

06/14 - La profundidad de la cama y la temperatura ambiental en la detección de hongos en granjas avícolas

Vet. Arg. ? Vol. XXXI ? N° 314? Junio 2014.

Encalada Paredes, María Estela 1, Zaldívar Quintero, C. Nelson 2 y Almeida Saavedra, C. Manuel. 3

Resumen

En este trabajo se investigan mohos filamentosos y levaduras que se presentaron en las granjas avícolas localizadas en los cantones Cuenca y Santa Isabel, pertenecientes a la república del Ecuador; los indicados hongos son parte de la interacción de factores que incidieron en la investigación de laboratorio y de campo. Tiene como objetivo aislar e identificar los hongos presentes en las camas de viruta de madera, cascarilla de arroz, evaluando su relación con la temperatura ambiental. El trabajo se lo realizó en base a una revisión documental impresa y electrónica, como también mediante análisis micológicos de laboratorio, para lo que se realizaron 2 diluciones en solución triptonada, luego se sembraron por duplicado en Sabouraud 4% glucose agar (MERCK) y se incubaron a temperatura ambiente durante 5 a 7 días. Cumplido el periodo indicado se realizó el conteo de las colonias en las placas de Petri de ambas diluciones por duplicado y se multiplicó por el factor de dilución (LIDA ? IIA, 2001). Se hicieron estudios estadísticos y de diseño experimental, confrontando conceptos, teorías, desafíos, perspectivas y reflexiones actuales sobre lo que comprende la inseguridad alimentaria. Como resultado se establece contribución a la seguridad alimentaria Se concluye que el moho filamentoso más frecuentemente aislado en las camas de viruta de madera y cascarilla de arroz fue *Aspergillus flavus* y que los mohos filamentosos fueron en número mayor significativamente en la zona cálida, estando presente a la profundidad de 5 y 10 cm. de la cama

Palabras claves: Hongos, camas de viruta de madera, camas de cascarilla de arroz.

1-Profesora de Microbiología, Universidad de Cuenca, Ecuador

2-Profesor de Anatomía Patológica, Universidad de Granma, Cuba

3- Profesor de Química, Universidad de Granma, Cuba.

Introducción

La producción de pollos de ceba constituye un rubro económico importante en el Ecuador y especialmente en los cantones Santa Isabel y Cuenca, pertenecientes a la provincia del Azuay, lugar en el cual se realizaron los ensayos de la presente investigación.

En las últimas cinco décadas, profesionales y empresarios con vocación a la producción animal, han instalado granjas tecnificadas, altamente integradas con el tipo de producción vertical, así como también granjas semitecnificadas, medianas o insuficientemente integradas, con el tipo de producción transversal.

El control profiláctico en la higiene de las camas para la crianza de pollos de ceba constituye un factor fundamental en el resultado de las mismas, evitando las micosis y otras enfermedades que afectan esta especie, según (Quinn *et al.*, 2004) los mohos filamentosos y las levaduras, fueron las dos morfologías fúngicas principales que estuvieron presentes en la interacción de las camas de viruta de madera, cascarilla de arroz y pollos de ceba.

De acuerdo a lo indicado precedentemente, existe la necesidad de resolver el problema con prontitud, mediante programas de control profiláctico, para disminuir las pérdidas en los ingresos económicos de los productores, que de hecho tienen un impacto social.

Los ensayos investigativos se desarrollaron con el objetivo de determinar e identificar los hongos presentes en las camas de los pollos de ceba y su relación con las micosis, considerando la influencia de la temperatura ambiental.

Materiales y métodos

Los experimentos se realizaron en el periodo comprendido entre el 01 de octubre de 2007 al 08 de enero de 2008; las muestras se tomaron en granjas avícolas ubicadas en parroquias de los cantones Cuenca y Santa Isabel de la provincia del Azuay, Ecuador.

