en programas de alimentación (8). Sin embargo, se deben considerar los peligros latentes que existen en el proceso de reciclar las excretas animales, peligros como transmisión de enfermedades por agentes como virus, bacterias, parásitos y hongos. Por este posible efecto, es necesario realizar investigaciones adicionales, en donde se evalúen los peligros zoonosarios al emplear el estiércol animal como una alternativa de alimentación (8,9).

1.1 Producción de estiércol de cerdo

La cantidad de excretas que produce un cerdo depende de distintos factores, entre ellos la edad del animal, su madurez fisiológica, la cantidad y calidad de alimento consumido, la cantidad de agua bebida y el clima (9). En investigaciones realizadas en países con sistemas de alimentación porcina y climas similares a los de México, se ha determinado que un cerdo de 100 kg produce aproximadamente 6.17 kg de heces y orina por día, que equivalen al 6.17 % del peso vivo en granja (10). Conrad et al.(1971) estimaron que los cerdos en la etapa de crecimiento - finalización excretan diariamente de un 5 a un 8 % de su peso vivo (11). Por su parte, Day (1988) menciona que un cerdo genera 12 kg de estiércol por kg de carne producida (12). Otros autores mencionan que por cada 60 kg de carne de cerdo producida en granja, los animales generan 10 veces más orina y excremento (13). Existe una gran variación en la cantidad de desechos que se generan en una granja porcina, pero se ha estimado que la producción diaria promedio por

cerdo es de 5.4 kg de desechos. De acuerdo con esto y considerando que la producción nacional de cerdo es de 9'153,375 cabezas (14). Se estimaría que a diario se generan 49 millones de toneladas de excretas porcinas, las cuales, en muchos casos, se vierten directamente a los cuerpos receptores de agua (lagos, ríos, arroyos, barrancas, etc.) o se dejan a cielo abierto en los campos de cultivo (15). Por el enorme impacto ambiental de estas acciones, en la actualidad es obligatorio que en las granjas se realice un manejo de desechos o se disponga de algún sistema de tratamiento de los mismos.

1.2 Impacto ambiental de las granjas porcinas

Los desechos biodegradables de las granjas porcinas no causaron problemas a las primeras poblaciones humanas debido a su reincorporación al medio y a su transformación. Sin embargo, actualmente, los desechos sólidos provocan alteraciones irreversibles en los sistemas ecológicos. La disposición final de estos desechos a cielo abierto ha originado que cientos de hectáreas para los cultivos agrícolas se hayan perdido y se seguirán perdiendo mientras no se ponga un alto a esta práctica inadecuada (16).

Se estima que un 46% de la producción porcina en México, es tecnificada, un 20% semitecnificada, y el 34% es producción de traspatio (10). Alrededor del 70% de la producción se realiza en condiciones de ciclo completo, existiendo una fuerte tendencia hacia la modalidad de tres sitios (10). La porcicultura está ampliamente diseminada por todo el territorio nacional,

concentrándose 4.3 millones de cabezas en el centro del país, en la cuenca del Río Balsas (Jalisco, Michoacán y Guanajuato); 1.2 millones de cabezas en el noroeste de Sonora, en los distritos de riego de los ríos Mayo y Yaqui y zona de Hermosillo, y un millón de cabezas en el sureste de Yucatán. La concentración de cerdos se ha efectuado en regiones donde los recursos han sido irracionalmente explotados o son escasos (10).

El deterioro ha aumentado por la tendencia a la intensificación en sistemas de confinamiento con alta densidad de población y los potenciales de contaminación que se generan dentro de estos procesos (17). La actual porcicultura es una fuente más de contaminación ambiental, que afecta como cualquier proceso industrial, impactando a la sociedad en conjunto (10).

Se han identificado cuatro factores como causas principales del impacto ambiental de la porcicultura (10,18):

- 1) Grandes densidades de población en espacios reducidos, tendientes a una producción intensiva.
- 2) Desarrollo de una porcicultura especializada sin vínculos con la actividad agrícola.
- 3) Sistemas de alimentación con elevado contenido de proteína que el aparato digestivo del cerdo no es capaz de asimilar.
- 4) Limitaciones de la tecnología para el manejo y tratamiento de desechos y el ineficiente uso de las aguas residuales en las granjas.

El estiércol de cerdo está constituido por ingredientes alimenticios no absorbidos y no digeridos, de productos

catabólicos del metabolismo, secreciones, células microbianas y tejidos, que después de la excreción continúan su degradación debido a la acción microbiana, produciendo gases, olores y contaminando el suelo y agua (19). Entre el estiércol de diversos animales, los del cerdo son los más contaminantes por su alto contenido de material orgánico e inorgánico (18). Los principales contaminantes presentes en las excretas porcinas son: materia orgánica biodegradable, que constituye hasta el 55% de su composición, patógenos, nitrógeno y minerales, como fósforo, cobre, cinc y arsénico (10,18).

Cuando las descargas de las excretas y residuos porcinos se vierten directamente en las aguas sin tratamiento previo, producen un abatimiento en el contenido normal de oxígeno disuelto en el agua, debido a la excesiva demanda de oxígeno que requiere la materia orgánica para su descomposición, la cual se oxida hasta formar dióxido de carbono y metano (15). Las aguas usadas que se descargan sin tratar en ríos y lagos, son uno de los vehículos más activos de la degradación ambiental. Se estima que más del 70% del daño ambiental se debe al agua contaminada (20). En primera instancia, corrompen cuerpos de agua receptores; enseguida, agotan flora y fauna acuática al envenenar los cauces y suelos, provocando la destrucción de la vegetación, cultivos y la fauna terrestre e inficionan la atmósfera; finalmente, los detritus y gérmenes patógenos que se arrastran pueden provocar epidemias en las poblaciones ribereñas (15).

Otra manera de eliminar las excretas de la granja es su

acumulación en el suelo. Los elementos fertilizantes (N,P,K) disueltos, que no han sido absorbidos por las plantas, pueden filtrarse a través del suelo con las primeras lluvias, sobre todo si el suelo tiene una pobre capacidad para retener agua o en suelos helados (21,22). Estos elementos llegan hasta las aguas subterráneas y de superficie, causando efectos contaminantes en los mantos acuíferos que abastecen del líquido vital a las poblaciones humanas y animales, lo que ha traído como consecuencia casos de intoxicaciones masivas (22).

Las excretas también producen olores ofensivos que causan un daño considerable a las poblaciones aledañas. El aumento de excretas almacenadas y vertidas a las tierras de cultivo sin un tratamiento previo provoca la proliferación de insectos y efluvios de amoníaco hacia la atmósfera, contribuyendo en gran medida a la lluvia ácida (23).

En México, las descargas de desechos animales se vierten prácticamente crudas o tratadas por filtración superficial (24). Sin embargo, las numerosas investigaciones que se han realizado para el manejo de excretas no han sido en vano. Muchos porcicultores están preocupados por las consecuencias que los residuos de granjas pueden ocasionar en el ambiente. Esta preocupación se puede ver reflejada en un estudio realizado por el Programa de Medio Ambiente del Consejo Mexicano de Porcicultura (CMP), en el cual se encuestó a 231 porcicultores y se encontró que 76% de las granjas porcinas cuenta con un sistema de tratamiento de aguas residuales, refiriéndose como mínimo a una

laguna de oxidación; el 9% cuenta con una fosa o un cárcamo, y el 10% descarga los residuos sin dar ningún tratamiento a cielo abierto, directamente a suelos, arroyos, barrancas, etc. Asimismo, de las granjas encuestadas, el 23% empleaba las excretas directamente en la alimentación de rumiantes, 28% separa los sólidos en forma mecánica y manual (72%) (10). Por otra parte, Duarte et al. (1990) reportaron que en el 80% de las explotaciones porcinas en México se utiliza el sistema tradicional de barrido manual para la limpieza de sus corrales (25). Esto sugiere que cuando menos el 80% de las granjas porcinas en México tiene corrales con piso firme de cemento y el 20% restante cuenta con piso de rejilla o bien, manejan el estiércol a chorro de agua.

1.3 Uso del estiércol porcino

En la actualidad, las excretas se emplean como fertilizantes, para la obtención de biogas; o como ingrediente en la alimentación animal, principalmente de cerdos, bovinos y ovinos.

El uso de cerdaza como fertilizante se realiza de acuerdo al tipo de suelo y cultivo al cual se quiere aplicar (26). Campabadal (1995) refiere que las excretas sólidas de cerdo contienen 22 kg de N, 14 kg de P y 10 kg de K por tonelada de sólidos y que en forma semilíquida contienen 44 kg de N, 40 kg de P y 39 kg de K por cada 1000 galones de excretas (27). Para el uso de los desechos animales como fertilizante se debe cuidar la concentración y el nivel de deposición en el suelo, ya que puede desbalancearse la carga iónica de los suelos y destruir las plantas o contaminar el agua subterránea (24, 28). Hay que tomar

en cuenta que la fertilización no se puede realizar todo el año, por lo que se debe contar con estructuras de almacenamiento, recordando que con un almacenamiento prolongado una proporción del nitrógeno orgánico se convierte en nitrógeno amoniacal y de esta forma se volatiliza (18, 24, 25, 28). Así mismo, la contaminación por el sobreabonado de los suelos y plantas ofrece un peligro para la salud animal y humana, cuando la descarga de estiércol contiene gérmenes patógenos (13, 28). Se puede presentar envenenamiento por cobre en las plantas si el alimento del cerdo contiene gran cantidad de este elemento como promotor del crecimiento y las excretas de estos cerdos se utilizan como fertilizante (13). Por consiguiente, la solución a los efectos contaminantes de las excretas es su manejo adecuado (9, 28, 29).

La producción de biogas se origina a partir de la digestión anaerobia, también llamada fermentación metánica, de las excretas, de donde se obtiene una mezcla de metano (60-65%), dióxido de carbono, trazas de sulfuro de hidrógeno, nitrógeno, ácido sulfhídrico, gas carbónico y vapor de agua. Además, se produce un residuo semisólido, rico en nitrógeno, llamado bioabono, libre de microorganismos patógenos, inodoro, cuyos elementos fertilizantes son más eficientemente utilizados por las plantas, ya que el 50% de éstos se encuentra mineralizado. Este proceso permite producir combustible a partir de materia orgánica (25, 28). La instalación de un sistema para la captación de biogas tiene un costo elevado, por lo que su utilidad ha sido observada en países en los cuales los gobiernos han apoyado intensamente este tipo de biotecnología

(28).

El uso de las excretas de animales de granja (principalmente de aves, cerdos y bovinos) en la alimentación animal obedece a su elevado contenido de minerales y de nitrógeno. Las diferencias en la calidad de las excretas de distintas especies animales se debe al tipo de ingredientes alimenticios empleados para cada especie, lo que depende, en gran medida, de los sistemas de manejo, recuperación y almacenamiento de los desechos.

1.4 Características nutricionales de las excretas porcinas

La cerdaza, como comúnmente se conoce a las excretas porcinas, es una fuente reconocida de proteína y minerales (25). La composición nutricional de la cerdaza es muy variable en su contenido de minerales, componentes fibrosos y proteína (27). Esto se debe a varios factores como:

- Tipo de animales que la producen: la cantidad de proteína cruda es mayor en excretas de animales en la etapa de iniciación, seguida de animales en finalización y de hembras reproductoras (Cuadro 1). La cantidad de minerales es mayor en las excretas de hembras gestantes que la de cerdos en desarrollo (25).
- Procesamiento del alimento: un tipo de molido grueso del grano favorece la calidad nutricional de la cerdaza, al aparecer partículas del grano sin digerir en las excretas (30).
- Tratamiento de las excretas para su recuperación: el porcentaje de proteína cruda es mayor en excretas frescas, seguidas de las secas y, por último, las ensiladas, debido a las pérdidas por evaporación o en los líquidos del ensilaje (17).

□ Almacenamiento y exposición a fenómenos del clima: humedad, duración del almacenaje, temperatura ambiental, así como exposición a fenómenos atmosféricos, como lluvia, viento y calor, contribuyen a la volatilización de la materia orgánica, afectando negativamente la digestibilidad y la cantidad de energía y nitrógeno, pero aumentando la concentración de cenizas (17). La humedad es el factor que más afecta la composición, ya que a mayor humedad se favorece el calentamiento, descomposición y crecimiento de hongos, provocando un menor consumo y palatabilidad de las excretas (30).

**Cuadro 1. Composición química de las heces de porcino
(base seca) ***

Componente %	Iniciación	Finalización	Reproductoras	Mixtas
Materia seca	28.4 ± 3.3	28.5 ± 3.7	38.5 ± 10.7	27.00
Proteína bruta	27.2 ± 3.3	26.5 ± 4.1	18.9 ± 6.3	23.80
Grasa bruta	-	-	-	1.10
Materia mineral	19.3 ± 2.9	21.6 ± 4.5	39.1 ± 18.5	9.58
Fibra bruta	-	-	-	10.3
FND	39.7 ± 4.5	45.3 ± 4.4	48.4 ± 9.7	-
FDA	18.0 ± 3.4	23.2 ± 4.9	34.7 ± 12.6	-
Lignina	3.6 ± 1.9	5.6 ± 1.4	3.7 ± 2.4	-
Sílice	3.4 ± 2.2	3.5 ± 1.8	6.2 ± 15.2	-
Celulosa	11.4 ± 2.9	12.7 ± 4.8	4.4 ± 7.2	-
Hemicelulosa	21.3 ± 3.6	22.1 ± 3.9	15.2 ± 5.4	-
Calcio	4.6 ± 1.0	5.2 ± 1.1	4.7 ± 1.1	-
Fósforo	1.4 ± 0.7	1.6 ± 0.4	1.5 ± 0.5	-
Cobre (ppm)	708.2 ± 1509	273.1 ± 139.1	316.4 ± 731.6	-

*Duarte et al., 1990, Salazar, 1996.

1.5 Tratamiento de las excretas animales

En muchas regiones las excretas se diluyen; en otras, se recuperan los desechos con la intención de utilizarlos para consumo de otras especies o para mejorar el contenido de materia orgánica de los suelos (30). El empleo de las excretas animales como fertilizante, en la alimentación animal, para la producción de energía y como material para cama necesita de un tratamiento previo. El tratamiento tiene la ventaja de que puede incrementar la palatabilidad y recuperación de nutrientes, destruir patógenos y controlar olores desagradables (31).

