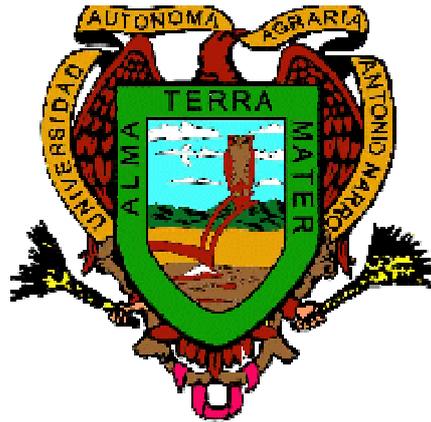


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”  
UNIDAD LAGUNA  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**IDENTIFICACIÓN DE *ASPERGILLUS* SPP EN SILOS  
DE MAÍZ Y SORGO**

**POR**

**MOISES MANUEL MANJARREZ CASTILLO**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO**

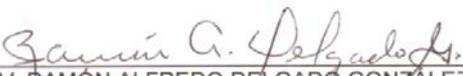
**OCTUBRE DE 2010**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"  
UNIDAD LAGUNA  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



IDENTIFICACIÓN DE *ASPERGILLUS* SPP EN SILOS DE MAIZ Y SORGO

TESIS:  
APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR DE  
ASESORÍA

  
M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ  
PRESIDENTE DEL JURADO

  
MVZ. RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO  
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL  
DE CIENCIA ANIMAL.



Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal

TORREÓN, COAHUILA, MEXICO

OCTUBRE DE 2010

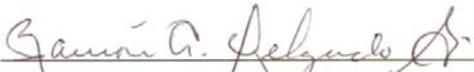
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO".  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL.

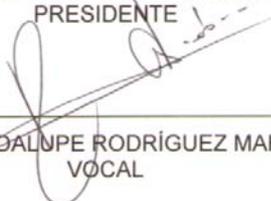
TESIS POR:  
MOISES MANUEL MANJARREZ CASTILLO

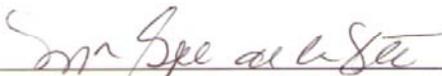
IDENTIFICACIÓN DE *ASPERGILLUS* SPP EN SILOS DE MAIZ Y SORGO

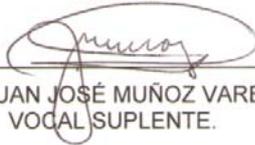
TESIS ELABORADA BAJO LA SUPERVISIÓN DEL COMITÉ PARTICULAR  
DE ASESORÍA Y APROBADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER

EL TÍTULO DE:  
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA.

  
M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ  
PRESIDENTE

  
MVZ. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ  
VOCAL

  
MC. MA. GUADALUPE DE LA FUENTE SALCIDO  
VOCAL.

  
MC. JUAN JOSÉ MUÑOZ VARELA  
VOCAL SUPLENTE.

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.

OCTUBRE DE 2010

## DEDICATORIA

### A DIOS:

Por haberme permitido llegar hasta una más de mis metas con salud y sabiduría para poder culminarla.

### A mis padres

Por su gran apoyo y esfuerzos que junto con migo terminamos la carrera nunca terminare de agradecerles.

### A mis hermanas

Que fueron un gran ejemplo de superación profesional.

### A mi esposa e hijo

Que tuvieron la paciencia de esperarme y darme su apoyo para así yo poder culminar mis estudios.

### A toda mi familia Manjarrez-Castillo

Por estar ahí presentes cuando los necesite en algún momento gracias.

## AGRADECIMIENTOS

Al M.C.V. Ramón Alfredo Delgado González por haberme dado su apoyo, disponibilidad, orientación para el desarrollo y revisión de este trabajo de tesis ya que de otra manera no hubiese sido posible llevarla a cabo.

A todos mis maestros que fueron la base de todo este éxito del aprendizaje obtenido por estos 5 años.

A todos mis compañeros de la carrera que llevo un recuerdo de cada uno de ellos en especial de los más cercanos como los Oscar Álvarez, Juan Pérez, Oliver Cuevas, Luis Cárdenas, Vicente Solís entre muchos.

Y un agradecimiento muy especial para el médico Aurelio Torres del Río por hacer que los conocimientos obtenidos en la escuela se llevaran a cabo en la práctica con responsabilidad, respeto y mucho esfuerzo para así ganar la confianza de las personas.

## INDICE

	<b>Página</b>
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
RESUMEN	iii
L. INTRODUCCIÓN	1
LL. ANTECEDENTES	3
2.1 HISTORIA SOBRE EL HONGO	3
2.2 EPIDEMIOLOGÍA DEL HONGO EN CAMPO	4
2.3 EPIDEMIOLOGIA DEL HONGO EN SILO	5
2.4 GENERALIDADES DE MICOTOXINAS EN SILO	6
2.5 SIGNOS CLÍNICOS	9
2.6 LESIONES	10
2.7 MICROSCOPIA Y CULTIVO	10
2.8 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	11
2.9 PREVENCIÓN Y CONTROL	11
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	13
IV. JUSTIFICACIÓN	14
V. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	15
VI. MATERIAL Y MÉTODOS	16
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
VIII. CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS	19
IX. ANEXOS	20
X. LITERATURA CITADA	27

## INDICE DE CUADROS

Cuadros	Página
<b>Cuadro 1.</b> Temperatura y actividad de agua requeridas para el desarrollo de algunas especies de <i>Aspergillus</i> .	8
<b>Cuadro 2.</b> Aislamientos de <i>Aspergillus</i> spp de muestras de alimento para vacas en producción, en la Granja Nazas de Gómez Palacio, Durango, México.	17