En el cantón Cuenca se tomaron muestras en las granjas avícolas localizadas en las parroquias de Baños, Sinincay y Parque Iberia, estas últimas poseen una altitud de 2562 m s.n.m. y una temperatura que fluctúa entre los 13 y 15 °C. En el cantón Santa Isabel, las muestras se tomaron en las granjas avícolas localizadas en el Valle de Yunguilla, esta última posee una altitud de 200 m s.n.m. y una temperatura de 22 a 26 °C.

Para el aislamiento e identificación de los hongos presentes en las *camas de los pollos de ceba*, se procedió a tomar muestras de cama de viruta de madera durante

3 semanas, en las tres parroquias del cantón Cuenca; las indicadas 9 muestras se analizaron por duplicado, las cuales fueron tomadas a la profundidad de 5 centímetros. En el Valle de Yunguilla del cantón Santa Isabel, se analizaron por duplicado a la profundidad de 5 centímetros, 49 muestras de cama de cascarilla de arroz; igual número de muestras a la profundidad de 10 centímetros por duplicado, fueron analizadas durante 7 semanas.

Para investigar la presencia de los hongos patógenos en cada una de las muestras de cama, se realizaron 2 diluciones en solución triptonada, luego se sembraron por duplicado en Sabouraud 4% glucose agar (MERCK) y se incubaron a temperatura ambiente durante 5 a 7 días. Cumplido el periodo indicado se realizó el conteo de las colonias en las placas de Petri de ambas diluciones por duplicado y se multiplicó por el factor de dilución (LIDA ? IIA, 2001).

A continuación se observó las características macroscópicas de las colonias y la observación microscópica de las estructuras germinativas coloreadas con lactofenol azul de algodón, como también se procedió a medirlas con el micrómetro. Para determinar *Candida albicans*, se aplicó la prueba del tubo germinal o filamentosación precoz, se procedió a la tinción de Gram y se observó las estructuras microscópicas del hongo levaduriforme.

En el primer análisis estadístico, los datos fueron procesados mediante la regresión del número de hongos presentes en las camas (Y), sobre el tiempo de duración del engorde (X), para determinar la curva de respuesta, granja por granja y el total de todas las granjas. En el segundo análisis estadístico, se estableció la influencia de la profundidad de la cama (X) sobre la cantidad de hongos presentes en dichas camas (Y), para lo cual se utilizó la comparación de medias con *prueba de t* a 5cm (T1), como también a 10 cm (T2). También se analizó la influencia de la zona climática (X) sobre la cantidad de hongos presentes en las camas (Y) y la comparación de promedios se la efectuó con *prueba de t* para zona cálida (T1), y zona templada (T2), para la base de datos total.

Para los análisis se utilizaron los paquetes estadísticos: Statistical Data Analysis (SDA) R for Windows Versión 2.5.1 (R. Development Core Team, 2008). Para los gráficos de caja, se recurrió al programa estadístico SPSS (Statistical Pack for Social Sciences) para Windows, versión 15 (SPSS Inc., 2006).

Resultados y discusión

La viruta es un material que se obtiene a partir de la madera y el tamaño de las partículas es de aproximadamente 3 cm. El indicado material, tiene un buen poder de absorción y es el más utilizado como cama en la avicultura (Santos *et al.*, 2000).

La cascarilla de arroz, tiene baja capacidad de absorción y se compone de pequeñas partículas que pueden ser ingeridas por los pollos de ceba e incluso pueden existir riesgos de intoxicación (Avila *et al.*, 1992).

Investigadores señalaron que, cuanto menor sea el tamaño de las partículas de las camas de pollo de ceba, mayor es la retención de agua (Pearson *et al.*, 2000). La cama de cascarilla de arroz en condiciones húmedas, es apta para el desarrollo de hongos patógenos como el *Aspergillus flavus* y *Aspergillus fumigatus* (Rojas *et al.*, 2002).

En las camas de los pollos de ceba, la utilización de la viruta de madera, ha sido comparada por sus beneficios con la utilización de las hojas de roble (Willis *et al.*, 1997) o con la utilización de las piezas de madera reciclada (Godwin *et al.*, 2000).