Los métodos que comúnmente se emplean para el tratamiento de las excretas se dividen en procesos físicos, químicos y biológicos. Dentro de los procesos físicos se puede mencionar la separación de sólidos y líquidos, y el secado natural. Entre los procesos químicos se encuentra el empleo de ácidos orgánicos y/o bactericidas en lagunas de fermentación aerobias y anaerobias, y los procesos biológicos consisten en lagunas de fermentación aerobias y anaerobias, ensilaje y composteo (17). Estos procedimientos se han ideado con el fin de buscar un método económico, evaluando el costo agregado por el proceso, para no hacer al producto incosteable; procurando en la mayoría de los procesos que generan materiales para el reciclaje, que la pérdida de nutrimentos sea mínima o que se induzca un aumento en la digestibilidad. Day (1987) menciona que para la implementación de cualquier método de proceso del estiércol debe considerarse el clima de la zona, el propósito de la granja, el tipo de

instalaciones y el sistema de alimentación (32).

El secado natural de los residuos de las granjas, ya sea manual o mecánico, tiene como fin lograr un producto seco que pueda ser almacenado. Las pérdidas de nitrógeno que ocurren durante el proceso y su equivalencia en proteína son altas (35-40%), pudiendo contener patógenos viables el material una vez deshidratado (26, 33). En el secado artificial, también el producto obtenido es fácil de manejar, pero el equipo y los costos de energía son altos; este sistema se usa generalmente en zonas áridas y semiáridas (6).

Los tratamientos químicos incluyen el mezclado de las excretas con un bactericida biodegradable durante un periodo corto y el uso de disolventes para extraer la proteína. Se ha utilizado cuando los líquidos se pretenden recircular inmediatamente después de que se colecta de las fosas o el cárcamo. Los olores se controlan, pero se requiere de equipo de mezclado y los productos químicos utilizados generalmente son costosos o no siempre están disponibles en el mercado y resultan peligrosos para su manejo. En realidad estos sistemas no son costeables para emplearse en las granjas porcícolas (34).

La separación de sólidos y líquidos es un proceso que intenta recuperar el alimento no digerido de los residuos porcinos generados, un sistema que se usa en zonas donde el recurso agua es muy abundante. En cuanto a sus ventajas puede mencionarse que es un proceso mecanizado y los sólidos como ingredientes en la alimentación de cerdos y rumiantes tienen buena aceptación. Sus

desventajas son: alta pérdida de nutrientes, ya que la mayoría de éstos son solubilizados y se encuentran en la fracción líquida y no figuran en la fracción sólida; es adecuado sólo para grandes instalaciones; presenta altos costos de operación y mantenimiento y un alto costo inicial de inversión. Como menciona Iñiguez (1994), el sistema es costoso cuando se piensa en realizar este tipo de inversión sólo para recuperar una parte del estiércol de cerdo para emplearlo en la alimentación de los cerdos o rumiantes, esperando que la recuperación de la inversión sea a corto plazo. La realidad debe enfocarse hacia un sistema de separación de sólidos y líquidos que sea una alternativa más para el manejo del estiércol de cerdo a mediano y largo plazo, con fines de preservar el ambiente (35).

Los tratamientos biológicos incluyen el ensilaje para preservar los nutrimentos y la fermentación microbiana por métodos aerobios y anaerobios para degradar el nitrógeno no proteínico a proteína unicelular (microbiana), que puede ser utilizada por los no rumiantes y en mayor grado, por los rumiantes (6, 31, 34, 36, 37, 38, 39, 40, 41). El ensilaje pretende recircular las excretas como alimento; requiere sólo de una fuente de azúcares de fácil degradación para inducir el proceso, resultando en un método económico y sencillo que conserva y modifica de manera positiva las características nutritivas del estiércol, mediante un proceso fermentativo anaerobio. Las fuentes de carbohidratos de fácil fermentación que se pueden emplear para la elaboración de ensilados y que, algunas veces, son de uso común en una granja

porcina, además de que están disponibles todo el tiempo, incluyen el grano molido de sorgo y la melaza de caña, a razón de 10% y 8%, respectivamente (17). Para constatar que se ha obtenido un buen ensilado se necesita de la acción de lactobacilos que produzcan un descenso del pH a 4.5. El producto final es rico en ácido láctico y otros ácidos orgánicos, lo que disminuye el mal olor y la población de patógenos (6, 17, 42).

El tratamiento en lagunas de oxidación requiere de mucha agua y de una superficie extra de terreno para la laguna, lo que no siempre está disponible en una granja. Los olores se controlan, pero se hace necesaria la implementación de aireadores mecánicos y un monitoreo constante para determinar el grado de oxidación del material, siendo elevados los costos de operación por concepto de energía. Este sistema generalmente cuenta con un separador de sólidos-líquidos, con la intención de reutilizar el agua en la limpieza de las instalaciones (39). Sin embargo, en el fondo de la laguna de oxidación se va acumulando una porción de material (partículas finas) que no pueden retenerse en la malla del equipo de separación sólido-líquido, haciéndose a largo plazo insuficiente la oxigenación de la laguna. Por otra parte, llega un momento en que una buena cantidad del material acumulado en el fondo de la laguna recircula hacia las instalaciones de la granja, haciéndose notorio este residuo en los corrales (17).

Finalmente, cualquiera que sea el proceso que se utilice para dar un manejo a los desechos porcinos, el objetivo es reducir los costos de los sistemas comúnmente conocidos para controlar la

contaminación ambiental (35).

1.6 Riesgos relacionados con el empleo de estiércol como alimento

El estiércol animal ha sido usado satisfactoriamente en programas de alimentación animal por varios años, sin problemas significativos en la salud animal (8). Sin embargo, debido a un brote de influenza aviar que afecto fuertemente a la avicultura de México, existe una restricción para la movilización de las excretas de aves, propiciando que las de cerdo tengan mayor importancia en la alimentación del ganado de engorda (17).

Los siguientes agentes se consideran como posibles riesgos potenciales: virus, bacterias, parásitos, toxinas microbianas, arsenicales, antibióticos, hormonas, coccidiostatos, metales pesados, elementos traza (4, 36), antihelmínticos y nitrofuranos, que deben ser críticamente evaluados en el estiércol antes de que las excretas sean utilizadas como alimento (4).

Debido a que se desconoce el efecto que la presencia de estos agentes o sus residuos pudieran tener en los animales que consumen estiércol, se hace necesario realizar investigaciones adicionales que demuestren la seguridad del reciclaje de excretas como alimento (8) y que determinen si epidemiológicamente el estiércol animal puede actuar como un vector de enfermedades (43). Iñiguez (1993) menciona que el aprovechamiento del estiércol de cerdo, tanto en cerdos como en rumiantes, sin un tratamiento biológico o químico, es una práctica que se realiza en las granjas de México, pero por su experiencia recomienda una previa fermentación, para garantizar un producto libre de microorganismos potencialmente

patógenos. Sin embargo, simplemente el tratamiento no garantiza un producto completamente exento de microorganismos, ya que a esto se deben sumar las condiciones de manejo que posteriormente se le dan al producto tratado. En particular, los antecedentes de un manejo adecuado en la granja son más importantes, ya que no tiene sentido administrar a los animales un medicamento para combatir determinado patógeno, o incluso utilizarlo como medida preventiva, si en forma simultánea se ofrece un alimento microbiológicamente contaminado. Ante esta situación y por observación de crecimiento de hongos en ensilados elaborados con excretas porcinas, Alvarado (44) recomienda una evaluación micológica de los residuos porcinos antes y después de ser ensilados, asimismo, aconseja mezclar y utilizar los ensilados de excreta porcina con los demás ingredientes de la ración, dentro de los 15 días post-apertura, con el fin de evitar la formación de hongos, que puedan favorecer la presencia de trastornos digestivos o micotoxicosis.

Hasta el momento, no se ha evaluado adecuadamente a los hongos que se desarrollan en los residuos sólidos de excretas porcinas, lo que ha llevado a los investigadores a manifestar interés sobre el tema, por las consecuencias que la presencia de hongos en el alimento pueda tener.

1.7 Características de los hongos

Los hongos son organismos a los que se les ha reconocido como un grupo independiente del reino vegetal, para lo cual se ha constituido el reino Fungi. Estos organismos son eucariontes, es decir, que tienen núcleos bien definidos por membranas y que

tienen un número determinado de cromosomas, lo cual los diferencia de las bacterias. Los hongos son heterótrofos, por lo que pueden obtener compuestos orgánicos a través de sus actividades saprofiticas o parasíticas. Los hongos se diferencian entre sí casi exclusivamente por su morfología. En su mayoría están constituidos por estructuras tubulares llamadas hifas, las cuales, en algunas especies, pueden ser simples, complejas o formar lo que se conoce como micelio, mientras que otras especies son más complejas, como las llamadas setas u hongos superiores (45, 46). Para su reproducción necesitan temperaturas de -5°C a 60°C , humedad óptima $>60\%$ y pH con rango ácido a neutro. Son aerobios y raramente anaerobios; aprovechan nutrientes como los azúcares y celulosa (47, 48).

Gimeno(49) cita que los principales factores que favorecen el crecimiento de hongos son:

- ◆ Factores físicos; 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. Existen dos grandes unidades relacionadas con la cantidad de agua; la Humedad relativa de equilibrio (HRE), que es la cantidad de humedad de la disponen los microorganismos una vez alcanzado el equilibrio entre la humedad libre del producto y el vapor de agua existente en el medio ambiente que lo rodea y el Agua disponible (Aw); relación existente entre el agua libre en los alimentos y la capacidad de los microorganismos para proliferar. Así pues, los valores de humedad del sustrato

inferiores al 13%, lo que correspondería a una humedad relativa de equilibrio del 65% a 25-30°C (Cuadro 2), suelen presentar un crecimiento y proliferación fúngica bajos y a medida que la humedad aumenta el crecimiento y la proliferación fúngica se aceleran, pudiendo ser de forma exagerada para valores de humedad del 16%. La temperatura (°C) óptima para el desarrollo de los hongos se encuentra entre 25°C y 30°C y el límite máximo entre 40°C y 45°C, destacándose que la mayor parte de los hongos no crecen por debajo de 5°C; sin embargo, existen géneros como *Aspergillus flavus*, *A. candidus* y *A. fumigatus* que pueden crecer sin problema de los 10°C hasta los 55°C; *Penicillium expansum* y *P. cyclopium* que son capaces de crecer a 0°C, y *Fusarium*, a 15°C.

Cuadro 2. Relación entre la humedad de varios cereales y semillas y las diferentes HRE a una temperatura de 25-30°C*

% HR	Maíz, Trigo, Sorgo	Soya integral	Girasol integral
65	12.5-13.5	11.5	8.5
70	13.5-14.5	12.5	9.5
75	14.5-15.5	13.5	10.5
80	15.5-16.5	10	11.5
85	18-18.5	18	13.5

*Gimeno, A. 1999.

- ♦ Factores químicos; el pH que los hongos toleran, tiene un intervalo de 2.5 a 7.5; de modo general soportan mejor el medio ácido que el alcalino. Los hongos no son exigentes desde el punto de vista nutricional y se nutren de los micro y macroelementos del sustrato donde se desarrollan, siendo el

hierro y el cinc, los elementos más importantes para un desarrollo fúngico. La mayor parte de los hongos son aerobios y una carencia de oxígeno condiciona el crecimiento de los hongos. Por ejemplo, una atmósfera con 20-40% de dióxido de carbono, una temperatura reducida a 17°C o una humedad relativa reducida, evitan el desarrollo fungal e incluso de algunas aflatoxinas.

Este comportamiento se ha visto en el cacahuete.

- ♦ Factores biológicos: los insectos, como agentes de diseminación de la microflora, contribuyen al crecimiento y multiplicación de los hongos.

También, Gimeno (49) hace mención de tres tipos de flora fúngica: de campo, intermedia y de almacenamiento (Cuadro 3) y los géneros de hongos que suelen presentarse según la época climática (Cuadro 4).

Cuadro 3. Tipos de flora fúngica*

FLORA	HR %	T°C	O ₂ /CO ₂	GENERO
De campo	95	10-15	Aerobia	<i>Fusarium</i> <i>Cladosporium</i> <i>Alternaria</i> <i>Cephalosporium</i> <i>Helminthosporium.</i>
Intermedia	95	10-15	Aerobia	<i>Fusarium</i>
Almacenamiento	95	20-25	Anaerobia facultativa	<i>Penicillium</i> <i>Aspergillus</i> Mucorales (<i>Absidia</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Mucor</i>)

*Gimeno, A. 1999.

Cuadro 4. Desarrollo de algunos géneros de hongos dependiendo de la época climática*

GENERO	INVIERNO	VERANO	OTOÑO	PRIMAVERA
Levaduras	33-50%	59-40%	40%	29-80%
Penicillium	18%	13-26%	11%	14%
Aspergillus	1-56%	5-54%	1%	6-50%
Alternaria	0-0.9%	0-16%	0-96%	1-10%
Cladosporium	1%	5-10%	0-60%	0-95%
Mucorales	14-30%	4-53%	31-89%	16-40%

*Gimeno, A. 1999.

1.7.1 Relación hongo-micotoxina

La presencia de hongos en los alimentos no implica la producción de micotoxinas, ya que más allá de la capacidad genética del hongo es necesario que ciertos condicionantes sean satisfechos para que el hongo produzca la micotoxina. A su vez, se puede presentar la situación inversa, ya que las formas vegetativas y germinativas del hongo pueden ser inactivadas por procesos químicos o por alteración de los factores ecológicos, no ocurriendo lo mismo con las micotoxinas que permanecen en el sustrato. Los principales hongos productores de micotoxinas pueden crecer en los alimentos almacenados, siendo esta flora de almacenamiento la principal responsable del deterioro de cereales, piensos compuestos y otras materias primas. Entre los géneros más comunes están *Penicillium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Chaetomium globosum* y *Fusarium spp* (49).

1.7.2 Daños que una invasión fúngica descontrolada provoca en las materias primas y alimentos compuestos

- ♦ Modificación de las características organolépticas del alimento como olor desagradable, mal sabor, mal aspecto con decoloración y apelmazamiento.
- ♦ Deterioro y reducción de las características nutritivas del alimento permitiendo la disminución del valor proteico, energético y de almidones.
- ♦ Segregación masiva de enzimas que provoca reacciones de lisis fuertemente exotérmicas, lo que puede llegar a ocasionar explosiones e incendios por la acumulación del metano y otros gases inflamables en los silos.
- ♦ Reducción de peso de los productos almacenados (mermas).
- ♦ Contaminación de las materias primas y piensos compuestos por metabolitos secundarios tóxicos llamados micotoxinas, producidas por algunas especies y estirpes fúngicas con capacidad genética para producirlas.