## INDICE DE FIGURAS

Figuras	Página
<b>Figura 1.</b> Efecto del pH y temperatura sobre la velocidad de crecimiento de <i>Aspergillus flavus</i> .	8
<b>Figura 2.</b> Cara frontal del silo abierto mal cortada y expuesta en gran cantidad a aereación.	20
<b>Figura 3.</b> El mal manejo del corte del silo facilita la infestación por hongos.	20
<b>Figura 4.</b> Descomposición de algunas partes del silo por hongos.	21
<b>Figura 5.</b> Mal manejo del corte del silo dejándolo a intemperie el sobrante.	21
<b>Figura 6.</b> Uso de las bodegas en mal estado para el sobrante de silo de la ración.	22
<b>Figura 7.</b> Bodega con sobrante de la ración.	22
<b>Figura 8.</b> Bodegas de almacén para alimentos de la ración incluyendo sobranes de los silos.	23
<b>Figura 9.</b> Maquinaria apropiada para el ensilado.	23
<b>Figura 10.</b> Conteo del tiempo de vaciado de los carros transportadores de la labor hacia el lugar del ensilado.	24
<b>Figura 11.</b> Compactación adecuada del silo.	24
<b>Figura 12.</b> Mal sellado del silo.	25
<b>Figura 13.</b> Correcto sellado del silo con doble capa plastificada.	25
<b>Figura 14.</b> Un adecuado manejo del silo descubriendo y haciendo un corte transversal correcto de la cara del solo de la cantidad necesaria por día.	26

## RESUMEN

El presente estudio se llevó a cabo en los meses de octubre de 2009 al mes de febrero de 2010, en Granja Nazas ubicada en el km 2 de la carretera Gómez Palacio a Esmeralda, en el municipio de Gómez Palacio, Durango. El establo lechero cuenta con 1600 vacas en ordeña y un total de 4800 animales en todo el hato.

Se tomaron 26 muestras de alimento servido en los corrales de producción, 8 muestras de silo de maíz, 3 muestras de silos de sorgo, 2 muestras de alfalfa picada y 3 muestras del carro revoledor, dando un total de 42 muestras. Las muestras se transportaron en bolsas de hule estériles y en refrigeración, para su estudio.

De las 42 muestras estudiadas, 13 (31%) presentaron aislamientos de *Aspergillus* spp. Los cultivos de *Aspergillus* spp se encontraron en un 30.8% (8/26) en el alimento tomado de los corrales; 37.5% (3/8) en el silo de maíz; 33.3% (1/3) en el silo de sorgo; 50% (1/2) en la alfalfa picada. Las muestras del carro revoledor resultaron negativas.

La principal especie diagnosticada fue *Aspergillus flavus*. Otros hongos saprófitos encontrados fueron del género *Geotricum* sp, *Verticillium* sp, *Cladosporium* sp, *Microsporum* sp, *Bauveria* sp y *Alternaria* sp.

**Palabras clave:** Silos, *Aspergillus*, Micotoxinas, Hongos, Contaminación.

## I. INTRODUCCION

Los mohos del género *Aspergillus* causan el deterioro de muchos productos alimenticios, los productos metabólicos de la invasión fúngica suelen ser muy tóxicos, tanto para el hombre como para otros animales. También producen la inhibición de la germinación junto con cambios de color, calentamiento, amohosado, apelmazado y finalmente podredumbre de las semillas.

La Aspergilosis: Causada por *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* y otras especies de *Aspergillus*, es una enfermedad de distribución mundial, cuyo agente saprófito, invade diversos ambientes como el aire, polvo, heno, paja y cereales, entre otros. Se encuentra en zonas con temperaturas entre los 10 y 43°C (óptima 30°C) (7). Los cambios climatológicos, químicos, biológicos son los elementos que pueden alterar la estructura y actividad de dichos hongos (15).

La contaminación por hongos de los forrajes destinados para la alimentación de los animales (alfalfa, pastos, granos de maíz, sorgo, etc.) depende de condiciones ambientales tales como: el estado de desarrollo de la planta antes de la cosecha, las condiciones meteorológicas, las técnicas de cosecha y las condiciones hidrotérmicas antes y durante su almacenamiento o conservación (18) (19).

La presencia de *Aspergillus* spp en los alimentos conllevan una serie de trastornos tóxicos y metabólicos que producen baja producción de leche, así como diversas enfermedades primarias y secundarias por inmunosupresión. El estudio de este hongo se ha realizado en diversos estados del país. En la Comarca Lagunera no se encontraron estudios similares al presente, por lo tanto la finalidad de la presente investigación es reportar los hallazgos del hongo en silos y alimentos almacenados de un hato lechero comercial.

La producción de ensilaje de maíz y sorgo constituyen un método de conservación con pérdidas mínimas en la calidad nutricional de estos cereales. Bajo condiciones anaeróbicas, las bacterias nativas fermentan los carbohidratos solubles con producción de ácido láctico y disminución del pH. Como resultado, estas condiciones inhiben el desarrollo de los principales microorganismos causantes del deterioro de los alimentos (24).

En el caso de las explotaciones pecuarias es muy importante no descuidar ningún paso en la producción del alimento. Se deben tener procesos adecuados de almacenamiento: que incluyan bodegas en buen estado, la sanidad del almacén, evitar la entrada de humedad, hacer un buen manejo de la temperatura, aereación, evitar los insectos, roedores y aves (17). Además llevar muestras a laboratorio periódicamente para realizar estudios microbiológicos y así la identificación de *Aspergillus* spp en el silo.

## II. ANTECEDENTES

La Comarca Lagunera es una de las principales cuencas lecheras a nivel nacional y su ganado es alimentado fundamentalmente con alfalfa, ensilaje y concentrados; siendo el ensilaje de maíz el más popular entre éstos, lo anterior ha provocado que en los últimos años se incrementen las áreas para este cultivo, debido a que es uno de los forrajes que requieren menos agua. En la actualidad se siembran alrededor de 65,000 hectáreas, de las cuales 35,000 son de maíz para forraje (11). Uno de los parámetros que más interesa al seleccionar una fuente de forraje, es la proteína cruda (14).

Los forrajes son la base alimenticia en la mayoría de los escenarios productivos en nuestro país, sobre todo en los esquemas de producción de carne, leche y lana. Son varios los elementos que mediante el manejo agronómico se pueden mejorar a fin de obtener un mayor nivel, calidad productiva, y persistencia de las mismas, tanto para el pastoreo directo como en la producción de reservas forrajeras. Cumpliendo con determinadas condiciones las pasturas pueden ser hábitat y sustrato de organismos perjudiciales para los animales y para el hombre, los organismos causales son hongos, se les denomina hongos toxigenicos (12).

Las plantas forrajeras de maíz y sorgo ya sea en el campo como en almacenaje, poseen una microbiota particular asociada a bacterias, hongos e insectos que pueden producir daños al mismo grano como o la planta. El ataque fúngico puede empezar en los tejidos sanos o dañados por agentes biológicos o factores ambientales (38, 39).