En la industria avícola, a más de utilizar la viruta de madera y la cascarilla de arroz, también se utiliza, el aserrín de madera, cáscara de maní (cacahuete), arena, papel, bagazo de caña de azúcar, cascarilla de café, dependiendo de su disponibilidad en cada zona (Chamblee y Yeatman, 2003; Ortiz *et al.*, 2003; Macklin *et al.*, 2005).

En la avicultura, el uso de la cama en los pollos de ceba, tiene por objetivo evitar el contacto directo de las aves con el piso y sirve como sustrato para la absorción de la humedad del medio ambiente, incorporación de las heces, orina, plumas, descamaciones de la piel, restos de alimento que han caído desde los comederos, así como para contribuir en la reducción de las fluctuaciones de temperatura en la nave de crianza (Avila *et al.*, 1992 y Oliveira *et al.*, 2002).

Se procedió a realizar la primera investigación estadística por cada una de las granjas avícolas, para determinar el análisis de regresión del número de hongos presentes en las camas (Y), sobre el tiempo de duración del engorde (X), para establecer la curva de respuesta; de igual manera se efectuó para el total de granjas para tener una visión integral, y fue necesario transformar logarítmicamente los datos pertenecientes al número de hongos del total de granjas para proceder en la investigación, los cuales se presentan a continuación.

Análisis de regresión

Tabla 1 Análisis de variancia para la regresión

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)	
(Intercept)	3.414073	0.189313	18.03	<2e-16	***
días	-0.06334	0.006252	-10.13	<2e-16	***

$NHP (Y) = \text{número de hongos presentes}$ $TDE (X) = \text{tiempo de duración del engorde}$

Ecuación de regresión: $\log (NHP) = 3.414 - 0.063 TDE$ $R^2 = 0.494$; $R^2_{aj} = 0.489$

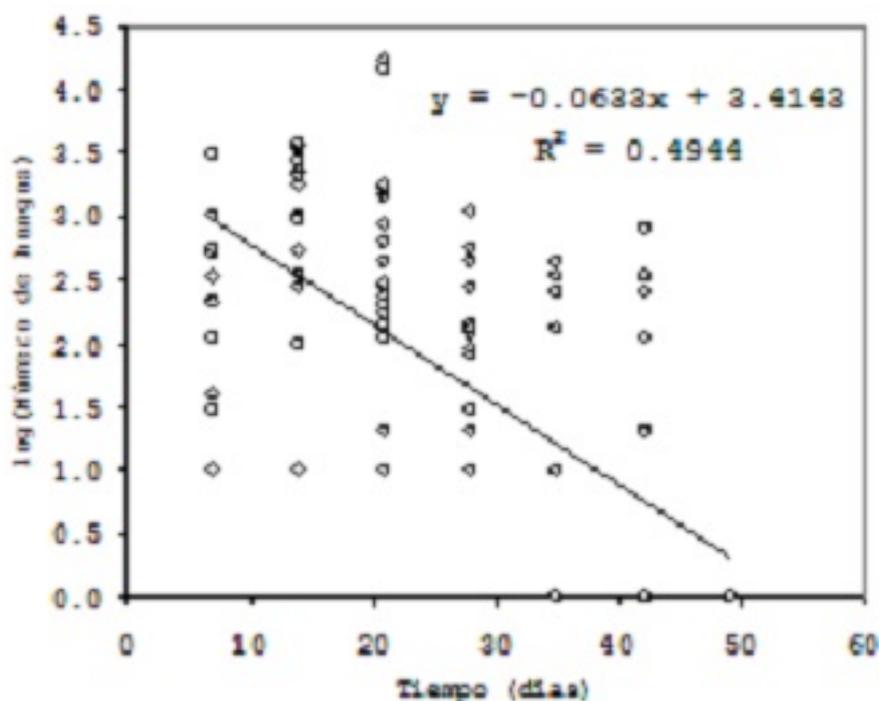


Figura 1: Relación entre el número de hongos presentes y el tiempo de duración del engorde. Datos transformados logarítmicamente.