1.7.3 Problemas que los hongos pueden provocar en animales

- ♦ Rechazo del alimento por parte de animales debido a la alteración de características organolépticas.
- ♦ Disminución del índice de transformación en el animal por una deficiencia nutritiva.
- ♦ Implantación de micosis en animales, con la producción de enfermedades y problemas, provocada por diferentes géneros como: *Aspergillus spp*, inapetencia, pérdida de peso, baja de crecimiento, abortos y ruptura de la lactación (cerdas), baja de postura, úlcera en molleja, disturbios intestinales y

mortalidad; *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. nidulans* y *A. niger*, aspergilosis pulmonar en aves; *Absidia spp*, *Mucor spp*, *Rhizopus spp*, mucormicosis intestinal, irritación de mucosas, diarreas, úlceras en molleja (producidas por *Mucor spp*), mucormicosis cutánea, trastornos intestinales en cerdos y conejos (*Absidia spp*); *Penicillium spp*, úlceras de molleja; *Scopulariopsis spp*, nefritis en aves, diarreas en cerdos; *Candida albicans*, candidiasis o Muget (aves) (49).

- ◆ Por otro lado, Taylor (50) menciona que hongos y cerdos conviven de manera favorable, pero los cerdos pueden sufrir las siguientes enfermedades fungales; a) micosis exclusivamente tegumentarias, como la tiña, causada por varios géneros, *Microsporum nanum*, *Microsporum canis* *Tricophyton mentagrophytes* y *T. Verrucosim*; b) micosis profundas, como la coccidiomicosis, causada por *Coccidioides immitis* (mayor incidencia en bovinos y perros); aspergilosis, causada por *Aspergillus spp*; mastitis micótica, causada por varios agentes fungales como: *Aspergillus spp*, *Candida albicans* y *Criptococcus neoformas*; c) micotoxicosis, enfermedades causadas por la ingestión de toxinas preformadas por el metabolismo de los hongos saprófitos que infectan al alimento, en especial los granos, como la aflatoxicosis causada por *Aspergillus flavus* o *Aspergillus parasiticus*, intoxicación por zearalenona, causada por la ingestión de la toxina F₂ de *Fusarium culmorum* y *Fusarium graminearum*, nefropatía micotóxica (ochratoxicosis) causada por *Aspergillus ochraceus* y *Penicillium viridicatum*.

1.8. JUSTIFICACIÓN

Las personas involucradas en la producción pecuaria cada vez están más conscientes del papel que tienen los hongos en la economía del proceso productivo y demandan información que les permita prevenir los problemas ocasionados por éstos y sus metabolitos tóxicos. Por esta razón y por observación de la presencia de hongos en alimento y residuos sólidos de excretas porcinas, cuando éstas se amontonan por determinado tiempo (44), es importante identificar los géneros de hongos existentes en el ambiente dentro de una granja porcina, analizando los cambios que se presentan o que prevalecen, tanto en el alimento como en heces, en residuos líquidos y residuos sólidos de las excretas porcinas, especialmente si las heces van a utilizarse como alternativa en la alimentación animal.

1.9. HIPÓTESIS

Las hipótesis de la presente investigación fueron:

1. La población de hongos es similar, en UFC/g, en las distintas áreas de una granja porcina y se modifica al cambiar las condiciones climatológicas del lugar.
2. Existe la misma población de hongos, en UFC/g, en la fracción líquida y sólida de los residuales porcinos.
3. Existe similar población de hongos, en UFC/g, en la fracción sólida después de diferentes tiempos de almacenamiento (1, 2, 3 y 4 días).

1.10. OBJETIVO GENERAL

- Determinar y caracterizar la población fúngal que prevalece en las épocas de invierno y primavera en el ambiente, alimento, heces, líquidos de los registros del drenaje y sólidos de excretas porcinas en una granja productora de lechones.

1.11. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la presencia de hongos en distintas áreas de una granja porcina, tomando muestras de alimento, heces frescas, ambiente y residuales.
- Identificar los géneros de hongos presentes.
- Determinar el medio y lugar dentro de una granja porcina con mayor carga fúngal.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 FASE DE CAMPO

2.1.1 Localización y descripción de la granja

Las muestras que se emplearon para el estudio fueron recolectadas en el CEIEPP Centro de Enseñanza Investigación y Extensión en Producción Porcina) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM (FMVZ-UNAM), ubicado en el km. 2 de la carretera Jilotepec-Corrales en Jilotepec, Edo. de México.

La región se encuentra a una altura de 2,250 m sobre el nivel del mar, con clima templado en verano y extremoso en invierno, con temperatura media de 18°C, variando entre 12°C y 24°C, y con un régimen de lluvias de junio a septiembre, con un promedio de precipitación pluvial de 608 mm, iniciando las heladas en octubre y prolongándose hasta marzo (51, 52). La granja se utiliza actualmente para la producción de lechones, aunque cuenta con instalaciones para ciclo completo, con una capacidad para 250 hembras en sistema intensivo, y cuenta con instalaciones para proyectos de investigación, laboratorio de reproducción, planta de alimentos y manejo de excretas (52).

2.1.2 Muestreo en la granja

Para la presente investigación se recolectaron muestras de las etapas de maternidad, gestación y reemplazos (finalización), por considerarse las áreas que generan mayores cantidades de excretas (cuadro 4) y con microclimas diferentes, lo cual se considera como un factor que influye en el crecimiento de hongos.

En cada una de las áreas mencionadas se realizó un muestreo para

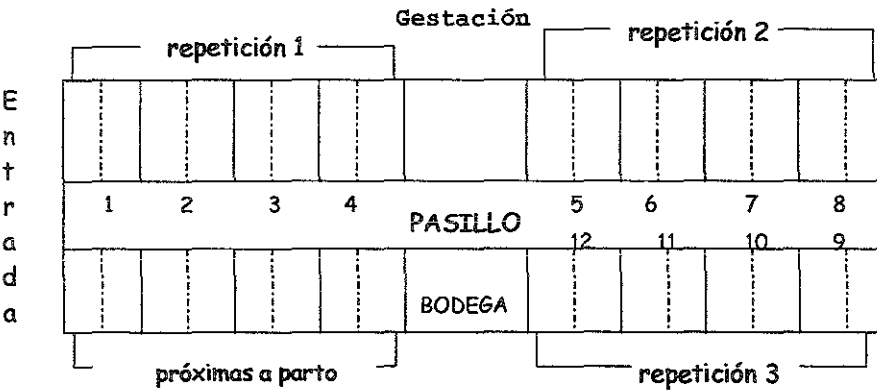
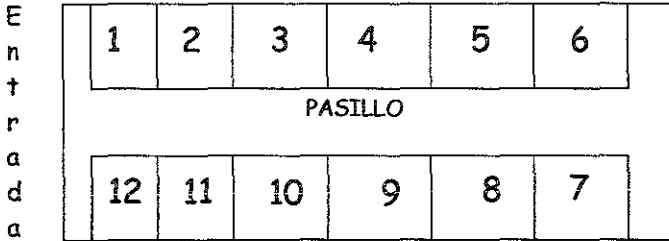
la determinación de hongos: 1) en alimento, 2) heces frescas, 3) medio ambiente de las salas, 4) residuos de los registros de drenaje y 5) residuales del estercolero o cárcamo (FSEP).

La metodología de muestreo fue la siguiente:

- 1) Maternidad, se tomaron muestras de tres salas con un promedio de 10 hembras por sala, considerándose cada sala como una repetición (Figura 1).
- 2) Gestación, se obtuvieron muestras de 12 corrales divididos en dos corraletas, con un promedio de 2 animales por corraleta, para formar tres repeticiones de cuatro corrales (Figura 1).
- 3) Reemplazos, se tomaron muestras de tres corrales divididos en dos corraletas, con un promedio de 5 animales por corraleta, para formar tres repeticiones de un corral (Figura 1).

Se consideró importante realizar el estudio en dos épocas del año, porque existen diferencias en distintas condiciones climáticas para el desarrollo de los hongos. Por lo tanto, los muestreos se realizaron en las épocas de invierno (enero-febrero) y primavera (abril-junio). La toma y el envío de las muestras al laboratorio se realizaron según los principios que marca Pascual (53) y que, a grandes rasgos, fueron los siguientes: 1) material usado en el muestreo: envases perfectamente limpios, secos y estériles y su tamaño guardó relación con la muestra que se tomó; 2) esterilización: el material usado en el muestreo para análisis microbiológico se esterilizó previamente con el método de calor de calor húmedo (autoclave); 3) condiciones para el muestreo: a) el alimento se muestreó tomando porciones de distintas zonas con

Maternidad



Reemplazos

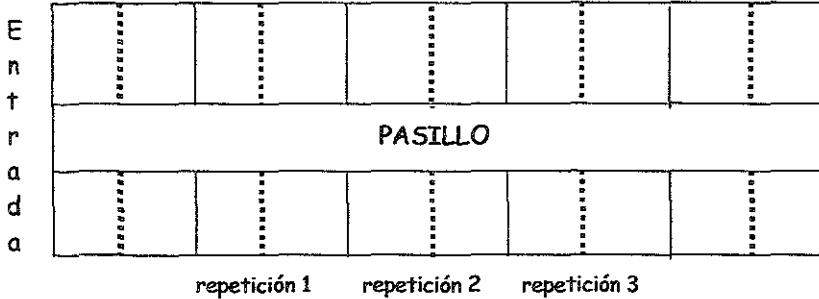


Figura 1. Diagrama de muestreo en las diferentes áreas de la granja

Maternidad = 12 jaulas parideros cada una con un promedio de 10 hembras; se utilizaron 3 naveas similares a la que se graficó.
 Gestación = tres repeticiones conformadas por cuatro corrales, subdivididos en 2 caletas con un promedio de 2 animales por corraleta.
 Reemplazos = tres repeticiones conformadas por tres corrales, subdivididos en 2 caletas con un promedio de 5 animales por corraleta.

material estéril y pasándolas, asépticamente, a envases esterilizados; b) los líquidos se agitaron en sus envases y se pasaron, asépticamente, a recipientes estériles; c) para los sólidos se tomaron muestras de varias zonas y se introdujeron, asépticamente, en recipientes estériles; 4) preparación de la muestra para su envío al laboratorio: obtenidas las muestras, se etiquetaron y marcaron con los siguientes datos: fecha, época de muestreo, etapa de producción muestreada, tipo de muestra, número de bloque y repetición; 5) transporte y conservación de las muestras: las muestras se mantuvieron en refrigeración o congelación, según se requiriera cabe señalar que el tiempo transcurrido entre la toma de muestras y el comienzo del análisis en el laboratorio fue menor a 6 horas, para que en los resultados se reflejara la flora que, estuvo presente. En forma cualitativa y cuantitativa al momento del muestreo.

El procesamiento de las muestras en el laboratorio se realizó según lo que marca la norma NOM-111-SSA-1994 "Bienes y Servicios: acerca del Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos" (54). La norma indica el método general para determinar el número de mohos y levaduras viables presentes en productos destinados al consumo humano por medio de la cuenta en placa a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

2.1.3 Muestreo de alimento

En la época de invierno las áreas de maternidad muestreadas fueron las salas 1, 3 y 4. Se tomaron aproximadamente 100 g de alimento de cada uno de los comederos tipo tolva de las jaulas de

maternidad ocupadas y se colocaron en una cubeta para homogenizar todo el alimento de una sala. Utilizando el método de cuarteo, se tomaron 100 g de esta muestra compuesta y colocaron en una bolsa de plástico, identificada y sellada para trasladarla al laboratorio. El alimento se conservó a temperatura ambiente. En la época de primavera se dispuso únicamente de las salas 1 y 4 (por motivos de manejo de la misma granja) y se obtuvieron dos repeticiones.

En el área de **gestación y reemplazos** se tomó el alimento de todos los comederos correspondientes a cada una de las repeticiones, recolectando el alimento directamente de las tolvas de la misma manera como se realizó en maternidad. Las muestras de cada repetición se colocaron en una cubeta, se homogenizaron y, por el método de cuarteo, se obtuvo una muestra representativa de aproximadamente 100 g, que se manejó según lo descrito anteriormente.

2.1.4 Muestreo de heces

Se muestrearon rectalmente a cinco hembras por sala en el área de **maternidad**; en el área de **gestación**, se muestreó una hembra, elegida al azar, de cada una de las corraletas que formaron la repetición; y en el área de **reemplazos**, a todos los animales que conformaron las tres repeticiones de muestreo. Las muestras se colocaron en una bolsa de polietileno por repetición y se homogenizaron, empleando un abatelenguas o una cuchara de plástico desechable. De esta muestra compuesta se tomaron 100 g, que se depositaron en un frasco de vidrio esterilizado e identificado

previamente en el laboratorio. Una vez obtenidas las muestras, éstas se conservaron en refrigeración por no más de 6 horas, utilizando una hielera y congelantes, hasta que se tuvieran en el laboratorio para ser procesadas.

2.1.5 Muestreo de líquidos de los registros de drenaje

Los registros de drenaje captan los desechos que se acumulan en las fosas que se encuentran por debajo de la superficie donde se alojan los cerdos. Estas superficies consisten en pisos de rejilla, como el área de maternidad, o "slats", como el área de reemplazos y gestación. En los registros se acumulan los desechos líquidos y sólidos de los cerdos y se cuenta con una puerta de salida hacia un drenaje común de toda la granja, para almacenarse en la fosa del área del cárcamo, después del cual se encuentra un separador de sólidos tipo cascada.

La metodología para obtener las muestras fue la siguiente: se recolectaron los líquidos empleando una asa de madera unida a un vaso de plástico, con la finalidad de poder introducirlo hacia la profundidad y mezclar los residuos varias veces. Se tomaron muestras de los residuos que se encontraban cerca de las paredes y del centro del registro, recolectando el material en bolsas de polietileno, homogenizándose empleando una cuchara de plástico desechable. Se tomaron 100 g de esta muestra que se depositaron en un frasco de vidrio esterilizado. Las muestras se conservaron en refrigeración, para su posterior procesamiento en el laboratorio.

En las áreas de **gestación y reemplazos**, los muestreos de los registros se realizaron en cada corral, levantándose uno o dos

"slats" y utilizando la misma metodología ya descrita para la recolección de los líquidos.