### 2.1 Historia sobre el hongo.

La colonización de las partes aéreas de las plantas por los microorganismos comienza tan pronto como son expuestas al aire. Las bacterias suelen aparecer primero, luego las levaduras y finalmente los hongos filamentosos saprobios y

patógenos. Los mohos continúan desarrollándose a lo largo de todo el crecimiento de la planta, lo que se acentúa cuando envejece y las semillas maduran. La cosecha perturba el ecosistema y las condiciones relativamente estables del almacenamiento entrañan un profundo cambio en la composición de la microbiota (10). Los restos vegetales abandonados en el campo suelen albergar esclerocios, como en el caso de *A. flavus*, que serán la fuente de contaminación del cultivo en la temporada siguiente (11).

El crecimiento fúngico continua en los productos frescos después de la cosecha y causa lesiones que desfiguran el aspecto en los granos de cereales, los hongos persisten si el grano no está suficientemente seco como para soportar la competencia de otras especies incorporadas posteriormente. Los factores que influyen en su desarrollo son el contenido de humedad del sustrato, el grado de invasión fúngica antes del almacenamiento, la actividad de insectos y ácaros que facilitan la diseminación. Requieren menor humedad relativa ambiente y pueden crecer a menor concentración de oxígeno (10).

## 2.2 Epidemiología del hongo en campo

Desde los campos de cultivos, las semillas son expuestas en contacto directo con comunidades de hongos presentes en el suelo o la vegetación circundante, tales como varios integrantes de los géneros: *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Paecilomyces*, *Scopulariopsis* etc., pero en especial por especie de *Aspergillus*, que bajo condiciones ambientales apropiadas (temperatura y humedad) y su gran capacidad xerofílica ( $a_w$  bajo 0,90), pueden ser los primeros colonizadores del grano causando biodeterioro (40, 38, 42, 43).

Una infección fúngica patógena que ocasiona daños al cultivo mismo por lo que la utilización de fungicidas es una práctica común. Sin embargo, el uso de estos productos químicos debería hacerse con cuidado, ya que un uso inadecuado de ellos puede llevar incluso a un incremento en la contaminación debido al stress

ocasionado al hongo. El objetivo de controlar la humedad es mantener los insumos libres de crecimiento fúngico y así evitar la formación de sus metabolitos, no hay que olvidar que una vez iniciado el crecimiento fúngico el agua producida por el metabolismo del hongo puede dificultar el secado (34).

La planta sana que crece activamente tiene muchas barreras a la infección, pero éstas suelen ser sobrepasadas por microorganismos especializados que conducen a una interrelación planta-hongo muy específica (33).

### 2.3 Epidemiología del hongo en el silo

Los mohos en el ensilaje se detectan por la aparición de filamentos de diversos colores, de acuerdo a las especies presentes. Se desarrollan en cualquier sitio del ensilaje donde encuentren oxígeno, inclusive trazas. En un buen ensilaje eso ocurre sólo al inicio del almacenamiento y se restringe a la capa exterior de la masa ensilada, pero durante la fase del deterioro aerobio todo el ensilaje puede ser invadido por mohos. Las especies que se presentan frecuentemente pertenecen a los géneros *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Byssochlamys*, *Absidia*, *Arthrinium*, *Geotrichum*, *Monascus*, *Scopulariopsis* y *Trichoderma*. Los mohos disminuyen el valor nutritivo, la palatabilidad del ensilaje y son un riesgo para la salud de los animales y las personas (27, 28, 29, 30,31).

El oxígeno es fundamental para el crecimiento de hongos, así es que las prácticas de manejo de ensilaje que tiendan a eliminar o disminuir la presencia de aire prevendrán el crecimiento de hongos (35). El crecimiento de hongos se observa con frecuencia en ensilajes donde no se consiguieron y/o mantuvieron condiciones de anaerobiosis (36, 37).

La obtención de ensilaje de elevada calidad y valor nutricional requiere optimizar, entre otros aspectos, la densidad, humedad y el contenido de azúcares solubles

en agua. La reducción o pérdida del valor nutricional del material ensilado durante su almacenamiento ocurre debido al desarrollo de hongos (25).

La conservación del ensilaje se presenta a valores de pH entre 3.7 - 4.2 durante la apertura de los silos, el ingreso de aire favorece el desarrollo de bacterias y hongos indeseables, los cuales pueden ocasionar la disminución del valor nutricional. Sin embargo, durante esta fase aeróbica no parece existir una correlación entre valores bajos de pH y estabilidad o conservación del ensilaje. La producción de ácido acético por bacterias ácido lácticas heterofermentativas contenidas en inoculantes aumenta la estabilidad aeróbica del silo frente al deterioro causado por microorganismos indeseables (26).

El fin esencial del ensilado es conservar los forrajes con un mínimo de pérdidas de materia seca y de nutrientes, manteniendo una buena palatabilidad por el ganado y sin que se produzcan durante el proceso sustancias tóxicas para la salud animal. Aunque tiene sus condicionantes y problemas, resulta preferible a otros métodos de conservación, ya que permite una mayor independencia ante condiciones meteorológicas adversas, pudiendo además emplearse en forrajes como el maíz u otros productos de gran interés alimenticio, en los que no cabe otra forma de preservación. Además, facilita la mecanización de las explotaciones, ya que el proceso de recolección, realización y distribución del ensilado, puede ser íntegramente mecanizado (32).

#### 2.4 Generalidades de micotoxinas en el silo

La contaminación de los granos después de la cosecha se da principalmente por los hongos *Aspergillus spp.* que producen, el primero las muy conocidas Aflatoxinas. En esta etapa la formación de micotoxinas se puede evitar mediante el control de la humedad desde la recepción en el almacén. El objetivo de controlar la humedad es mantener los insumos libres de crecimiento fúngico y así evitar la formación de micotoxinas, no hay que olvidar que una vez iniciado el