En la **Figura 1**, se tiene que, el valor de R^2 obtenido con datos del experimento y transformados logarítmicamente, indica que si existe una relación entre el tiempo de duración del engorde (TDE) y el número de hongos presentes (NHP), mientras que con los datos originales del experimento el valor R^2 sugiere que no existe una relación clara entre el TDE y el NHP, con respecto a este último, se relaciona a lo expresado por (Vizzier *et al.*, 2003). La segunda investigación estadística se basó en la influencia de la profundidad de la cama (X) sobre la cantidad de hongos presentes en dichas camas (Y), utilizándose para el efecto la comparación de medias con *prueba de t* a 5 cm (T1) y a 10 cm. (T2).

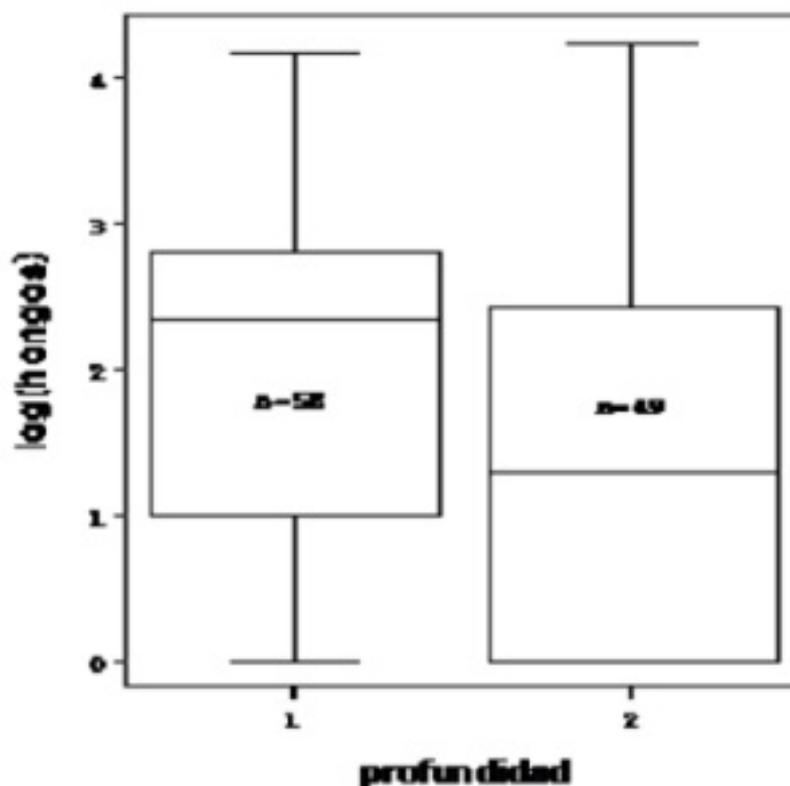


Figura 2: Gráfico de cajas con datos totales de hongos para dos profundidades de cama (1= 5 cm, 2= 10 cm datos transformados)

En este segundo análisis estadístico, el valor de la probabilidad (0.03) indicado a continuación de la **Tabla 2** del anexo, indica que sí existen diferencias entre las medias de la variable: Número de hongos presentes de acuerdo a dos profundidades de cama, al 95 % de confiabilidad. Esto significa que se rechaza la H_0 (Hipótesis nula): las medias de los dos grupos son iguales y si existen diferencias entre las medias del número de hongos presentes en las camas al evaluar dos profundidades de cama.

El gráfico de cajas de la **figura 2** nos muestra que con los datos transformados ya no existe una dispersión tan grande entre ellos, indicando que el número de hongos es superior en el experimento con una profundidad de cama de 5 cm. El valor de la probabilidad (0.03) se interpreta como que existe un 3 % de probabilidad de que las medias para los dos tratamientos sean iguales (valor muy bajo) y que está por debajo del 5% que es el porcentaje con que se hizo la prueba.