2.1.6 Muestreo del ambiente

El muestreo se realizó utilizando cajas de Petri estériles, desechables, que previamente se prepararon en el laboratorio con medio de cultivo agar papa dextrosa. En las salas de **maternidad** se colocaron diagonalmente dos cajas de Petri por sala, en un escalón que se encuentra en ambos extremos de la sala. Las cajas se expusieron al ambiente por 30 minutos, al cabo de los cuales se taparon e identificaron. Las cajas se conservaron en refrigeración para su traslado al laboratorio e introducir las en la incubadora.

En las áreas de **gestación y reemplazos** se dividieron las salas en dos secciones y en cada sección se colocaron dos cajas de Petri, preparadas previamente, en disposición diagonal, sobre la parte superior de las bardas divisoras que existen. Con esto se obtuvo un muestreo general del área. Estas cajas también se expusieron al ambiente durante 30 minutos y se conservaron en refrigeración.

Además, se registraron las variables de temperatura y humedad empleando un termo-higrómetro digital (display doble Taylor 1406). Las lecturas de temperatura y humedad relativa máxima y mínima se registraron dos días antes (tempmax3, tempmin3, tempmax2, tempmin2, hummax3, hummin3, hummax2, hummin2) y el día que se tomaron las muestras (tempmax1, tempmin1, hummax1, hummin1).

Se utilizaron tres termo-higrómetros; cada uno se colocó dos días anteriores al día de muestreo en cada una de las salas de las áreas correspondientes. En el caso de maternidad, se empleó uno

por sala y en gestación y reemplazos se empleó uno por área. Los aparatos se colocaron a la mitad de las salas sobre la pared.

2.1.7 Muestreo de los sólidos del cárcamo (FSEP)

En esta granja existe un separador de sólidos tipo cascada para la recolección de la fracción sólida de las excretas. Los líquidos se canalizan hacia fosas de almacenamiento y una parte de los sólidos se emplean en la alimentación, tanto de cerdos como de pequeños rumiantes, en otras unidades de producción de la FMVZ (44).

Los sólidos son depositados en un área con piso de cemento de 4 x 12 m y se van acumulando día con día, para después ser utilizados para la preparación de ensilado para pequeños rumiantes.

Para obtener las muestras de los sólidos, se acumularon en el cárcamo por dos semanas las excretas que se producen en la granja. Al cabo de estas dos semanas, se separaron aproximadamente 150 kg de sólidos y se formaron tres pequeños montones de 45 kg de esta fracción, colocándose en un rodete de triplay de 1 m de diámetro y 10 cm de altura.

En ambas épocas de estudio (invierno y primavera) se integraron tres montones con las características descritas; éstos permanecieron acumulados sobre el piso de cemento durante 1,2,3 y 4 días, y fueron cubiertos con una malla de plástico para evitar que las aves o moscas alteraran los montones. Al terminar el período de acumulación, se retiró el rodete, los montones se dividieron en dos mitades con una pala y se tomaron muestras de las áreas que mostraron crecimiento fungal. Estas muestras se

depositaron en un frasco de vidrio previamente esterilizado e identificado y se conservaron en refrigeración hasta su arribo al laboratorio. También se tomaron muestras de sólidos para determinar la materia seca (MS%) y pH, conservando estas muestras en congelación una vez que llegaron al laboratorio (55).

También se registraron las variables ambientales durante los diferentes días de acumulación, así como la longitud y altura de las áreas que mostraron crecimiento fungal.

2.2 FASE DE LABORATORIO

El proceso de cultivo, cuantificación e identificación de las muestras se realizó en el laboratorio de Micología de la Dirección de Sanidad Vegetal de la SAGAR.

Las muestras conservadas en refrigeración se trasladaron al laboratorio, en donde se realizó la técnica de determinación del número de microorganismos por recuento en placa (Anexo I) por gramo de muestra, empleando diluciones 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} (54,56). El procedimiento general que se siguió fue el siguiente:

- 1) Se pesó un gramo de cada una de las muestras (balanza granataria Biocientífica modelo ADA 120/L)
- 2) Se colocó en un tubo de ensaye con tapón de rosca (15X150) con 9 partes de agua destilada.
- 3) A partir de la primera dilución 10^{-1} , se realizaron diluciones 10^{-2} y 10^{-3} , empleando pipetas Pasteur de vidrio de 150 mm.
- 4) Una vez realizadas las diluciones se sembró en campana para cultivo (Forma Scientific; 1102 S/N 141 73-302) 1 ml en cajas de Petri de 100X15 mm, estériles, desechables (SyM

laboratorios), cada una con su repetición.

5) La incubación de cajas se realizó por 7 días a una temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ (estufa para cultivo con termostato: FANEM LTDA, rectilínea).

El medio de cultivo que se utilizó fue PDA (agar papa dextrosa, Bionox, cont. neto 450 g), acidificado con ácido tartárico al 10%, a un pH de 3.5, y preparado según las instrucciones del fabricante; el mismo día que se efectuaron las diluciones se realizó la siembra.

Para identificar los géneros de hongos que crecieron en las cajas de Petri se hicieron laminillas semipermanentes y permanentes. Las primeras se prepararon (empleando cobre y portaobjetos) con solución de lactofenol azul de algodón y las permanentes con azul de algodón y cera histológica. La diferencia entre las técnicas es el tiempo de conservación (47,57). Los hongos se identificaron con la ayuda de un microscopio compuesto (Zeiss Germany) (58). Después de la identificación, se cuantificaron las unidades formadoras de colonias por gramo de muestra (UFC/g), de alimento, heces frescas, líquidos de los registros y sólidos y por m^3 (UFC/ m^3) para ambiente, haciendo las observaciones en microscopio estereoscópico de fondo oscuro (Zeiss Germany STEMI SV6) y cuantificadas con el método de cuadrante (Anexo I) (54,56).

Se determinó la materia seca de las muestras de alimento y de sólidos por deshidratación en estufa de aire forzado a 100°C por 24 horas (55). También se realizó lectura de pH de las muestras de heces, líquidos de los registros y fracción sólida de excretas

porcinas con el método de determinación de pH de ensilajes (55), empleando un vaso de precipitado con 5 g de muestra diluidos en 50 ml de agua destilada, agitando y dejando reposar por 15 min. , al cabo de los cuales se realizó la lectura de pH con un potenciómetro (Conductronic medidor de pH portátil, modelo pH10).

I I I . ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para analizar los datos de las muestras de alimento, heces, líquidos de los registros del drenaje, ambiente y sólidos se hicieron transformaciones logarítmicas (\log_{10}) de las UFC/g, debido a que éstas no presentan una distribución normal; además se emplearon los resultados de la dilución 10^{-2} , por ser la dilución que permitió la mejor lectura de las colonias (59).

El análisis de varianza correspondió a un diseño de bloques completamente al azar, empleando como criterio de bloqueo a la época del año (invierno: enero-febrero; primavera: abril-junio). Los tratamientos fueron las áreas de maternidad, gestación y reemplazos, cada una con tres repeticiones. La comparación entre medias se realizó con la prueba de Tukey, con 95% de confianza (significancia $P < 0.05$). Para el análisis de las UFC/g en los sólidos de excretas porcinas se utilizó un diseño completamente al azar con el efecto de acumulación (1-4 días) como fuente de variación. Asimismo, se correlacionó a las UFC/g de las diferentes muestras y por época con las variables de temperaturas ambientales y humedades relativas máximas y mínimas obtenidas en las diferentes áreas durante el estudio, así como con las lecturas de pH (heces, líquidos de los registros y fracción sólida de las excretas porcinas), longitud y altura (fracción sólida de las excretas porcinas) y MS (alimento).

Los análisis se realizaron con el paquete estadístico SAS (1985), utilizando el procedimiento de modelo general lineal (PROC GLM) para los análisis de varianza y el (PROC CORR) para las

correlaciones (60).

IV. RESULTADOS

Como los análisis se realizaron con el \log_{10} de las UFC, los resultados se presentan en sus unidades originales (UFC) y en \log_{10} entre paréntesis.

4.1 Alimento

El análisis de varianza (Cuadro 5) indicó que se presentaron diferencias en las UFC/g entre las etapas ($P < 0.01$), pero no hubo efecto de la época del año. El alimento en el área de maternidad [8,859 (3.9102^a)] tuvo una mayor ($P < 0.05$) concentración de hongos que en el área de reemplazos [1,167 (2.933^b)], pero no se vieron diferencias con el área de gestación [3,000 (3.3650^{a,b})] (cuadro 6). El porcentaje promedio de humedad del alimento para las épocas de estudio fue el siguiente: M = 11.4 ± 2.07; G=14.33 ± 5.50; R=11.66 ± 1.75. En el Anexo II, se muestran los valores de humedad del alimento que se utilizaron en las correlaciones.

Cuadro 5. Análisis de varianza para las unidades formadoras de colonias (UFC/g) en el alimento

Fuente de variación	GL	Cuadrados medios	F	P>F
Época	1	0.2891	2.03	NS*
Etapas	2	1.2887	9.03	0.0035
<u>Error</u>	<u>13</u>	0.1426		
Total	16			

*NS= no significativo ($P > 0.05$)

Cuadro 6. Unidades formadoras de colonias (UFC/g) en el alimento por etapa productiva

	Log ₁₀ UFC	UFC/g
ETAPAS	Media ¹ ± EEM ²	Media ¹ ± EEM
Gestación	3.3650 ± 0.1541 ^{a,b}	3,000.00 ± 1,278.14
Maternidad	3.9102 ± 0.1699 ^a	8,859.52 ± 1,408.44
Reemplazos	2.933 ± 0.1541 ^b	1,166.66 ± 1,278.14

¹ Medias de cuadrados mínimos.

² Error estándar de la media.

^{a, b} Medias con literales distintas son estadísticamente diferentes (P<0.05).

4.2 Heces y líquidos de registros

El análisis de varianza no mostró diferencias ni por época del año ni por etapa de producción para las heces (Cuadro 7) o para los líquidos de los registros (Cuadro 8). El promedio de UFC/g en heces fue de 2,172(3.22) y en el líquido de los registros, de 1,626 (3.07). El pH promedio de las heces y de líquidos durante todo el estudio fue de 7.09 ± 0.98 y 7.64 ± 0.64, respectivamente. En el Anexo III se encuentran los valores de pH que se utilizaron para las correlaciones.

Cuadro 7. Análisis de varianza para las unidades formadoras de colonias (UFC/g) de heces

Fuente de variación	GL	Cuadrados medios	F	P>F
Época	1	0.3722	2.55	NS*
Etapa	2	0.0574	0.39	NS*
<u>Error</u>	<u>13</u>	0.1459		
Total	16			

*NS= no significativo

Cuadro 8. Análisis de varianza para las unidades formadoras de colonias (UFC/g) de los líquidos de los registros

Fuente de variación	GL	Cuadrados medios	F	P>F
Época	1	0.2424	1.49	NS*
Etapas	2	0.0007	0.00	NS*
<u>Error</u>	<u>13</u>	0.1628		
Total	16			

*NS= no significativo

4.3 Medio ambiente

El análisis de varianza mostró tanto un efecto de época ($P < 0.03$) como de etapa de producción ($P < 0.01$) para la concentración de hongos en el medio ambiente (Cuadro 9). En el invierno hubo más UFC/m³ [54 (1.3926^a)] que en primavera [15 (1.3008^b)] (Cuadro 10) y en el área de reemplazos [50 (1.7651^b)] más que en gestación [24 (1.2912^b)] y maternidad [31.57 (1.2838^b)] (Cuadro 10).

Cuadro 9. Análisis de varianza para las unidades formadoras de colonia (UFC/m³) en el ambiente

Fuente de variación	GL	Cuadrados medios	F	P>F
Época	1	0.4950	5.45	0.0291
Etapas	2	0.5577	6.14	0.0076
<u>Error</u>	<u>22</u>	0.0908		
Total	25			

Cuadro 10. Unidades formadoras de colonias (UFC/m³) en el ambiente por época del año y por etapa productiva

	Log ₁₀ UFC	UFC/g
EPOCAS	Media ^a ± EEM ^a	Media ^a ± EEM
Invierno	1.3926 ± 0.086 ^a	54 ± 9.63
Primavera	1.3008 ± 0.088 ^b	15 ± 10.29
ETAPAS		
Gestación	1.2912 ± 0.107 ^b	24 ± 12.61
Maternidad	1.2838 ± 0.097 ^b	31 ± 11.36
Reemplazos	1.7651 ± 0.115 ^a	50 ± 12.61

¹ Medias de cuadrados mínimos.

² Error estándar de la media.

^{a, b} Medias con literales distintas, por época y por etapa son estadísticamente diferentes (P<0.05).

El promedio y desviación estándar (D.E) de las temperaturas ambientales y humedades relativas registradas en el ambiente por época y por etapa de producción se presentan en el Cuadro 11.

Cuadro 11. Promedio y D.E de las temperaturas ambientales y humedades relativas registradas en el ambiente por época del año y etapa productiva

INVIERNO	°C	HRE %
Maternidad	17.5 ± 5.4	51.8 ± 19.1
Gestación	20.3 ± 10.5	33.0 ± 12.4
Reemplazos	16.2 ± 8.9	43.2 ± 26.9
<hr/>		
PRIMAVERA	°C	HRE %
Maternidad	21.5 ± 0.5	41.0 ± 0
Gestación	22.8 ± 4.9	56.50 ± 15.5
Reemplazos	20.3 ± 5.0	59.33 ± 7.8

4.4 Sólidos

El análisis de varianza señaló un efecto de época de año y de días de acumulación de los sólidos de excretas porcinas ($P < 0.01$) (Cuadro 12) para el crecimiento de hongos. Hubo más UFC/g en el invierno [22,317 (3.792^a)] que en la primavera [1,833 (3.243^b)]. En la Fig.2 se muestra el crecimiento de hongos durante los diferentes días de acumulación de la fracción sólida. Puede apreciarse que con 2 días de acumulación la población de hongos disminuyó, presentando un ligero aumento en el crecimiento hacia los 4 días de acumulación, cuando el número de UFC/g ya no fue diferente del día 1.