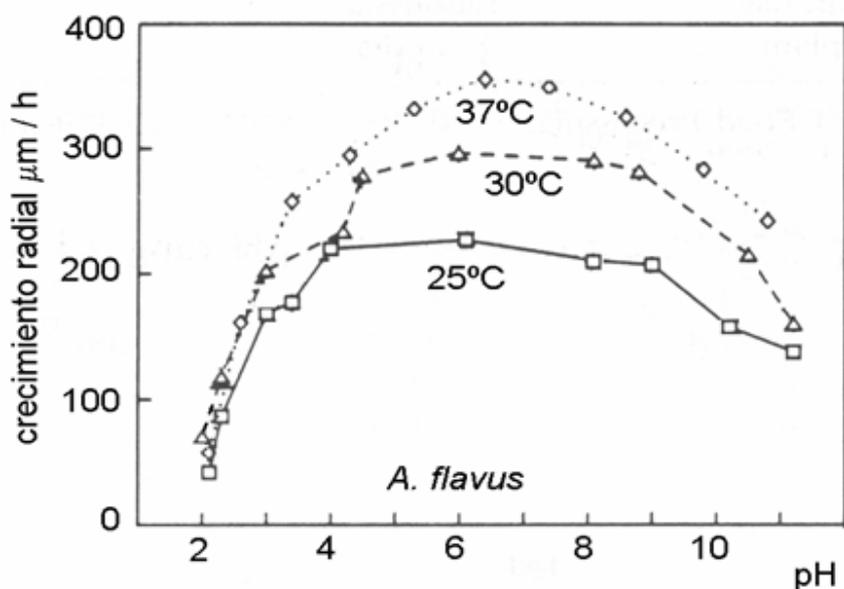
crecimiento fúngico el agua producida por el metabolismo del hongo puede dificultar el secado. La contaminación como puede deducirse, es un proceso aditivo, que comienza desde el campo de cultivo y se incrementa en los pasos subsecuentes de cosecha, almacenamiento y uso final (3).

La preparación adecuada del ensilado crea condiciones (anaerobiosis y rápidos cambios de pH) donde futuro crecimiento de moho y la producción de sus metabolitos puede ser controlado. Sin embargo, algunos mohos pueden sobrevivir en estas condiciones extremas y todavía ser capaces de producir micotoxinas. Adicionalmente, las toxinas existentes antes del ensilaje estarán presentes en el mismo, aún si ocurre una fermentación adecuada. Si consideramos el estado de muchos de los silos que se ven en campo, donde las condiciones de anaerobiosis no siempre son mantenidas no es difícil de imaginar que muchos de estos silos están contaminados con estas dañinas toxinas (20).

Dentro de las actividades biológicas de importancia en el almacenamiento, se destaca la producción de micotoxinas, estimándose que cada año, el 25 % de las cosechas mundiales se ven afectadas por la colonización fúngica (44, 45). El maíz es uno de los substratos más comunes en la presencia de micotoxinas, especialmente cuando se cultiva en zonas tropicales o cálidas, donde los integrantes del género *Aspergillus* encuentran las condiciones de temperatura y humedad óptimas para su desarrollo (46).

Las micotoxinas de mayor importancia para el ganado lechero que se alimenta de forrajes almacenados son Aflatoxina (AF), Fumitremorgeno y Sterigmatocistina, mismas que son principalmente producidas por mohos de *Aspergillus spp.*; Deoxinivalenol (DON), Zearalenona (ZEN), Toxina T-2 (T-2), Diacetoxiscirpenol (DAS) y Fumonisina, que son producidas por mohos de *Fusarium spp.*; y Ocratoxina (OTA), Toxina PR, y Roquefortina primariamente producida por mohos de *Penicillium spp.* (20).

*Aspergillus flavus* produce aflatoxinas (AFs) pueden encontrarse como contaminantes naturales a un cuando el hongo no este presente (13). En cereales y oleaginosas (algodón, girasol y otros). Es así que los factores que influyen en su desarrollo es el grado de invasión fúngica antes del almacenamiento, la actividad de insectos y ácaros (4).



**Figura 1.** Efecto del pH y temperatura sobre la velocidad de crecimiento de *Aspergillus flavus*.

**Cuadro 1.** Temperatura y actividad de agua requeridas para el desarrollo de algunas especies de *Aspergillus* (46).

ESPECIES	TEMPERATURA °C		ACTIVIDAD DE AGUA	
	RANGO	ÓPTIMO	MÍNIMO	ÓPTIMO
<i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>	6 - 45	35 - 37	0,78	0,95
<i>A. candidus</i>	3 - 44	25 - 32	0,75	0,90 - 0,98
<i>A. fumigatus</i>	10 - 55	40 - 42	0,85	0,98 - 0,99
<i>A. restrictus</i>	9 - 40	30	0,71	0,96
<i>A. versicolor</i>	4 - 39	25 - 30	0,78	0,95

Numerosas especies de plagas de insectos son importantes fuentes de inoculó primario y participan activamente en la diseminación e inoculación de *A. flavus* en

maíz. Los conidios son llevados y se perpetúan en el cuerpo de los insectos, y el hongo ha sido aislado del tejido intestinal, de otros tejidos internos y de su superficie. (47) También se ha comprobado que es patógeno a muchos de ellos, forma esclerocios y esporula sobre el cuerpo de insectos muertos. Larvas de lepidópteros son fuente de inoculó secundario, depositan conidios sobre los estigmas, a la vez que causan daño primario en la mazorca del maíz y los adultos son capaces de inocular el hongo durante la ovoposición. Asimismo, estos insectos llevan interna y externamente conidios de *A. flavus* los cuales adquieren, bien sea de desechos orgánicos de maíz en el suelo, o de mazorcas con daño primario por lepidópteros (48, 49, 47).

### 2.3 Signos Clínicos

Los signos clínicos no difieren materialmente de las neumonías producidas por otras causas, donde se presentan descargas nasales mucopurulentas, tos o estornudo. También se puede producir conjuntivitis, afectar la piel, las meninges, inmunosupresión, pérdida del apetito, hepatotoxicidad, nefrotoxicidad, cáncer, alteración en el metabolismo de proteínas, carbohidratos y glúcidos. Desde el punto de vista reproductivo, estos hongos pueden provocar abortos en el bovino desde el tercer al octavo mes de la gestación, donde el feto abortado rara vez está vivo y la placenta es retenida en aproximadamente el 60 % de los casos (6). También en bovino se han descrito mastitis producidas por *Aspergillus* (16) es importante considerar que algunos de estos trastornos tóxico-alimentarios producidos por ensilajes pueden ser de tipo agudo, produciendo la muerte de los animales en forma bastante rápida; como también pueden generar cuadros subclínicos, es decir, en que no se observa signos de enfermedad, caracterizándose sólo por disminución en la producción con cuadros muy solapados y difíciles de diagnosticar.