Esto significa que se acepta la H_0 (Hipótesis nula): las medias de los dos grupos

son iguales (no existen diferencias entre las medias del número de hongos presentes en las camas al evaluar dos profundidades de cama). El gráfico de cajas de la figura nos muestra que existe una gran dispersión de los datos cuyo rango va de 0 a 17000 y por esto se transformó. Sin embargo también muestra que los valores para los dos tratamientos son similares.

En la producción de pollos de engorde, el uso de camas con diferentes profundidades, está asociado a las diferencias que existen en las propiedades químicas y microbiológicas de las camas, tomando en consideración que algunos mohos filamentosos son aerobios estrictos, para su identificación y clasificación se aplican parámetros macro y micromorfológicos y proliferan más hacia la superficie del sustrato e incluso productores de aflatoxinas en las camas de los pollos (Salle *et al.*, 2000; Quinn *et al.*, 2004; Stanchi, 2007; Avila *et al.*, 2008).

En la Tabla 3 del anexo, se muestra que el hongo más frecuentemente aislado de las camas de viruta de madera y cama de cascarilla de arroz fue *Aspergillus flavus*, lo que concuerda con las investigaciones realizadas por (Lien *et al.*, 1998); (Rojas *et al.*, 2002), seguidos de *Mucor racemosus*; *Penicillium griseofulvum*; *Candida albicans* y *Aspergillus niger*. Se detectó la presencia de *Candida albicans*, a partir de la tercera semana de crianza, lo cual también se aproxima a lo expresado por (Fullerenger *et al.*, 2006).

En la Tabla 4 del anexo, se indica la media de UFC/g de acuerdo al lugar de crianza y profundidad de la cama, con lo que se ratifica los resultados del segundo experimento y coincide también con las investigaciones realizadas por (Dyar *et al.*, 1984).

El tercer experimento estadístico en las camas, trata de la influencia del clima (X) sobre la cantidad de hongos presentes en las camas (Y), y se recurrió a la comparación de medias con *prueba de t* para zona cálida (T1) y zona templada (T2).