Cuadro 12. Análisis de varianza para las unidades formadoras de colonia (UFC/g) de sólidos de excretas porcinas

Fuente de variación	GL	Cuadrados medios	F	P>F
Época	1	1.8040	9.41	0.0063
Día	3	1.1602	6.05	0.0045
<u>Error</u>	<u>19</u>	0.1916		
Total	23			

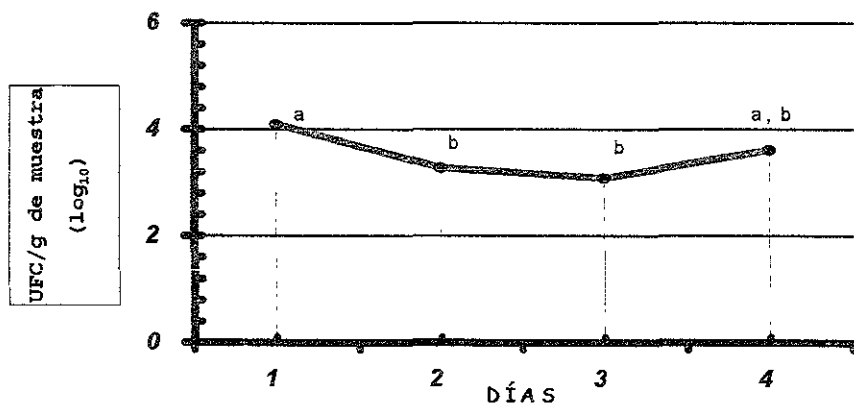


Figura 2. Comportamiento del crecimiento de hongos en los sólidos de excretas porcinas (UFC/g en \log_{10}) que permanecieron acumulados de 1 a 4 días

Las temperaturas ambientales ($T^{\circ}\text{C}$) y humedades relativas (HRE) durante los días de acumulación, se muestran en el siguiente cuadro:

Cuadro 13. Temperaturas ambientales y humedades relativas durante los días de acumulación

INVIERNO	$^{\circ}\text{C}$		HR%	
Día 1	10.0	\pm 5.7	43.0	\pm 28.3
Día 2	10.5	\pm 9.3	54.2	\pm 12.8
Día 3	9	\pm 7.4	34.0	\pm 10.7
Día 4	9.5	\pm 7.9	38.9	\pm 13.6
PRIMAVERA	$^{\circ}\text{C}$		HR%	
Día 1	14.5	\pm 6.4	73.5	\pm 34.6
Día 2	13.2	\pm 6.1	54.5	\pm 11.2
Día 3	13.4	\pm 6.7	65.0	\pm 8.3
Día 4	12.5	\pm 5.4	59.7	\pm 17.7

El promedio y la desviación estándar de los resultados de base húmeda (H%), pH, longitud de crecimiento fungal(cm) y altura de crecimiento fungal(cm) en los montones con sólidos de excretas porcinas en los distintos días de acumulación se muestran en el siguiente cuadro:

Cuadro 14. Promedio y D.E de los resultados de base humedad, pH, longitud y altura en los montones con sólidos de excretas porcinas a diferentes días de acumulación en las épocas de estudio

INVIERNO

DÍA	H%	pH	Long (cm)	altura (cm)
1	44.9 ± 0.1	6.7 ± 0.2	10.7 ± 16	17.7 ± 2.1
2	54.5 ± 1.7	7.8 ± 1.0	19.7 ± 14.8	15.0 ± 3.0
3	48.8 ± 3.9	8.9 ± 0.1	35.3 ± 11.1	13.5 ± 1.6
4	51.1 ± 18.9	8.2 ± 0.9	47.8 ± 9.0	9.7 ± 0.6

PRIMAVERA

DÍA	H%	pH	Long (cm)	Altura (cm)
1	44.3 ± 1.5	10.0 ± 0.1	4.3 ± 4.0	13.7 ± 0.7
2	60.7 ± 2.1	8.3 ± 0.1	87.0 ± 8.9	17.3 ± 2.3
3	45.7 ± 3.1	8.6 ± 0.1	76.7 ± 17.5	16.0 ± 1.0
4	48.0 ± 1.7	8.3 ± 0.1	37.7 ± 15.9	12.3 ± 1.1

4.5 Correlaciones

El análisis de correlación reveló que en el invierno, la tempmax 3

tuvo una asociación negativa (-0.706 , $P < 0.05$) con las UFC/g de alimento, mientras que la tempmin 2 (0.727) y la tempmin 1 (0.765) se correlacionaron positivamente ($P < 0.05$) (Cuadro 15).

La asociación también fue positiva entre las UFC/g de alimento y la humedades mínimas 3 días antes (0.823 , $P < 0.01$), 2 días antes (0.821 , $P < 0.01$) y el día de muestreo (0.714 , $P < 0.05$) (Cuadro 15).

Para las UFC/g de heces sólo se encontraron asociaciones positivas con tempmin 1 (0.725 , $P < 0.05$) y hummin 1 (0.721 , $P < 0.05$), mientras que para las UFC/g de líquidos de los registros la correlación fue negativa (-0.765 , $P < 0.05$) con hummax 1 (Cuadro 15).

En la primavera, la tempmin 1 tuvo una fuerte correlación positiva (0.931 , $P < 0.001$) con las UFC/g de alimento, mientras que hummin 3 (-0.846 , $P < 0.01$) y hummin 2 (-0.917 , $P < 0.01$) se correlacionaron negativamente con el crecimiento de hongos en el alimento. En el ambiente el crecimiento de hongos se correlacionó negativamente con tempmin 3 (-0.85 , $P < 0.001$) y tempmin 1 (-0.707 , $P < 0.05$) y positivamente con hummax 3 (0.649 , $P < 0.05$), hummax 2 (0.607 , $P < 0.05$), hummin 2 (0.872 , $P < 0.001$) y hummin 1 (0.676 , $P < 0.05$) (Cuadro 15).

El crecimiento de hongos en las excretas acumuladas 1,2,3 y 4 días estuvo correlacionado con:

Día 1: pH (-0.99 , $P < 0.0001$) (Fig.3) y altura (0.86 , $P < 0.05$) (Fig.4).

Día 2: no hubo correlaciones significativas.

Día 3: no hubo correlaciones significativas.

Día 4: temperatura ambiental y humedad relativa (-0.93 , $P < 0.01$).

Cuadro 15. Correlaciones entre las UFC/g en el alimento, heces y líquidos de los registros y UFC/m³ en el ambiente con las variables ambientales dentro de las salas de producción durante el experimento

I N V I E R N O

P R I M A V E R A

Variable	UFC/g alimento	UFC/g heces	UFC/g líquidos registros
Tempmax 3	-0.706 *	NS	NS
Tempmin 3	NS [⊖]	NS	NS
Tempmin 2	0.727 *	NS	NS
Tempmin 1	0.765 *	0.725 *	NS
Hummax 3	NS	NS	NS
Hummin 3	0.823 **	NS	NS
Hummax 2	NS	NS	NS
Hummin 2	0.821 **	NS	NS
Hummax 1	NS	NS	-0.765 *
Hummin 1	0.714 *	0.721 *	NS

UFC/g alimento	UFC/m ³ ambiente
NS	NS
0.931 ***	-0.85 ***
NS	NS
NS	-0.707 *
NS	0.649 *
-0.846 **	NS
NS	0.607 *
-0.917 **	0.872 ***
NS	NS
NS	0.676 *

- ⊖Tempmax 3= temperatura máxima registrada tres días antes del muestreo.
 Tempmin 3= temperatura mínima registrada tres días antes del muestreo.
 Tempmin 2= temperatura mínima registrada dos días antes del muestreo.
 Hummax 3= humedad relativa máxima registrada tres días antes del muestreo.
 Hummin 3= humedad relativa mínima registrada tres días antes del muestreo.
 Hummax 2= humedad relativa máxima registrada dos días antes del muestreo.
 Hummin 2= humedad relativa mínima registrada dos días antes del muestreo.
 Hummax 1= humedad relativa máxima registrada el día del muestreo.
 Hummin 1= temperatura mínima registrada el día del muestreo.

⊙ NS= correlación no significativa (P>0.05)

* (P<0.05)

** (P<0.01)

*** (P<0.001)

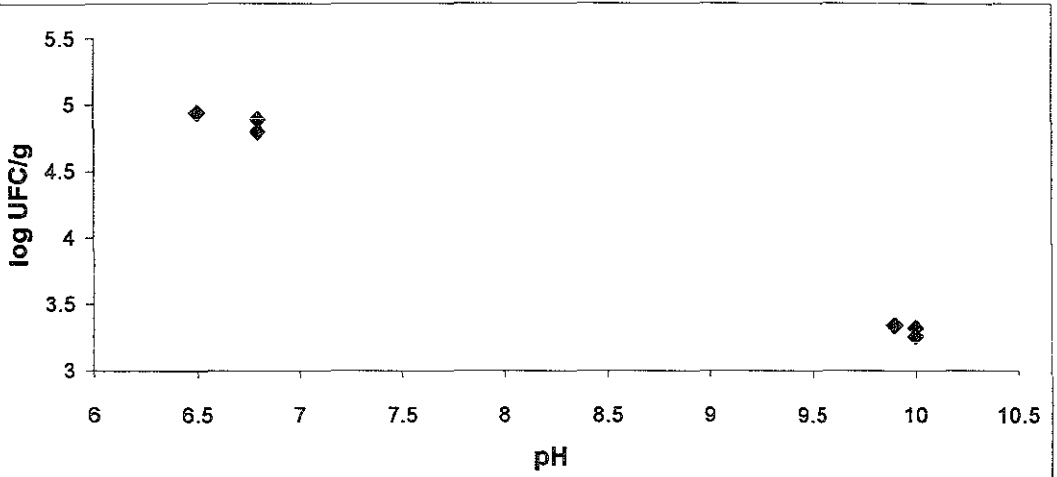


Fig. 3 Correlación de las UFC/g y el pH de los sólidos de excreta porcina acumulados durante 1 día.

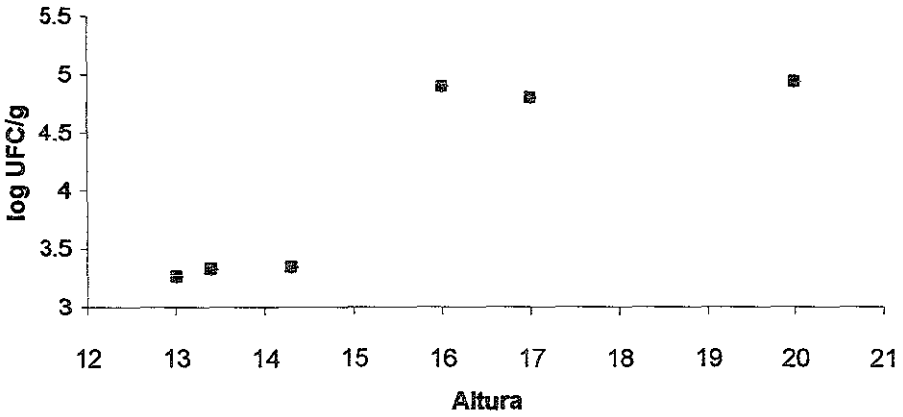


Fig. 4 Correlación de las UFC/g y la altura de crecimiento de hongos en los sólidos de excreta porcina acumulados durante 1 día.

1.6 Géneros identificados

En los Cuadros 16 y 17 se pueden observar los géneros de hongos encontrados en las diferentes muestras durante el experimento.

Cuadro 16. Géneros de hongos identificados en las muestras de ambiente, alimento, heces, y líquidos de los registros de las distintas etapas productivas durante las épocas de invierno y primavera

INVIERNO	ETAPA	MUESTRA	GÉNEROS *	
	Maternidad	Ambiente	<i>Aspergillus, Absidia</i>	
		Alimento	<i>Absidia, Penicillium, Rhizopus, no-fructíferas, Aspergillus</i>	
		Heces	<i>Absidia, Cladosporium</i>	
		Residuos	<i>Absidia, Mucor, Aspergillus, Rhizopus</i>	
	Gestación	Ambiente	<i>Aspergillus, Absidia, Trichoderma, no-fructíferas, Penicillium</i>	
		Alimento	<i>Trichoderma, Aspergillus, Penicillium, Gliocadium</i>	
		Heces	<i>Rhizopus, Levaduras blancas, Absidia</i>	
		Líquidos	<i>Absidia, Penicillium</i>	
	Reemplazos	Ambiente	<i>Trichoderma, Cladosporium, Alternaria, Penicillium, Aspergillus</i>	
		Alimento	<i>Rhizopus, Penicillium, Aspergillus</i>	
		Heces	<i>Mucor, Absidia, Rhizopus, Penicillium, Aspergillus</i>	
		Líquidos	<i>Rhizopus, Penicillium</i>	
	PRIMAVERA	ETAPA	MUESTRA	GÉNEROS *
		Maternidad	Ambiente	<i>No-fructíferas, Stemphylium, Mucor</i>
			Alimento	<i>No-fructíferas, Penicillium</i>
			Heces	<i>No-fructíferas, Rhizopus, Absidia</i>
Líquidos			<i>No-fructíferas, Aspergillus, Rhizopus</i>	
Gestación		Ambiente	<i>Alternaria, Aspergillus, Penicillium</i>	
		Alimento	<i>Penicillium, Aspergillus</i>	
		Heces	<i>Aspergillus, Trichoderma, No-fructíferas, Absidia, Mucor</i>	
		Líquidos	<i>Penicillium, Geotrichum, No-fructíferas, Mucor, Absidia, Aspergillus, Trichoderma</i>	
Reemplazos		Ambiente	<i>Alternaria, Penicillium, No-fructíferas</i>	
		Alimento	<i>Mucor, No-fructíferas, Rhizopus, Penicillium, Aspergillus</i>	
		Heces	<i>Penicillium, No-fructíferas</i>	
		Registros	<i>No-fructíferas, Absidia</i>	

Géneros citados en orden decreciente.