## 2.4 Lesiones

Desde el punto de vista patológico, los tejidos respiratorios se caracterizan por presentar lesiones inflamatorias granulomatosas, las que podrían diseminarse vía hematógena a otros órganos. Macroscópicamente, las lesiones placentarias del aborto micótico bovino debidas a *Aspergillus fumigatus*, muestran cotiledones de color amarillo a gris, los que están notablemente engrosados, en especial en la periferia. En algunos casos el tejido intercotiledonal aparece con aspecto de cuero y tiene un color gris. El número de los cotiledones afectados es variable. Como característica se observa una placentitis hemorrágica necrosante con los cambios más severos en los cotiledones. Puede ocurrir extensa necrosis con infiltración de polimorfonucleares alrededor de las áreas necróticas y distribución difusa alrededor de la placenta. Cabe notar que la placentitis hemorrágica necrosante y la vasculitis en los animales afectados se debe a la predilección de los hongos por los vasos sanguíneos, situación que es observable como hifas invadiendo las paredes de estos vasos. Algunos fetos abortados aparecen normales a la inspección. Los que aparecen más afectados, generalmente muestran lesiones circunscritas, elevadas, grisáceas (6).

## 2.5 Microscopía y Cultivo

La microscopía, ésta permitirá observar las hifas y el micelio el cual mide 4-6  $\mu$  de ancho, es tabicado y de un diámetro regularmente uniforme. En cuanto al cultivo, las especies de *Aspergillus* crecen fácilmente en el agar glucosa de saboraud. Las colonias de *Aspergillus fumigatus* crecen rápidamente y son planas. Al principio son blancas y ligeramente vellosas, pero conforme se desarrollan las conidias toman un color verde azulado oscuro y un aspecto aterciopelado. Los cultivos viejos tienen una apariencia gris "ahumada", muy característica. Las colonias *Aspergillus flavus* son granulares, planas, a menudo con acanaladuras radiales, de color amarillo al principio, pero tornándose rápidamente de brillante a un opaco verde amarillento con el tiempo. (6)

## 2.6 Diagnóstico Diferencial

Clínicamente, la Aspergilosis necesita ser diferenciada de otras micosis y de infecciones respiratorias de etiología viral. El aborto micótico bovino puede ser parecido al de la Brucelosis, Vibriosis y Leptospirosis (1).

## 2.7 Prevención y control.

Según la forma de ingreso del agente, ya sea vía respiratoria y/o digestiva, es necesario considerar los siguientes aspectos: Hacer razonar al productor que la adquisición para su ganado de materia prima "supuestamente económica", conlleva un gran riesgo de un producto en deficientes condiciones nutricionales, las que pueden estar contaminadas con estos hongos: Evitar el almacenamiento prolongado de los granos pos-cosecha, Chequeo calidad del alimento, aseo rutinario de las camas, control de los insectos y ácaros. Cuando observamos la presencia de hongos, podemos estar seguros que la calidad del alimento está disminuida, ya que el hongo para su desarrollo utiliza la proteína y la energía del sustrato. Se calcula que la contaminación fúngica produce una disminución entre un 7 y un 10 % en su nivel energético y proteico (1).

Por otra parte son importantes las condiciones desarrolladas de la planta durante la cosecha (materia seca), el corte (Tamaño de partícula), el transporte, el almacenaje o ensilado (compactado adecuado, tapado eficiente, plásticos o un inadecuado manejo de la cara del silo) (2).

El contenido de materia seca en toda la planta se recomienda que sea de 30 a 35%, es decir, 70 a 65% de humedad y el avance de línea de leche varía entre 1/2 y 2/3, La persona que produce el maíz, naturalmente desea obtener altos rendimientos, por lo tanto cosechan el maíz a una altura de 10-20 cm. Desde el punto de vista nutricional, esta altura de corte demerita el valor nutritivo, en otras palabras, si se cosecha a una altura mayor se puede obtener un maíz que

producirá ensilado de mayor calidad una altura de 40 a 50 cm, las cañas tienen en promedio 3 nudos.

El tamaño de partícula es importante porque tiene efecto sobre la preparación del silo para ensilar maíz se recomienda un tamaño de partícula de .95 a 1.27 cm, generalmente se redondea a 1 a 1.5 centímetros. Si se utilizan cosechadoras con procesador o roladora se puede optar por un tamaño mayor (aprox. 2 cm).

Al momento de compactar el maíz en el silo, el tamaño de partícula es muy importante. Si el tamaño de partícula es demasiado grande se va a dificultar la compactación porque queda mucho aire atrapado entre las capas de maíz picado. Si queda mucho aire se producirá una fermentación aerobia que es perjudicial para un buen ensilado (30).

En cuanto al compactamiento del ensilado debe de ser de acuerdo a la tecnología con que se cuente y con la cantidad mayor de tractores 1., con pala para regar el ensilado y hacer una capa aproximada de 30 cm 2., para ir compactando de norte-sur 3., de este-oeste 4., para hacer un aplanado trasverso; esto se hace con la finalidad de ahorrar tiempo y el ensilaje quede en el menor tiempo posible.

El tapado se debe de realizar con un plástico de calibre de 3-5 mm tratando que se de una sola hoja y el sellado correcto se debe de hacer con arena comenzando de en medio para terminar a las orillas para no dejar bolsas de aire por ultimo se le puede agregar llanta para hacer mas contrapeso por corrientes de aire fuertes.

### III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Descubrir la presencia del hongo *Aspergillus* spp. en ensilajes de maíz, sorgo, dentro de las bodegas donde quedan los sobrantes no utilizados en la ración diaria, carro revolvedor, en comedero servido (que es cuando ya a sido mezclado con otros ingredientes). La presente investigación se llevó a cabo debido a que en este establo se han venido presentando una serie de enfermedades que no han reaccionado ante los antibióticos y algunas vacas mueren rápidamente después del tratamiento.

Los medios más prácticos para la infestación fúngica y la producción de toxinas consisten en que se crean por la excesiva humedad se multiplican enormemente cuando las técnicas de manipulación de los productos después de la cosecha son deficientes (8).

Por otra parte el Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos, del *Codex Alimentarius*, recomienda que cuando se utilicen alimentos fermentados, éstos deben prepararse, almacenarse y utilizarse de tal forma que se reduzca al mínimo el riesgo de contaminación de la leche y debe prestarse especial atención a buenas prácticas en relación con los siguientes aspectos: diseño de los silos; buenas prácticas de producción en el ensilado; control periódico de la calidad de los alimentos fermentados (mediante una inspección organoléptica o del pH), y registro de la información pertinente relativa a los alimentos (9).