- **Prueba de t (influencia de clima)**

Two Sample t-test data: log.hongos by clima

t = 6.3146, df = 44.224, p-value = 1.140e-07

Alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0

95 percent confidence interval: 0.7159413

1.3870360

Sample estimates:	
a	mean in group b
2.678111	1.626622

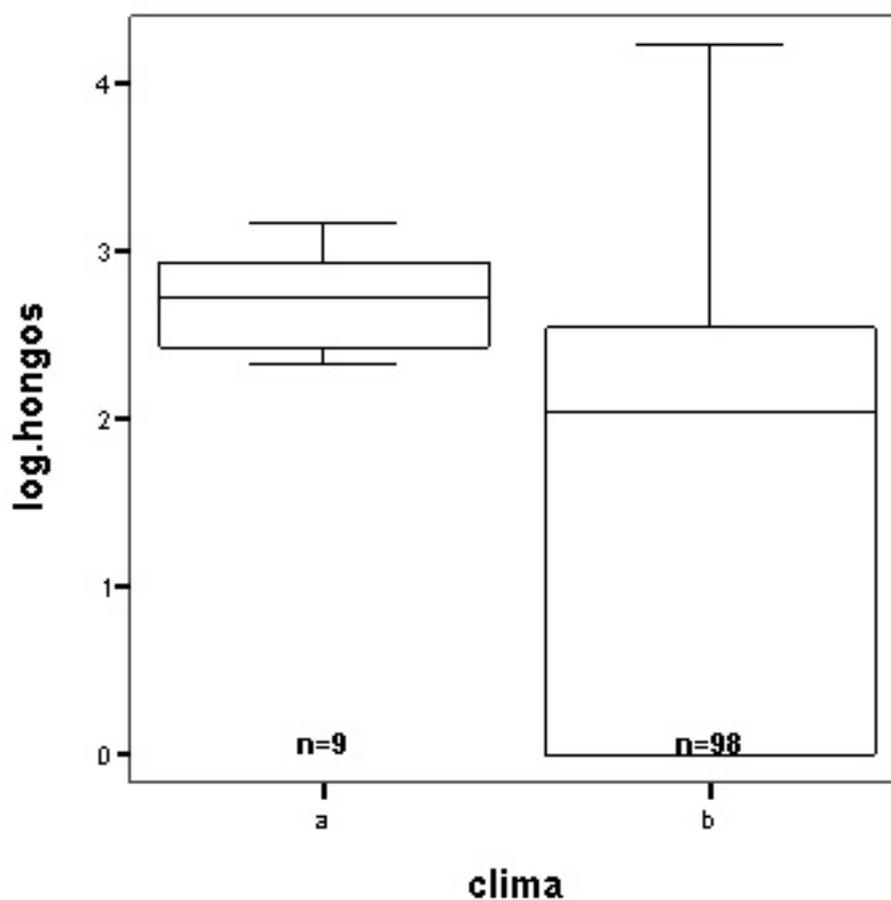


Figura 3: Gráfico de cajas con datos totales de hongos para dos zonas de clima (a= templado, b= cálido). Datos transformados

En este experimento el valor de la probabilidad ($1.140e-07$) indica que sí existen diferencias altamente significativas entre las medias de la variable: Número de hongos presentes de acuerdo a dos zonas de clima, al 95 % de confiabilidad, lo cual también queda indicado en la **figura 3**.

El Ecuador también goza de una gran variedad de pisos térmicos y en cada uno de

ellos se explota el pollo de ceba, lo cual dependiendo de la temperatura ambiental, y de su humedad relativa, puede favorecer o afectar al rendimiento del animal y coincide con lo expresado por (North, 1998; Monira *et al.*, 2003; Estrada y Márquez, 2005).

Conclusiones

A partir del análisis de los resultados de nuestros experimentos que ayudaron a la detección de hongos en la cama en los pollos de ceba, se concluye que:

Los resultados demuestran que el moho filamentoso más frecuentemente aislado de las camas de viruta de madera y cascarilla de arroz fue *Aspergillus flavus*, y estuvo presente con altas cargas micológicas, en el tiempo de duración del engorde, profundidad de la cama y zona climática; también tuvo presencia *Mucor racemosus*; *Penicillium griseofulvum*; *Candida albicans* y *Aspergillus niger*, destacando que la temperatura ambiental y la profundidad de la cama influyen significativamente en su presentación.

Bibliografía

1. Avila V.S., Mazzuco H., Figueredo S. *Cama de aviário: materiais, reutilização, uso como alimento e fertilizante*. Concordia: EMBRAPA. EMBRAPA ? CNPSA. Circular técnica, 16, 1992; 38p.
2. Avila V. Silveira de, Oliveira U., Figueiredo E.A.P de, Fagondes C.A., Nascimento V.M., Rosa P.S. *Avaliação de materiais alternativos em substituição à maravalha como cama de aviário*. R. Bras. Zootec. [Revista en Internet] 2008. [acceso el 22 de octubre de 2008]; 37(2): [273-277] Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/rbz/v37n2/13.pdf>.
3. Chamblee T. N. and Yeatman J.B., *Evaluation of Rice Hull Ash as Broiler Litter*. Rev. J. Appl. Poult. Res. [Revista en Internet] 2003 [acceso el 20 de julio de 2008]; 12, [424-427] Disponible en: <http://japr.fass.org/cgi/reprint/12/4/424.pdf>
4. Dyar P. M., Fletcher O.J. and Page R. K. *Aspergillosis in turkeys associated with use of contaminated litter*. Rev. Avian Dis. 1984. 28, [250-255].
5. Estrada M.M. y Márquez S. *Interacción de los factores ambientales con la respuesta del comportamiento productivo en pollos de engorde*. Rev Col Cienc Pec [Revista en Internet] 2005 [acceso el 05 de agosto de 2007]; 26(3): [248]. Disponible en: http://rccp.udea.edu.co/v_anteriores/18-3/pdf/v18n3a06.pdf.
6. Fulleringer S.L., Seguin D., Warin S., Bezille A., Desterque C., Arne P., Chermette R., Bretagne S., and Guillot J. *Evolution of the*