Cuadro 17. Géneros de hongos identificados en las muestras de sólidos de excretas porcinas durante las épocas de invierno y primavera

INVIERNO	DÍA	GÉNEROS *
	1	<i>Aspergillus</i>
	2	<i>Rhizopus, Aspergillus, Penicillium</i>
	3	<i>Penicillium, no-fructíferas</i>
	4	<i>Absidia, Aspergillus</i>

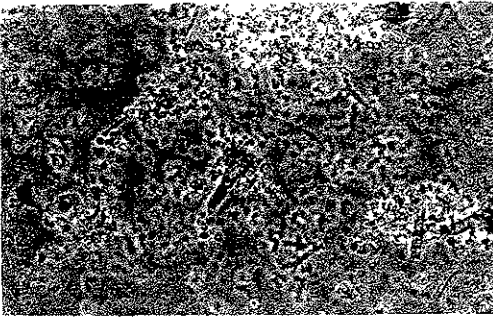
PRIMAVERA	DÍA	GÉNEROS *
	1	<i>Aspergillus, Rhizopus, Absidia, Penicillium</i>
	2	<i>Absidia, no-fructíferas, Levaduras blancas</i>
	3	<i>No-fructíferas, Aspergillus, Absidia, Penicillium</i>
	4	<i>Aspergillus, Absidia, Rhizopus</i>

*Géneros citados en orden decreciente

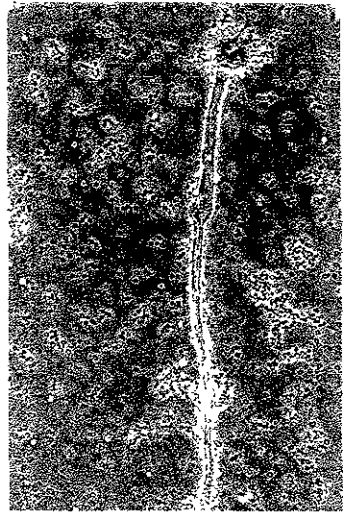
Los géneros encontrados, de mayor a menor concentración, fueron: *Aspergillus spp* (Fig.5), *Absidia spp* (Fig.6), *Penicillium spp* (Fig.7), no-fructíferas (Fig.8), *Rhizopus spp* (Fig.9), *Cladosporium spp*, *Mucor spp* (Fig.10), *Trichoderma spp*, *Alternaria spp* (Fig.11), *Geotrichum spp*, *Gliocadium spp*, *Stemphylium spp* (Fig.12) y levaduras blancas. La descripción de los géneros se muestra en el Anexo IV.



A



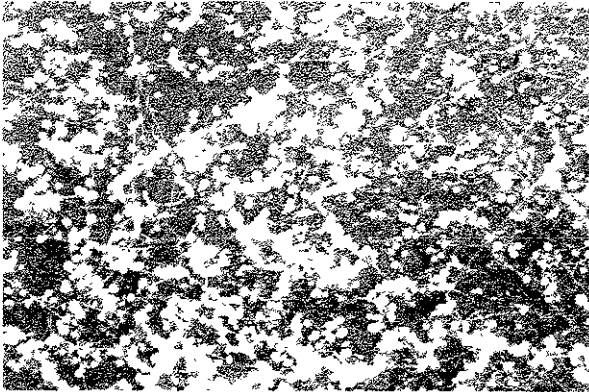
B



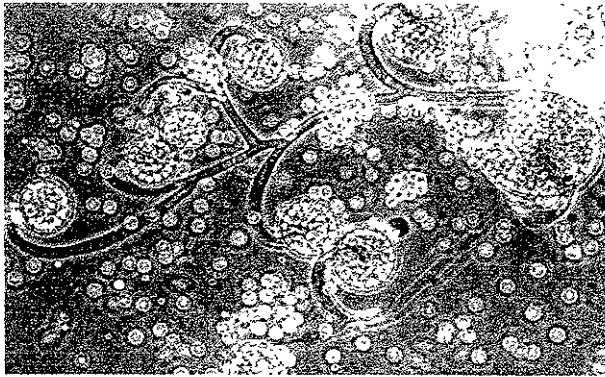
B

Fig. 5 Aspergillus spp

(A vista macroscópica, B vista microscópica)

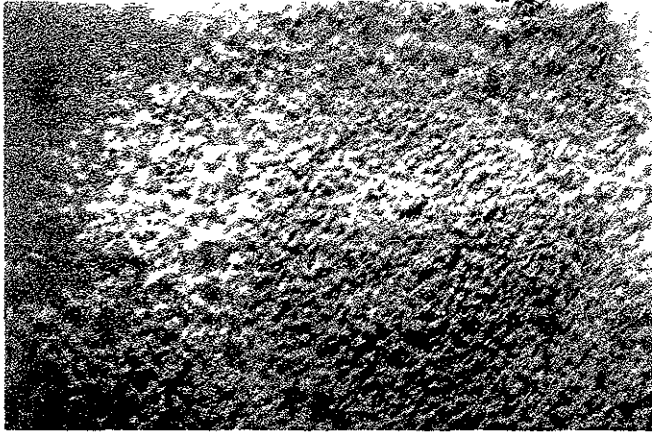


A

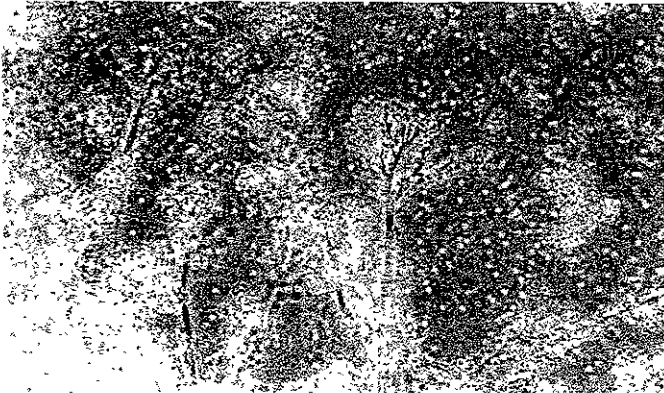


B

Fig. 6 *Absidia* spp

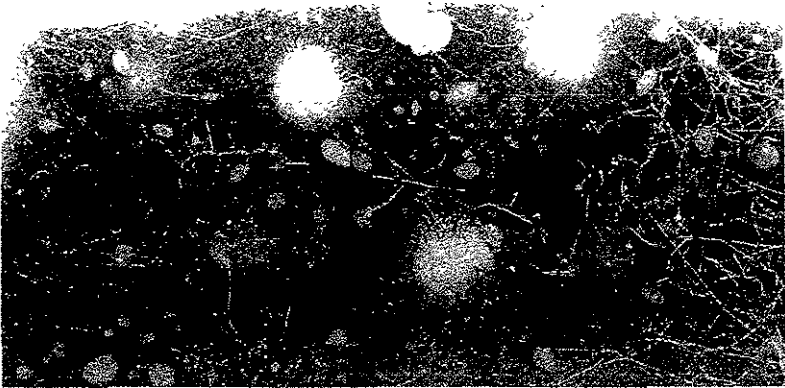


A



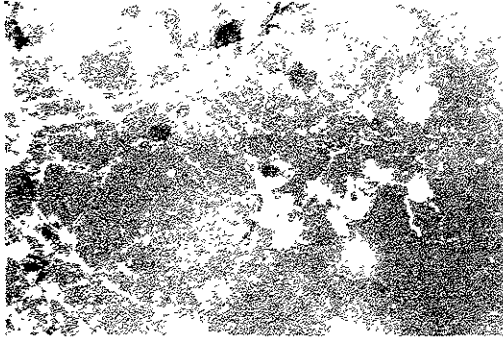
B

Fig. 7 *Penicillium* spp



A

Fig. 8 No fructiferas



A



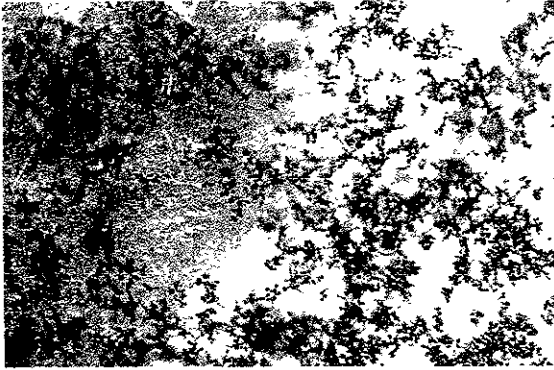
B

Fig. 9 *Rhizopus* spp

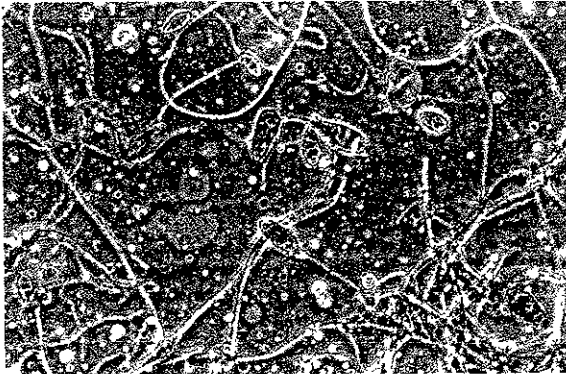


B

Fig. 10 *Mucor* spp

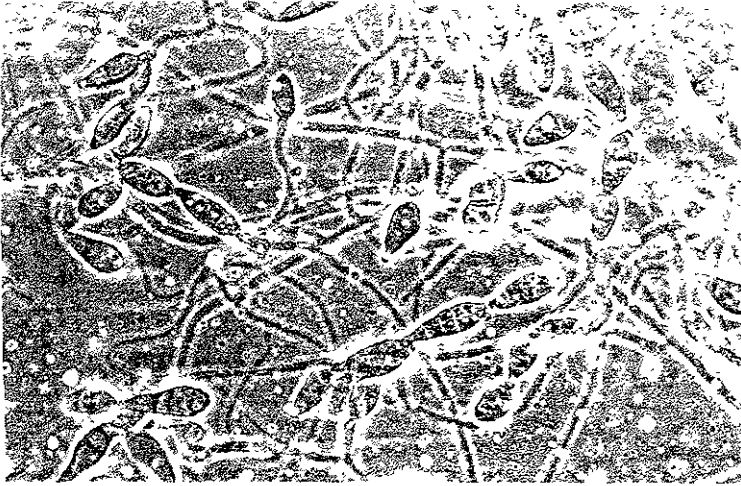


A



B

Fig. 11 *Alternaria* spp



B

Fig. 12 *Stemphylium* spp

V. DISCUSIÓN

Gimeno (49) reportó en un análisis micológico de distintos tipos de ingredientes alimenticios, efectuado durante los años de 1989 a 1998 en Portugal y España, que el desarrollo de los hongos y levaduras varió según la época climática. Se encontraron altas concentraciones fúngicas en cereales (maíz, cebada, trigo y subproductos), harinas de alfalfa, subproductos de aves, soya integral, girasol, yuca y alimentos para aves y cerdos en harina. La contaminación fue menor en harinas de soya y girasol, gluten de maíz y alimento compuesto que fueron sido sometidos a procesos de peletización.

En la presente investigación el alimento de la granja, principalmente constituido por sorgo, pasta de soya, aceite, aminoácidos, vitaminas y minerales, las UFC/g de alimento no fueron diferentes entre épocas (Cuadro 5), posiblemente debido a que las condiciones ambientales ($^{\circ}\text{C}$ y HRE) en las salas permanecieron constantes durante las dos épocas del año en estudio, favoreciendo un desarrollo constante de los hongos en el alimento. Sin embargo, hubo diferencias entre las concentraciones de hongos en el alimento por etapa productiva, siendo mayor en maternidad (Cuadro 6). Esto pudo deberse a las características de almacenamiento del alimento. Por ejemplo, en gestación y reemplazos el alimento permanece almacenado en una bodega y en maternidad el alimento que diariamente se le va a ofrecer a cada animal se almacena en la misma sala, en una cubeta por jaula,

permaneciendo destapado en todo momento. Asimismo como menciona Gimeno(49) (Cuadro 2), la relación entre la humedad en el alimento y la humedad relativa del ambiente (Cuadro 11) influye en la proliferación de hongos. En promedio, en maternidad se registró una humedad en el alimento de 11.4%, una HRE de 46% y 19.5 °C temperatura ambiente, condiciones que, según la literatura, no son óptimas para el crecimiento de hongos. Sin embargo, en este estudio las mayores concentraciones de hongos se encontraron en este medio ambiente, por lo que se deduce que el manejo del alimento pudo haber influido en facilitar el crecimiento de los hongos.

En el alimento, los géneros fueron similares en las distintas muestras recolectadas, predominando géneros como *Aspergillus*, *Penicillium* y mucorales (*Absidia*, *Rhizopus* y *Mucor*). En las muestras de heces que se tomaron directamente del recto, los géneros que aparecieron fueron similares (Cuadro 16). Esta relación pudo deberse a que los hongos pueden soportar los cambios de pH que se dan en el tracto digestivo, permitiendo su supervivencia e incluso su desarrollo*. Los hongos como *Aspergillus*, *Penicillium* y mucorales en general se consideran como flora de campo y de almacenamiento(49), pero también son causantes de problemas en salud animal y humana, principalmente *Aspergillus* y *Penicillium*, que desarrollan metabolitos tóxicos que desencadenan enfermedades. Esto sería un problema mayor que la

*Herradora, M. Profesor tiempo completo, Depto. Producción Porcina FMVZ- UNAM - comunicación personal.

presencia de los hongos en sí, que podrían considerarse como flora normal, sin causar daños en animales sanos (62,63). Sin embargo, en este estudio sólo se determinó el género presente. Para determinar si fueran o no patógenos se tendría que haber identificado la especie y considerar la presencia de las micotoxinas y los casos clínicos que se reportan en la granja relacionados a problemas por hongos.

En el medio ambiente, las UFC de hongos fueron diferentes, tanto por época (más UFC/m³ en invierno) (Cuadro 9) como por etapa productiva (más UFC/m³ en el área de reemplazos) (Cuadro 10). Gimeno (49) cita que el desarrollo de los hongos depende de los sustratos en donde se dé el crecimiento y de diversos factores, principalmente °C/HRE y necesidades de oxígeno. Las condiciones ambientales, en promedio, para la sala de reemplazos fueron de 16.2°C/43.2% en invierno y de 20.3°C/59.3% en primavera; en gestación, de 20.3°C/33% en invierno y de 22.8°C/56.5% en primavera, y en maternidad, de 17.5°C/51.8% en invierno y 21.5°C/56.5% en primavera. Las condiciones ambientales en las diferentes áreas fueron ligeramente inferiores al intervalo óptimo para el crecimiento de los hongos (25°C/60%), no obstante, aunque las condiciones en el área no fueron las óptimas, se presentó mayor desarrollo de UFC de hongos/m³ en reemplazos, debido probablemente a las características de la sala, la cuál cuenta con mayor ventilación y en maternidad las salas son cerradas y continuamente se realizan prácticas de limpieza y desinfección.