#### **IV. JUSTIFICACION**

Lo que se pretende con esta investigación es dar a conocer la incidencia de hongo *aspergillus* en los forrajes que van a ser destinados para el consumo de los animales y dar un manejo adecuado evitando el crecimiento de los hongos patógenos desde: la obtención de la semilla, estudio de la tierra donde se sembrara, antecedentes de infestaciones por plagas de insectos y malezas, como y cuando usar fertilizantes y plaguicidas para evitar el estrés de la planta; una vez cosechados listos para ensilarse se debe de tener énfasis a todo el proceso del ensilado (porcentaje de materia seca, el corte de la planta, tamaño de partícula, inoculantes, tiempo de vaciado de los carros transportadores hacia el silo, tamaño de la capa, compactado correcto, tapado y sellado; cuidar que no exista condiciones de aerobiosis por rupturas en los plásticos.

## **V. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION**

- Identificar *Aspergillus* spp en silos de maíz y sorgo en un establo lechero comercial, en la Comarca Lagunera.
- Realizar estudios microbiológicos para el aislamiento de hongos a partir de silos de maíz y sorgo.

## **VI. MATERIAL Y MÉTODOS**

El presente estudio se llevó a cabo en los meses de octubre de 2009 al mes de febrero de 2010, en Granja Nazas ubicada en el km 2 de la carretera Gómez Palacio a Esmeralda, en el municipio de Gómez Palacio, Durango. El establo lechero cuenta con 1600 vacas en ordeña y un total de 4800 animales en todo el hato.

Se tomaron 26 muestras de alimento servido en los corrales de producción, 8 muestras de silo de maíz, 3 muestras de silos de sorgo, 2 muestras de alfalfa picada y 3 muestras del carro revolvedor, dando un total de 42 muestras. Las muestras se transportaron en bolsas de hule estériles y en refrigeración, hasta su estudio.

El estudio del cultivo se llevó a cabo en el laboratorio de bacteriología de la Unidad de Diagnóstico de la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro", en la Unidad Regional Laguna. Las muestras se homogenizaron con un mortero y se tomaron con una asa de 0.3 cm de diámetro y se cultivaron en el centro de la caja de Petri con un medio de cultivo de Agar Dextrosa Papa y se incubaron a temperatura ambiente durante 24 a 48 horas.

La interpretación se llevó a cabo mediante la observación macroscópica de la colonia. Utilizando un microscopio de luz fotónica se identificaron los hongos para la clasificación del género de los hongos que hayan crecido en 24 a 48 horas. Para la identificación microscópica se realizaron microcultivos tomando una muestra del crecimiento y colocándolo en un portaobjetos, se coloreó con azul de algodón y se montó con resina sintética alrededor y se cubrió con un cubreobjetos.

## VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 42 muestras estudiadas, 13 (31%) presentaron aislamientos de *Aspergillus* spp. Los cultivos de *Aspergillus* spp se encontraron en un 30.8% (8/26) en el alimento tomado de los corrales; 37.5% (3/8) en el silo de maíz; 33.3% (1/3) en el silo de sorgo; 50% (1/2) en la alfalfa picada. Las muestras del carro revolvedor resultaron negativas.

La principal especie diagnosticada fue *Aspergillus flavus*. Otros hongos saprófitos encontrados fueron del género *Geotricum* sp, *Verticillium* sp, *Cladosporium* sp, *Microsporum* sp, *Bauveria* sp y *Alternaria* sp.

**Cuadro 2.** Aislamientos de *Aspergillus* spp de muestras de alimento para vacas en producción, en la Granja Nazas de Gómez Palacio, Durango, México.

N	Muestras	Aislamiento de <i>Aspergillus</i>	
		spp	N (%)
26	Alimentos de los corrales	8	(30.8%)
8	Silo de Maíz	3	(37.5%)
3	Silo de Sorgo	1	(33.3%)
2	Alfalfa picada	1	(50.0%)
	Alimento del carro		
3	Revolvedor		(-)
42		13	(31.0%)

En un estudio realizado en el norte de Tamaulipas México se observó mayor incidencia de hongos toxigenos en maíz blanco almacenado mientras que en el campo se observó un comportamiento inverso. En almacén la incidencia de *Aspergillus* fue mayor, mientras que en el campo fue significativamente baja. El

manejo inadecuado del grano durante la cosecha, transporte y almacenaje generalmente ocasiona el incremento del grano enmohecido. Una cosecha inoportuna y el uso de cosechadora mal calibrada que daño mecánico al grano, así como la deficiente desecación del mismo entes del almacenamiento promueve el incremento de *Aspergillus* en el grano de maíz (21). El manejo inadecuado de las temperaturas en el almacén también es un factor que promueve el desarrollo de los hongos potencialmente toxigenicos siendo la temperatura ideal para que no exista el crecimiento a los 20°C mientras que en los almacenes donde se tomaron las muestras de grano de maíz en es trabajo y de acuerdo con lo reportado por los encargados de los mismos, las temperaturas medias oscilan entre las 24 y 28°C diariamente favorecen para el desarrollo de hongos potencialmente toxigenicos. Por ello, las instituciones involucradas en las medidas necesarias para promover lo mas que se pueda para tener inocuidad del grano de maíz producido (22) indicando que es importante realizar muestreos periódicos para determinar la calidad sanitaria del grano en los almacenes e inclusive en el mismo campo del cultivo y en el grano recién cosechado de modo que paulatinamente se reduzca el riesgo sanitario que presenta el consumo de maíz contaminado (23).

En Argentina, se han aislado especies del género *Aspergillus* en diversos granos, con clara dominancia de *A. flavus* y con menor frecuencia *A. parasiticus*, *A. nomius*, *A. candidus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. oryzae*, *A. parvulus*, *A. tamarisii* y *A. terreus*, entre otros. Así que se puede mencionar que *aspergillus* spp tiene afinidad por esta gramínea. En este análisis del maíz, *A. flavus* mantiene esta dominancia sobre las otras especies del género no hay duda que su distribución no depende mayormente de la latitud de las zonas de cultivo, sino de la distribución de esta gramínea y la capacidad competitiva de esta especie en un ecosistema favorable (50).