- Environmental Contamination by Thermophilic Fungi in a Turkey Confinement House in France*. Rev Poult Sci [Revista en Internet] 2006 [acceso el 10 de septiembre de 2008]; 85, [1875-1880]. Disponible en: <http://ps.fass.org/cgi/reprint/85/11/1875> .
7. GODWIN, J. L., CARTER T. A., GRIMES J. L. *The use of litter plus as a bedding material for broilers*. In: NATIONAL POULTRY WASTE MANAGEMENT SYMPOSIUM 1, 2000, Auburn, USA. 2000. p. 344 ? 351
8. LIDA-IA. Procedimiento Normalizativo Operacional para el análisis microbiológico de las camadas. La Habana. 2001.
9. Lien R.J, Hess J.B, Conner D.E, Wood C.W and Shelby R.A. *Peanut Hulls as a Litter Source for Broiler Breeder Replacement Pullets*. Rev. Poultry Science [Revista en Internet] 1998 [acceso el 30 de Julio de 2009] 77: [41-46] Disponible en: <http://ps.fass.org/cgi/reprint/77/1/41>
10. Macklin K.S., Hess J.B., Bilgili S.F., and Norton R.A. *Bacterial levels of pine shavings and sand used as poultry litter*. Rev. J. Appl. Poult. Res. [Revista en Internet] 2005 [acceso el 20 de enero de 2009] 14: [238-245] Disponible en: <http://japr.fass.org/cgi/reprint/14/2/238>
11. Monira K. N., Islam M. A., Alam M. J. and Wahid M. A. *Effect of litter material on broiler performance and evaluation of manurial value of used litter in late autum*. Rev. Asian Aust. J. Anim. Sci., 2003. 16: [555-557]
12. North MO., and Bell DD., *Manual de producción avícola*. Editorial El Manual Moderno, S.A. México, DF; 1998, p. 65.

13. Oliveira M. C., Carvalho I. D. *Rendimento e lesões em carcaças de frangos de corte criados em diferentes camas e densidades populacionais*. Rev. Ciênc. Agrotec., Lavras [Revista en Internet] sep. /out., 2002 [acceso el 13 de mayo de 2009] 26(5): [1076-1081] Disponible en: http://www.editora.ufla.br/revista/26_5/art25.PDF.

15. Ortiz A, Valdiviá M y Elías A. *La cascarilla de café como cama avícola. Primera crianza*. [Base de datos en línea]. 2003. Cuba: Revista Cubana de Ciencia Agrícola del Instituto de Ciencia Animal; [acceso el 13 de abril de 2008] 37(1) Disponible en: <http://web.ebscohost.com/ehost/pdf?vid=6&hid=5&sid=1b36b747-b760-4e62-a224-04b514355bf8%40sessionmgr3> .

16. Pearson E. G., Leavengood S., Reeb J. E. *Comparison of the absorptive*

capacity of shavings of western juniper, western redcedar, and douglas-fir for animal bedding. Rev. Forest Products Journal, Madison, 2000. 50(6): [57-61]

17. Quinn P. J., Markey B. K., Carter M. E., Donnelly W. J., Leonard F. C. *Microbiología y Enfermedades Infecciosas Veterinarias.* Zaragoza: Acribia, S. A.; 2004. 667p.

18. Rojas M, García M y Masdeu V. *Resultados del análisis microbiológico de yacijas de paja de arroz utilizadas en la avicultura.* Rev. Cubana de Ciencia Avícola [Revista en Internet] 2002 [acceso el 05 de agosto de 2006] 26: [121-123]. Disponible en: http://www.iaa.cu/pdf/v26_121.pdf

19. Salle C., Lorenzini G., Sfoggia M., Santos G. P dos, Guahyba A.S da, Oliveira F de, Moraes H.L.S de, Nascimento V.P do. *Presença de aflatoxinas em camas de frangos de corte criados a campo.* Arquivos da Faculdade de Veterinária ? UFRGS, Porto Alegre ? RS. 2000 [acceso el 20 de abril de 2008] 28(2): [93-100]. Disponible en: <http://www.guahyba.vet.br/trabalhos/trab19.htm>