En un estudio que se realizó en la atmósfera de Santiago de Chile (61), la concentración media de UFC/m³ fue de 1.945 log, aumentando en forma significativa en verano. Además se identificaron géneros como: *Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus* y *Botrytis*. En el presente estudio, el promedio de UFC/m³ en el ambiente fue de 1.62 ± 0.24, presentándose mayor número de UFC en invierno y los géneros encontrados fueron similares a los citados en el estudio de Santiago de Chile.

Gimeno(49) clasifica a estos hongos como flora de campo y de almacenamiento.

En los sólidos de excreta porcina acumulados durante diferentes días, el desarrollo de hongos presentó una curva decreciente (Fig.2); sin embargo, los sólidos acumulados 1 y 4 días no fueron estadísticamente diferentes en cuanto al número de UFC/g (Cuadro 12), lo que significa que hubo un repunte en el crecimiento fungal. En cuanto a géneros, se encontró flora de almacenamiento (*Aspergillus*, *Penicillium* y *mucorales*), que, como cita Gimeno (49) se desarrolla mejor en la época de invierno. Con respecto a la correlación, el aumento del pH disminuyó las UFC/g después de un día de acumulación. El pH óptimo de crecimiento que cita la literatura es de 2.5 a 7.5, siendo el rango de pH en los sólidos para los diferentes días de acumulación en invierno de 6.7 a 9.0 y en primavera, de 8.3 a 10.0, por arriba de lo considerado como óptimo. Esto posiblemente explica por qué el desarrollo fungal fue mejor en invierno. Otra condición que se correlacionó

positivamente en el día 1 fue la altura de crecimiento, probablemente debido a la compactación, ya que a menor compactación de los sólidos, mejores condiciones aerobias, lo que favorece el crecimiento de hongos. En lo que respecta al cuarto día de acumulación, las UFC/g se correlacionaron negativamente con las variables ambientales, probablemente debido a que las condiciones externas influyeran en la temperatura y humedad de los montones.

La flora de los líquidos de los registros y de sólidos fue similar, lo cuál era de esperarse, ya que los residuos de cada una de las etapas de la granja llegan al mismo cárcamo, en donde permanecen por varios días bajo las mismas condiciones, hasta separarse en fracción líquida y fracción sólida.

VI. CONCLUSIONES

- Bajo las condiciones del presente estudio las unidades formadoras de colonias de hongos fueron diferentes en invierno y primavera en las muestras del medio ambiente y la FSEP.

- No hubo efecto de la época del año en las unidades formadoras de colonias de hongos registradas en muestras de heces, líquidos de los registros y alimento.

- ♦ Se presentaron diferencias en las unidades formadoras de colonias de hongos de las etapas productivas de la granja, en muestras de alimento, medio ambiente y FSEP.

- Las UFC de hongos en las muestras de heces y líquidos de los registros no fueron diferentes ni por época ni etapa productiva.

- En los montones de FSEP, el número de UFC de hongos disminuyó después de dos días de acumulación.

- Los géneros fungales identificados fueron similares en las diferentes muestras de estudio. Caracterizándose como cepas saprófitas.

VII. RECOMENDACIONES

- Con base en la literatura consultada y en los resultados de este trabajo para el desarrollo de hongos se recomienda que los residuos sólidos separados de forma manual o mecánica con un separador de sólidos se acumulen por menos de cuatro días. Garantizando una estabilidad para la población de hongos.

- Debido a que los hongos están presentes en las excretas de la granja, pero no impactando de manera importante, sobre todo al final del proceso de reciclamiento, no debería de ser el único criterio y tomar en cuenta los demás contaminantes antes de emplearlos en la alimentación animal y, de preferencia, utilizarlos en granjas que mantengan dos o más especies y no trasladarlas de una región a otra (64).

- ♦ Además, es importante señalar que, se debe procurar mayor ventilación en edificios donde la limpieza y por tanto la humedad es alta, ya que es un factor de riesgo, para el crecimiento de hongos sobre todo en alimento (en este caso en las salas de maternidad).

VIII. LITERATURA CITADA

1. Ochoa CM, Medina GJL, Barrón ZG: Efecto de la desecación natural de la cerdaza sobre su composición química y contaminación por agentes patógenos. *Tec. Pec. Mex.* 1989;28(1):93-107.
2. Trujano TJI, Truegas ELF, Torres BI: Boletín Informativo, FIRA. México 1993, 26: 40-41.
3. SEMARNAP: Norma Oficial Mexicana. NOM-001-ECOL-1996. Diario Oficial de la Nación 1996 enero 1°:68-86.
4. Bhattacharya AN, Taylor JC: Recycling animal waste as a feed stuff: A review. *J. Anim. Sci.* 1975, 41: 1438-1456.
5. White RK: The role of liquid solid separation in today. *Livestock Waste Management Systems. Journal of Animal Science* 1980, 50: 356-361.
6. Fontenot JP, Smith LW, Sutton AL: Alternative utilization of animal wastes. *J. Anim. Sci.* 1983, 7(2):221-233.
7. Hendresoeekarjo S, Pearce GR: Utilization by sheep of dried pig faeces containing a high concentration of copper. *Animal Feed Science and Technology* 1978, 3:31-39.
8. Mc. Caskey AT, Anthony BW: Human and health aspect of feeding livestock excreta. *J. Anim. Sci.* 1979, 48:163-177.
9. Gutiérrez VE, Preston RT: ¿El reciclaje del estiércol fresco de cerdo en la alimentación de rumiantes conduce a la producción sostenible?. *Livestock Research for Rural Development.* March 1995, Volumen 6. N°3.
10. Pérez ER: Porcicultura y Medio Ambiente. Memorias del 2° Seminario Manejo y Reciclaje de Residuales Porcinos, 22-25 octubre, Querétaro, Qro. México, Consejo Mexicano de Porcicultura, A. C., 1997: 10-12.
11. Conrad JH, Mayrose VB: Animal waste handling and disposal in confinement production of swine. *J. Anim. Sci.* 1971, 32(4): 811-815.
12. Day DL: Aprovechamiento de excretas animales, como ingredientes para raciones alimenticias. *Porcira* 1988, 11(134): 41-55.
13. Walter F: El estiércol del ganado porcino. *Porcira* 1982, 6(67): 25-30.

14. SAGAR CEA: Inventario ganadero. CNG. INEGI, 1999.
15. Liceaga MM: Manejo de excretas en granjas porcinas (Tesis de licenciatura) FMVZ-UNAM 1994.
16. Maciel AC: Manejo y disposición de residuos sólidos en los principales centros urbanos e industriales en México. III Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Vol.III, Acapulco, Gro. 1982.
17. Salazar GG: Uso y manejo de excretas de cerdo en la alimentación animal. INIFAP diciembre 1996.
18. Taiganides EP: Manejo de desechos en ganadería, métodos prácticos en la perspectiva mundial y latinoamericana. Memorias del XIV Congreso Panamericano en Ciencias Veterinarias, 9-15 octubre, Acapulco, Gro. México PANVET 1994: 597-598.
19. Harmont BG, Day DL, Jensen AM, Baker DH: Liquid feeding of oxidation ditch mixed liquor to swine. J. Anim. Sci. 1971, 33:1149.
20. Cruickshank GG: Notas sobre un plan para el tratamiento y manejo de las aguas residuales. III Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, vol. III Acapulco, Gro. 1982.
21. Vanderholm DH: Handling of manure from different livestock and management systems. J. Anim. Sci. 1979, 48(1):113-120.
22. Vega VF, Romero SHL: Daños y soluciones ecológicas en las granjas porcícolas. Porciraama 1987, 11(131):62-68.
23. Schônwiese ChD: El clima en peligro. Revista Mexicana del Petróleo. 1990 mayo-junio:23-30.
24. Escobedo GCL: La contaminación y la definición de tecnología. Memorias del XIV Congreso Panamericano en Ciencias Veterinarias, 9-15 octubre. Acapulco, Gro. México PANVET 1994: 600-602.
25. Duarte VF, Magaña CA, Rodríguez, GF. Utilización de heces en la alimentación animal y caracterización químico-nutricional de heces de bovinos y porcinos. Tec. Pec. Mex. enero - abril 1990, 28(1):22-29.
26. Salazar GG: Reciclaje de excretas, buen negocio. Síntesis Porcina octubre 1995:19-24.
27. Campabadal C: Utilización de cerdaza en el ganado de carne. Acontecer Bovino. 1995, I: 4-10.
28. Moser MA: Tratamiento de residuales porcinos. Memorias del 2º seminario sobre manejo y reciclaje de residuales porcinos,

- octubre 22-25; Querétaro, Qro. México 1997. Consejo Mexicano de Porcicultura, A.C. e Instituto de Investigaciones Económicas, UNAM.
29. Molina JR: Utilización de la cerdaza en la alimentación animal. Una alternativa para disminuir la contaminación ambiental. Memorias del 2° seminario sobre manejo y reciclaje de residuales porcinos, octubre 22-25; Querétaro, Qro. México 1997. Consejo Mexicano de Porcicultura, A.C. e Instituto de Investigaciones Económicas, UNAM.
 30. Domínguez LE: La contaminación por excretas: Un problema controlable a mediano plazo. Nuestro Acontecer Porcino. enero 1993 vol.1: 4-12.
 31. Arndt LD, Day L.D, Hatfield EE: Processing and handling of animal excreta for refeeding. J.Anim.Sci. 1979; 48: 157-162.
 32. Day DL: Processing animal wastes for feed ingredients. Paper for the Congress of Latin American Veterinarians Specializing in Swine. Acapulco, Gro. México. 22-26 sept. 1987.
 33. Badger DD: Economics of manure management in livestock waste: A. Renewable Resource. Proc. 4° Inter. Symp. Livestock Wastes, ASAE, St. Joseph, MI. 1980.
 34. Runkle AS, Mitchel DJ, Hatfield EE: Feedlot waste a non-polluting and nutritious potential resource for plants and animals. Beef Cattle Day Rep. Univ. of Illinois March 8 1975.
 35. Iñiguez CG: Aprovechamiento del estiércol de cerdo mediante fermentación. Nuestro Acontecer Porcino. Ediciones Pecuarias de México S.A. de C.V. Vol.1 enero 1993: 14-20.
 36. Mc Caskey TA: Health aspects associated with the feeding of swine waste. I Ciclo Internacional de Conferencias Sobre el Manejo y Aprovechamiento del Estiércol de Cerdo. CINVESTAV. Universidad de Guadalajara. CONACYT, 1990: 33-48.
 37. Anthony WB: Animal waste value-nutrient recovery and utilization. J.Anim.Sci. 1971; 32(4):799-802.
 38. Johnson R, Ponciera R, Jordan H, Shuyler R: Nutritional pathological effects of feeding feedlot waste to beef cattle. Proc. 3° International Symposium on Livestock Wastes. 1975:203-205.
 39. Day DL: Technical and economical feasibility of using methane gas, produced from swine waste from energy. 1° Ciclo Internacional de Conferencias sobre el Manejo y Aprovechamiento del Estiércol de Cerdo. Guadalajara, Jalisco. México 1990.

40. Olguín PE: El uso de alimentos no convencionales en sistemas agropecuarios integrales. Memorias del 1° Ciclo de Conferencias sobre Microbiología Pecuaria. Universidad Autónoma de Chapingo, febrero 22-24 de 1987.
41. Iñiguez CG, Franco G Ma. de J, Peña RM, Ciurlizza A: Evaluation of the protein quality of solids recovered from hog manure slurry. *Agricultural Wastes*. 1986, 16: 113-120.
42. Iñiguez CG, Torre MM, Cuarón IJA, Pérez GP, Magaña PI: Fermentation characteristics of swine waste ensiled with wheat straw and cane molasses. *Biological Wastes* 1990, 34: 227-239.
43. Strauch Von D: Livestock manure as vector for infections agents. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 1991, 98: 1389-1391.
44. Alvarado RA: Comportamiento productivo de cerdos en finalización al adicionar ensilado de excretas porcinas en su dieta. (Tesis de licenciatura) FMVZ, UNAM 1999.
45. Cooke BW: *The Ecology Fungi*: CRC Press U.S.A., 1979: 35-50.
46. DIFCO: *Manual of Dehydrated Cultive Media and Reagents for Microbiological and Clinical Laboratory Procedures*. Detroit, Michigan 9ª edición 1974: 64,65,237.
47. Moreno ME: *Manual para la identificación de hongos en granos y sus derivados*. UNAM, 1988.
48. Pijoan AC y Cervantes OR: *Manual de Micología Veterinaria*. Universidad Nacional de Estudios Profesionales Cuautitlan, UNAM (1976).
49. Gimeno A: Revisión generica del problema de los hongos y de las micotoxinas en la alimentación animal. *Special Nutrients, Inc*, 1999. www.mycotoxin.com/mycotoxin/Albertog/gimeno1999.htm
50. Taylor JD: *Enfermedades del cerdo*. 2ª ed. Manual Moderno. México 1992: 207-216.
51. García E: *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen*. México: Instituto de Geografía, UNAM. 1988.
52. *Centros de producción*. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. <http://www.veterin.unam.mx>.
53. Pascual A Ma.: *Microbiología alimentaria*, Díez de Santos, España; 1ª edición 1992: 3-8.
54. NOM-111-SSAl-1994: *Bienes y Servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimento*.

55. Tejada HI: Manual de laboratorio para análisis de ingredientes utilizados en la alimentación animal. SARH,1983.
56. Recuento en placa. <http://bi/bo.edu.uy/microbio/recuentos.htm>
57. Cárcamo RA, Reyes PN, Bonilla LD: Manual de procedimientos del laboratorio de micología. Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria, SAGAR. 1ª edición 2000.
58. Instructivo ZEIZZ de México: El microscopio correctamente enfocado o la iluminación según Köhler.
59. Mendoza RV: Efecto de microorganismos ruminales bajo condiciones de anaerobiosis sobre la viabilidad de *Saccharomyces cerevisiae* in vitro. (Tesis licenciatura) FMVZ-UNAM México, D.F., 1996 .
60. S.A.S: Institute Inc. Statistical Analysis System. Procedures guide personal computers. 6ª edition. Cam North Carolina, U.S.A.,1985.
61. Ibañez V, Thompson L, Mañalich J: Fluctuaciones estacionales de hongos anemofilos en Santiago Norte-Chile. Boletín Micológico Vol. 13. (1-2): 47-56. 1998
62. Strauch D, Ballarini G:Hygienic aspects of the production and agricultural use of animal wastes. J.Vet.Med. 41:176-228. 1994
63. Jongbloed AW and Lenis PN: Environmental Concerns About Animal Manure. J. Anim. Sci. 76:2641-2648 (1998).
64. Chará OD: El potencial de las excretas porcinas para uso múltiple y los sistemas de descontaminación productiva, CIPAV. www.cipav.org.co

A N E X O I

Determinación del número de microorganismos.