## VIII. CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS

Con los resultados obtenidos en esta investigación se puede inferir que la infestación por hongos del género *Aspergillus*, presente en los silos, es debido a la contaminación de la planta durante el cultivo y los porcentajes de contaminación son preocupantes. Al estar contaminados los silos, los hongos pueden desarrollarse aún más durante el mal almacenamiento de los alimentos húmedos.

La prevención del deterioro debe ser una parte importante de todo programa de ensilaje. En vista de la importancia económica del uso de ensilados y de los riesgos de un posible deterioro, es importante poner atención a los principios básicos en la preparación, almacenamiento, y alimentación de los mismos.

Es recomendable planificar todas las labores del cultivo, desde la siembra a la cosecha, usando semilla de buena calidad y sembrar variedades tolerantes a plagas, utilizando fertilizantes en tiempo y cantidad necesaria; cuando las plagas se escapan del control natural y biológico se sugiere usar plaguicidas no más ni menos de lo mínimo necesario; practicar rotación de cultivos, cero labranza o labranza mínima, épocas de siembra, manejo de plantas no deseables (malezas), y densidad de siembra entre otras prácticas culturales.

Hay que eliminar los rastrojos de maíz o sorgo que contengan el hongo. No sembrar maíz ni sorgo en lotes donde hubo enfermedad. En lotes donde hubo ataque de pudrición, hay que sembrar otro cultivo como frijol, soya, yuca o maní, de esta forma se evitará que se reproduzca la enfermedad.

Finalmente se puede decir que al cuidar el alimento que consumen los animales en producción se contribuye a la inocuidad alimentaria, que repercute en una mejor nutrición humana y en un menor número de enfermedades.

## IX. ANEXOS



**Figura 2.** Cara frontal del silo abierto mal cortada y expuesta en gran cantidad a aireación.



**Figura 3.** El mal manejo del corte del silo facilita la infestación por hongos.



**Figura 4.** Descomposición de algunas partes del silo por hongos.



**Figura 5.** Mal manejo del corte del silo dejándolo a intemperie el sobrante.



**Figura 6.** Uso de las bodegas en mal estado para el sobrante de silo de la ración



**Figura 7.** Bodega con sobrante de la ración.



**Figura 8.** Bodegas de almacén para alimentos de la ración incluyendo sobrantes de los silos.



**Figura 9.** Maquinaria apropiada para el ensilado.



**Figura 10.** Conteo del tiempo de vaciado de los carros transportadores de la labor hacia el lugar del ensilado.



**Figura 11.** Compactación adecuada del silo.



**Figura 12.** Mal sellado de silo.



**Figura 13.** Correcto sellado del silo con doble capa plastificada.



**Figura 14.** Un adecuado manejo del silo descubriendo y haciendo un corte transversal correcto de la cara solo de la cantidad necesaria por día.

## X. LITERATURA CITADA.

1. Odriozola, E. (2003). Problemas sanitarios relacionados con la alimentación. 1ª .Jornada de Actualización Ganadera, Balcarce. \*INTA Balcarce.
2. Denli, M. y Pérez, J.F. (2006). Contaminación por micotoxinas en los piensos: efectos, tratamiento y control. Departamento de ciencia animal y de los alimentos. Facultad de Medicina Veterinaria, Boletín técnico. Universidad Autónoma de Barcelona.
3. Park, D. (2002). The concept of Food Safety” International Workshop on Mycotoxins. College Park, Maryland, USA.
4. Jurado, R. 1989. Toxicología Veterinaria. Segunda Edición. Salvat. Madrid, España. pág. 618.
5. <http://www.ropana.cl/Toxivet/Micotoxinas.htm>
6. Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos (2004). CAC/RCP 57–2004 Page 1 of 44
7. Lacey, J. (1989). Pre- and post-harvest ecology of fungi causing spoilage of foods and other stored products. Journal of Applied Bacteriology, Symposium Supplement. 11 - 25.
8. Widstrom, N.W. (1992). Aflatoxin in developing maize: interactions among involved biota and pertinent econiche factors. pp. 23-58 en: Mycotoxins in Ecological Systems. Bhatnagar D et al., editores. Marcel Dekker, New York.
9. Christensen, C.M. (1987). Field and Storage Fungi. pp. 211-232 en: Beuchat LR, ed. Food and Beverage Mycology. New York, Van Nostrand Reinhold.
10. Arreola, J., Vega, C., Navarro, E., y Burciaga, G. (1996). Potencial forrajero de híbridos de maíz (*zea mays*) en la Comarca Lagunera. Agronomía mesoamericana. 7(2):88-92.
11. Clavijo, M., Frioni, N. (2009) Micotoxicosis en pasturas. pp.1-12 en: Facultad de agronomía, universidad de la republica Montevideo Uruguay
12. Antòn, A., Lizaso, J. (2001) Hongos Y Micotoxinas. Fundación Ibérica para la seguridad Alimentaria, 1 (205), tomo XXX, España.

13. Morrison, B.F. (1977) Compendio de alimentación del ganado. Traducción al castellano de la 8a. edición en inglés por J.L. de la Loma. Editorial U.T.H.E.A. México pp. 268-294, 418-439.
14. Perusia, O., Rodríguez, R. (2001) Micotoxicosis. 1 R I V Perú; 12(2): 87-116
15. Bauer, J., Gareis, M., Bott, A, Gedek, B. (1989) Isolation of a mycotoxin (gliotoxin) from a bovine udder infected with *Aspergillus fumigatus*. *J Med Vet Mycol*; 27: 45-50.
16. Jones, F.T., W.H. Hagler y P.B. Hamilton. 1982. "Association of low levels of Aflatoxin in feed with productivity losses in commercial broiler operations". *Poultry Sci.*, 61, 861-868.
17. Margolles, E, Escobar A. Aflatoxina B1: Principales aspectos toxicológicos. *Revista de Toxicología* 1996; 13: 63-70.
18. Yiannikouris, A, Jouany J P. Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review. *Anim Res* 2002; 51: 81-99.
19. Council for agricultural science and technology (CAST) (2003) task porce report 139 ames IA 2003 Iowa USA
20. Munkvold, G. P. (2003). Cultural end genetic approachesto de managing micotoxins in maize. *Annual review of de phytopathology* 41:99-116
21. Martinez, F.R., Garcia,A . G. (2003) Inspección de Aflatoxinas en maíz cultivad, almacenado y transportado en el estado de Tamaulipas, México en 1998. *Anales del instituto de biología, serie botánica* 74:313-321.
22. Robison, F.V., Garcia A. G.,Gonzalez H. L. (2005) Niveles de micotoxinas en maíz disponibles en el estado de Michoacán, México. *Ciencia nicolaita* 40:67-76.
23. Oudeelferink, S., Driehuis, F., Gottsschal, J., Spoelstra, S. (2001). Silage fermentation processes and their manipulation. *FAO Electronic conference on Tropical silage*.
24. Garon, D., Richards, E., Sage, L., Bouchart, V., Pottier, D., Lebailly, P. 2006. Mycoflora and Multimycotoxin Detection in Corn Silage: Experimental Study *J. Agric. Food Chem.* 54:3479-3484