20. Santos E.C dos, Barros Cotta JT de, Muniz JA, Fonseca RA da, Torres DM. *Avaliação de alguns materiais usados como cama sobre o desempenho de frangos de corte.* Rev. Ciênc agrotec., Lavras, [Revista en Internet] out. /dez., 2000 [acceso el 11 de julio de 2009] 14(4): [1024-1030] Disponible en:

http://www.editora.ufla.br/revista/24_4/art23.pdf

21. Stanichi N. *Microbiología Veterinaria.* Buenos Aires: Inter Médica. 2007; 572p.

22. Vizzier Y., Balzli C., Tankson J. *Relationship of Broiler Flock Numbers to Litter Microflora.* Rev. J. Appl. Poult. Res. [Revista en Internet] 2003 [acceso el 26 de diciembre de 2008] 12: [81-84] Disponible en: <http://japr.fass.org/cgi/reprint/12/1/81.pdf>.

23. Willis W. I., Murray C., Talbott C. *Evaluation of leaves as litter material.* Rev. Poultry Science, Champaign, 76(8): [1138-1140], 1997.

ANEXOS

Tabla 2: Influencia de la profundidad de la cama en la presencia de hongos

Días	hongos	profundidad	log. hongos	clima
Min. : 7.00	Min. : 0.0	a:58	Min. : 0.000	a: 9
1st Qu.: 14.00	1st Qu.: 0.0	b:49	1st Qu.: 0.000	b: 98
Median :28.00	Median : 120.0		Median : 2.079	
Mean :26.82	Mean : 743.6		Mean : 1.715	
3rd Qu.:42.00	3rd Qu.: 450.0		3rd Qu.: 2.653	
Max. : 49.00	Max. :17000.0		Max. : 4.230	

Grupo a = 5 cm de profundidad de la cama
 Grupo b = 10 cm de profundidad de la cama

Two Sample t-test prueba de t para dos muestras

Min Valor mínimo

1st Qu 1er cuartil

Median Mediana

Mean Media

3rd Qu 3er cuartil

Max Valor máximo

Prueba de T

Two Sample t-test

data: log.hongos by profundidad

t = 2.1691, df = 100.664, p-value = 0.03243

95 percent confidence interval:

0.04508673 1.01032073

Sample estimates:	
mean in group a	mean in group b
1.956724	1.42902

mean in group a = promedio de número de hongos para la profundidad de 5 cm.

mean in group b = promedio de número de hongos para la profundidad de 10 cm.

Tabla 3: Porcentaje de hongos en las muestras de camas de los pollos de ceba.

Hongos	Profundidad de la cama 5 cm.		Profundidad de la cama 10 cm.	
	Nº	%	Nº	%
<i>Penicillium griseofulvum</i>	6	12.24	7	18.42
<i>Candida albicans</i>	3	6.12	1	2.63
<i>Aspergillus niger</i>	1	2.04	0	0
<i>Aspergillus flavus</i>	28	57.14	21	55.26
<i>Mucor raemosus</i>	11	22.45	9	23.7
TOTAL	49	100	38	100

Tabla 4: Media de UFC/g de acuerdo al lugar de crianza y profundidad de la cama

Lugar	Profundidad		Media UFC/g.
	5 cm.	10 cm.	
F.T. Baños	x		548.3
P. Ch. Sinincay	x		346.7
M.Z.P. Iberia	x		903.3
Yunguilla 3 A	x		3301.7
Yunguilla 3 A		x	3968.3
Yunguilla 3 B	x		2983.3
Yunguilla 3 B		x	1164
Yunguilla 3 C	x		820
Yunguilla 3 C		x	830
Yunguilla 2 A	x		382.5
Yunguilla 2 A		x	142.5
Yunguilla 2 B	x		596
Yunguilla 2 B		x	220
Yunguilla 2 C	x		480
Yunguilla 2 C		x	45
Yunguilla 2 D	x		967.5
Yunguilla 2 D		x	170