RECUESTO EN PLACA

Permite la determinación de los microorganismos presentes en una muestra en base a que se desarrollen en medio de cultivo, en placa, formando colonias. Por lo tanto se determinan por este método sólo las células microbianas VIABLES en las condiciones de trabajo(nutrientes, atmósfera, temperatura).

Como las colonias pueden originarse tanto de una célula como de un grupo de células, se utiliza el término: UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS (UFC) Además, a los efectos de que todas las células que queden en una placa tengan una adecuada disponibilidad de nutrientes, y que los errores del método sean menores, se establece que las condiciones óptimas de conteo se dan cuando desarrollan entre 30 y 300 colonias por placa o menos según el caso.

Cuando esto no se cumple se considera el valor obtenido como una estimación del recuento, y si es posible se repite hasta caer en las condiciones óptimas.

Procedimiento:

La preparación de la muestra se realiza como para cualquier método utilizando diluyentes adecuados. Se preparan diluciones de 1 en 10 sucesivas, partiendo en general de 1 gramo de muestra para la primer dilución, y tomando 1 ml de ésta descargándolo en 9 ml de diluyente y así sucesivamente.

Cada vez que se prepara una dilución se carga y descarga la pipeta tres veces, descargándola finalmente sobre el tubo con diluyente estéril. Se descarta la pipeta luego de preparada cada dilución.

Según la carga esperada, o permitida, se eligen las diluciones a sembrar. Generalmente, se siembran no menos de tres diluciones consecutivas Ej.: 1:10 (10-1), 1:100 (10-2), 1:1000 (10-3).

Una vez preparadas las diluciones, se siembra dentro de los 15 minutos siguientes.

Antes de proceder a la siembra se rotulan las placas, en el fondo, con los siguientes datos:

Identificación de la muestra: Nombre y/o lote, Número de Dilución
Siembra incorporada:

Se procede de la dilución mayor a la menor, y se deposita 1 ml de cada dilución en cajas de petri estériles, vacías, por duplicado. Posteriormente, se agrega a cada placa 15 a 20 ml del medio de cultivo a emplear, previamente fundido y termostatzado a 45°C en baño o estufa. Se agita moviendo la placa tapada sobre la superficie de la mesa con movimiento circular, y antihorario (4 veces) y movimiento hacia arriba y hacia abajo (siempre sin levantar la placa de la mesa).

En algunas situaciones puede sembrarse un volumen diferente, en general no más de 2.5 ml por placa.

Medio de cultivo:

Se elige según el tipo de microorganismo que se quiere contar pudiendo emplearse medios selectivos o no selectivos.

Incubación:

Una vez enfriado el agar en el caso del incorporado, y secada la muestra en el caso de superficie, las placas se invierten, y se ponen en la estufa que corresponde según los microorganismos a contar, incubándose el tiempo propuesto en la técnica correspondiente.

Interpretación:

Finalizado el período de incubación, observar con buena luz a efectos de visualizar las colonias puntiformes y diferenciar cualquier partícula de muestra que pueda haber. Si molesta, borrar la escritura.

Contar las colonias desarrolladas por placa. Se cuentan como colonias individuales, todas aquellas que disten de las colonias próximas una distancia al menos igual al diámetro de la colonia más pequeña.

Cuando se utilizan medios NO SELECTIVOS se procede de la siguiente forma:

Se cuentan en primer lugar las placas que tengan entre 30 y 300 colonias. Se hace el cálculo promediando los valores y multiplicando por la inversa de la dilución.

Si sólo hubiera placas con menos de 30 colonias, se informa igualmente el resultado, expresándolo por g o ml de muestra.

Si no hubiera colonias en ninguna de las placas, se informa como: Menor que 1 o 10 (según sea incorporado en superficie) por la inversa de la dilución menor.

Si en todas las placas hubiera más de 300 colonias, se estima el resultado contando las colonias en una superficie conocida de la

placa y luego llevando a la superficie total de la placa: 65 cm² para las de vidrio comunes, o 57 cm² para las de plástico.

Se siguen las siguientes reglas:

Si hay menos de 10 colonias por cm², se cuentan 13 cuadrados de 1 cm de lado: 7 consecutivos horizontales y 6 consecutivos verticales. El total de colonias contadas se multiplica por 5 o 4.4 según el tipo de placa, para estimar el número de colonias en toda la placa.

Si hay más de 10 colonias por cm², se cuentan 4 cuadrados de 1 cm de lado, y el promedio se multiplica por 65 o 57 según el tipo de placa.

Si hay más de 100 colonias en 1 cm², no se cuentan sino que se estima el resultado como Mayor de 6500 o 5700 por placa.

Una vez estimado el número de colonias por placa, se aplica el factor de corrección para expresar el resultado por gramo o ml de muestra, de acuerdo al método (incorporado o superficie), y a las diluciones plaqueadas.

Es frecuente que desarrollen colonias extendidas, sobre la superficie, o el fondo y bordes de la placa, o que se den cadenas de colonias unidas. Este tipo de crecimiento se denomina "spreaders" y se cuentan como uno.

Cuando el spreader cubre más del 50% de la placa, esta no debe contarse.

Cuando el spreader cubre una superficie menor del 50%, se cuentan las colonias en el resto de la placa, solo si están uniformemente distribuidas.

Si en todas las placas hay spreaders se informa: Spreaders.

Todas las situaciones en las que no se pueda informar el recuento por no caer en los casos anteriores, (ej: contaminación, mal funcionamiento del medio), se informa como: "Accidente de laboratorio".

Para alimentos se utilizan los límites de 25 a 250 UFC/placa.

Cuando se emplean medios SELECTIVOS, el número de colonias que se considera óptimo para contar, suele ser menor de 300, es necesario referirse a la técnica correspondiente (de referencia) a los efectos de la interpretación de los resultados.

Expresión de los resultados:

Se informan los resultados de recuento con sólo dos cifras significativas, redondeando los valores cuando corresponda

Ej: 142 se informa 140

155 se informa 160

El informe debe decir:

Recuento de microorganismos (tipo): U.F.C./g o ml.

ANEXO I I

Resultados de la materia seca (MS %) de las muestras de alimento
por época y por etapa productiva

EPOCA INVIERNO		EPOCA PRIMAVERA	
Etapa	MS %	Etapa	MS %
Maternidad 1	11	Maternidad 1	8
2	13	2	13
3	12		
Reemplazos 1	13	Reemplazos 1	10
2	13	2	9
3	13	3	12
Gestación 1	19	Gestación 1	10
2	20	2	9
3	19	3	9

ANEXO III

Resultados de pH en heces por época y etapa productiva

EPOCA INVIERNO		EPOCA PRIMAVERA	
Etapa	pH	Etapa	PH
Maternidad 1	8.5	Maternidad 1	7.1
2	7.9	2	6.3
3	9.2		
Reemplazos 1	5.5	Reemplazos 1	7.4
2	5.9	2	6.9
3	5.3	3	7
Gestación 1	7.2	Gestación 1	7.5
2	7.1	2	6.9
3	7.4	3	7.4

Resultados de pH en líquidos de los registros del drenaje por época y etapa productiva

EPOCA INVIERNO		EPOCA PRIMAVERA	
Etapa	pH	Etapa	PH
Maternidad 1	8.2	Maternidad 1	6.4
2	8.3	2	5.9
3	8.5		
Reemplazos 1	7.9	Reemplazos 1	7.7
2	7.3	2	7.9
3	7.6	3	7.4
Gestación 1	7.6	Gestación 1	7.8
2	7.8	2	7.8
3	7.9	3	7.9

A N E X O I V***Aspergillus spp*******Micheli y Link 1821**

Descripción: colonias de rápido crecimiento, de apariencia algodonosa, típicamente forman halos de color verde, marrón o negros, según la especie. Sus conidióforos son erguidos, con una vesícula en su ápice, a menudo con una célula donde se encuentran las hifas, estas son simples, hialinas y de tonalidades parduzcos. Los conidios son células globosas o subglobosas, lisas o rugosas, que se observan a menudo en forma de cadena. Crecen naturalmente en material vegetal y en el suelo. Se aislan fácilmente de alimentos y de cualquier ambiente interior.

Absidia spp****Van Tieghem 1876**

Descripción: colonias de rápido crecimiento, apariencia macroscópica de las colonias; planas y algodonosas de color gris a verde oliva. Esporangios ramificados, presentándose en grupos de 2 a 5, formando a menudo arcos. Generalmente esta presente un tabique debajo del esporangio. Esporangios de una célula, hialina, globoso u ovoide, liso y raramente echinulate y pueden presentar rizoides. El género *Absidia*, se diferencia de *Mucor* por tener estolones, rizoides y esporangios ramificados y *Rhizopus* de *Mucor* por presentar los rizoides en las bases de los esporangios y ramificación de los esporangios. Son hongos termofílicos (35-37°C), rango óptimo de pH para su crecimiento de 3-8. Naturalmente se puede aislar de material vegetal, del suelo, de algunos alimentos y del ambiente.

Penicillium spp****Link y Gray 1821**

Descripción: colonias de rápido crecimiento, de apariencia plana, aterciopelada y algodonosa, inicialmente pueden ser blancas y azules, cambiando a tonalidades verdes, grisáceas o una combinación de estos. Forman estructuras que macroscópicamente se pueden observar como gotitas de agua, llamadas esclerosios o clestotecios. Su conidioforo es erguido, ramificado, hialino o pigmentado. Sus fialides se presentan en grupo y ramificándose terminalmente de los ápices del conidiofóro. Los conidios son de una célula, pueden ser globosos, ovoides, lisos o rugosos, hialinos o pigmentados, presentándose como cadenas. La estructura conidial entera se asemeja a un cepillo.

No fructíferas*

*Bonilla 2000

Géneros que no han esporulado.

Rhizopus spp*

*Inui, Takeda y Iizuka 1965, Schipper y Stalpers 1984, Zycha y Siepmann 1970

Colonias de rápido crecimiento, se caracteriza por su esporangio oscuro. En la base de los esporangióforos tiene una raíz, llamado rizoides que es una característica para diferenciarlo de *Mucor*. A menudo presentan estolones. Estas especies se consideran como un parásito de laboratorio, debido a su crecimiento rápido, fácilmente producen esporas que pueden invadir otros cultivos en pocos días. Una especie es capaz de transformar habas de la soya en productos comestibles, por lo cuál se ha empleado en algunos países asiáticos. Crece comúnmente en frutas, en el suelo y en ambientes donde exista mucho polvo.

Cladosporium spp*

*Ellis 1971, 1976, de Vries 1952, Wang 1990

Colonias verdosas o negras de crecimiento relativamente lento. Las esporas que forma son oscuras formadas de una a dos células, en el interior de los conidiofóros se pueden observar unas cadenas o ramificaciones. La espora más joven se encuentra en la parte superior de estos encadenamientos. El movimiento más leve interrumpe los encadenamientos, haciendo los montajes de la estructura al microscopio casi imposibles. La manera de reconocer el género es poder observar el lado en donde se presenta una pequeña prominencia en la espora. Frecuentemente se pueden aislar de plantas, del aire de ambientes cerrados y de ambientes al aire libre. Las especies de *Cladosporium*, todavía no están bien definidas taxonómicamente. La especies que se aíslan frecuentemente del medio ambiente se encuentran asociadas a problemas que se presentan en los seres humanos.

Mucor spp*

*Schipper 1978

Colonias de rápido crecimiento, blanquecinas o grisáceas, generalmente son colonias gruesas debido a la abundante presencia de esporangióforos. El esporangio, donde se producen las esporas son esféricos y de color parduzco. Frecuentemente produce zigosporas (espora sexual) grandes de color oscuro. Estos géneros se consideran flora de campo.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Trichoderma spp*

*Bissett 1984, 1991, Rifai 1969

Colonias de rápido crecimiento, generalmente se reconocen por sus filamentos blancos, verdes o amarillos. Los filamentos producen las ramificaciones laterales que llevan las filiales cortas. Las esporas son de una sola célula produciéndose sucesivamente en las extremidades de las filiales con una apariencia macroscópica de gotitas de agua. Las especies de *Trichoderma* son fuertemente antagónicas a otros hongos aunque no está determinado su mecanismo de acción. Comúnmente se pueden aislar del suelo y de material vegetal.

Alternaria spp*

*Ellis 1971, 1976; Joly 1964.

Las esporas de este género son marrones oscuras y forman cadenas simples o ramificadas de las extremidades de los conidiofóros que son oscuros simples y divididos en varias células por paredes transversales y verticales. Las esporas nuevas son producidas por la protuberancia del material de la pared a través de un poro en la extremidad anterior de la espora. Este género se aísla frecuentemente de material vegetal, provocando enfermedades a la planta. Las esporas de la especie de *Alternaria* son dispersadas por las corrientes de aire y son generalmente un componente importante del aire al aire libre.

Geotrichum spp*

*Carmichael 1957, Hoog et al. 1986, Sigler y Carmichael 1976

Un género muy simple caracterizado por formar encadenamientos de esporas descoloridas, fangosas con segmentación de los filamentos vegetativos. Algunos géneros pueden ser de colores fuertes. Flora de campo que comúnmente se aísla de productos lácteos y son menos comunes en el suelo. Se le considera poco patógeno para el hombre.

*Gliocladium spp**

*Morquer et al. 1963, Raper y Thom 1949

Género que presenta conidiofóros erguidos, con terminaciones parecidas a un denso cepillo. Las esporas (conidios) son transparentes, rosadas o verdes. Las estructuras de la espora, pueden ser relativamente pequeñas. Es muy similar al género *Penicillium* pero se diferencian por qué al hacer la preparación los conidios se observan mejor si se recolectan de las masas secas y *Penicillium* de las masas mojadas. También se les considera como párasito de otros hongos, sobre todo de material vegetal. Algunas especies se pueden convertir en párasitos de otros cultivos, destruyendo las estructuras de los hongos invadidos.

*Stemphylium spp**

*Ellis 1971

Conidiofóros oscuros que producen una sola espora apical (conidio) a través de un poro y después continúan creciendo a través del poro, así desalojando la espora. Las esporas pueden ser de color marron oscuro y están divididas por varias paredes longitudinales y transversales. Pueden aislarse de plantas y del suelo.