25. Danner, H., Holzer, M., Mayhuber, E., Braun, R. 2003. Acetic Acid increases stability of silage under aerobic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 69(1):562-567.
26. Pelhate, J. (1977) Maize silage: Incidence of moulds during conservation. En: *Folia Veterinaria Latina*. Vol. 7; pp.1-16.
27. Woolford, M.K. (1984) *The Silage Fermentation*. New York: Marcel Dekker, (Microbiological Series, no.14)
28. Frevel, H.J.; Engel, G. y Teuber, M. (1985) Schimmelpilze in Silage und Rohmilch. En: *Milchwissenschaft*. Vol. 40; pp.129-132.
29. Jonsson, A. (1990) Effect of additives on quality of big-bale silage. En: *Animal Feed Science Technology*. Vol. 31; pp.139-155.
30. Nout, M.J.R. (1993) Fungal growth in silages of sugar beet press pulp and maize. En: *Journal of Agricultural Science*. Vol. 121, no. 3; pp. 323-326.
31. Roza, B. de la., Martínez, A., Argamentería, A. (1999). Elaboración, control y calidad de lo ensilados. Estabilidad aeróbica. En: *IV Jornadas Vacuno Lechero*. La Esperanza.. Tapia S.V. 21 pp.
32. Mantle P. G. (1991). Miscellaneous toxigenic fungi. En Smith JE, Henderson RS, eds. *Mycotoxins and Animal Foods*. CRC Press, Boca Ratón. pp.141-152.
33. Jones, F.T., Hagler, W.H., Hamilton, P.B. (1982). "Association of low levels of Aflatoxin in feed with productivity losses in commercial broiler operations". *Poultry Sci.*, 61, 861-868.
34. Schlatter, I.k., smith, k. (1999). effects of mold growth on nutrient availability in animal feeds. pages 139-144 in four-state applied nutrition and management conference. mwps-4sd5. iowa state university-extension, n university of illinois- extension, university of minnesota-extension, university of wisconsin-extension.
35. Clarke, a.f. (1988). mycology of silage and mycotoxicosis. pages 19-33 in: stark, b.a. and j.m. wolkinson (eds.) *silage and health*. chalcombe publications

36. Uriarte-Archundia, M.E., Bolsen, K.K., Brent, B. (2002). A study of the chemical and microbial changes in whole-plant corn silage during exposure to air: effects of a biological additive and sealing technique. The XIIIth International Silage Conference. Auchincruive, Scotland. pp 174 -175.
37. Wicklow, D.T. (1995). The Mycology of Stored Grain: An Ecology Perspective. *Stored-Grain Ecosystems* 7:197-249
38. Woloshuk, C.P.; Cavaletto, J.R. & Cleveland, T.E. (1997). Inducers of Aflatoxin Biosynthesis from Colonized Maize Kernels Are Generated by an Amylase Activity from *Aspergillus flavus*. *Biochemistry and Cell Biology* 87:164-169
39. Moss, M.O. (1991). Mycology of cereal grain and cereal
40. Horn, B.W. & Dorner, J.W. (1998). Soil populations of *Aspergillus* species from section *Flavi* along a transect through peanut-growing regions of the United States. *Mycologia* 90: 767-776
41. Samson, R. A.; Hoekstra, E.S.; Frisvad, J. C. & Filtenborg, O. (2000). Introduction to Food-Borne Fungi. 6th edn. CBS, Utrecht.
42. Osweiler, G. D. (1992). Mycotoxins en Diseases of Swine. 7th Edition, Wolfe Publishing, London. pp. 735-743.
43. Devegowda, G.; Radu, M.; Naza, R. A.; Swamy, H. (1998). Micotoxin Picture Worldwide: Novel Solutions for their Counteraction en Proceedings of Alltech's 14th Annual Symposium. Biotechnology in the Feed Industry. Passport of the Year 2000. Nottingham University Press, U. K. pp. 241- 255
44. Picco, A.M & Piontelli, E.(2005).VII. Muffe contaminanti di alimenti e derrate alimentari. En: Rondanelli, E,G.; Fabbi,M.& Marone,P. (Eds.)Trattato sulle infezioni e tossinfezioni alimentari, Selecta Medica, Pavia. pp. 845-897
45. Lacey J. (1989). Pre- and post-harvest ecology of fungi causing spoilage of foods and other stored products. *Journal of Applied Bacteriology*, Symposium supplement. 11S - 25S.
46. Wicklow D, T. (1991) Epidemiology of *Aspergillus fl avus* in corn. En: O.L. Shotwell and C.R. Hurburg, eds. Afl atoxin in corn: new perspectives. Ames,

47. Iowa: Iowa Agricultural and Home Experiment Station. Iowa State Univ Res Bull 599. p. 315-328.
48. Dowd P, F. (1991). Nitidulids as a vector of mycotoxin-producing fungi. En: O.L. Shotwell and C.R. Hurburg, eds. Aflatoxin in corn: new perspectives. Ames, Iowa: Iowa Agricultural and Home Experiment Station, Iowa State Univ Res Bull 599. p. 335-342.
49. Mcmillian W. (1986). Relation of insects to aflatoxina contamination in maize grown in the southeastern USA. En: M.S. Zuber, E.B. Lillehoj and B.L. Renfro, eds. Aflatoxin in maize: A Proceedings of the Workshop. Mexico, D.F.: CIMMYT. p. 194-200.
50. Barros, G.; Torres, A.; Palacio G. & Chulze, S. (2003). *Aspergillus* sepecies from section Flavi isolated from soil at planting and harvest time in peanut-growing regions of Argentina. Journal of the Science of Food and Agriculture. 83: 1303-1307.