

Microorganismos potenciales fermentadores de tuna (*Opuntia ficus indica*) en ensilado de diferentes mezclas: penca, Maíz-penca, penca-alfa alfa, penca-alfa alfa-maíz

Jeanett Daga Quisbert ¹; Amalia Antezana Valera ²

¹ Investigadora asociada, Laboratorio de Microbiología

² Docente investigador, Responsable del Laboratorio de Servicios Académicos y Microbiología

jeanettdana@gmail.com

Resumen. El presente estudio se enfocó en una modelización de ensilado de pencas y sus mezclas. La utilización de penca de tuna *Opuntia ficus indica* como sustrato mayoritario para la obtención de ensilado a partir de la fermentación de los microorganismos propios de cada insumo del ensilado, fermentación de diferentes mezclas: maíz-penca, alfalfa-penca, penca-alfalfa-maíz. Por las bondades de la penca de tuna 92% de agua y carbohidratos que al no llegar a ser un sustrato completo para la demanda de microorganismos fermentadores se ensaya las mezclas de sustrato con alfalfa y chala de maíz y de esta manera mejorar el valor nutritivo del ensilado. La fermentación se realizó con microorganismos autóctonos de los sustratos, en envases de plástico en anaerobiosis con temperatura controlada 30 °C, evaluando el desarrollo de microorganismos durante las cuatro etapas de la fermentación. El aislamiento de microorganismos se realizó mediante el uso de medios de cultivo selectivos para bacterias ácido lácticas, enterobacterias, mohos y levaduras. Del estudio se llegó a conocer que las bacterias ácido lácticas proliferan en sustrato de penca con chala de maíz, en cambio el sustrato de penca y alfalfa, proliferan las bacterias patógenas y levaduras del género *Rodotorula* y *Trichosporum*, por lo tanto las bacterias ácido lácticas desarrollan con mas facilidad e inhiben el crecimiento de enterobacterias en sustrato de penca y chala de maíz. Se concluye que los modelos de laboratorio estandarizados, pueden ser replicados a escala mayor de ensilaje, asumiendo valores matemáticos de pesos de sustrato e insumos como la melaza y realizar balances de masa, el trabajo reporta valores a escala de laboratorio.

Introducción

El forraje fresco de cultivos como maíz, trigo, gramíneas, leguminosas alfalfa, puede ser conservado por medio del ensilaje. En muchos países los forrajes ensilados son muy apreciados como alimento animal. (Wilkinson *et al.*, 1996).

Para producir un ensilaje de buena calidad es esencial asegurar que se produzca una buena fermentación microbiana en el ensilado. El proceso de fermentación depende del tipo y la calidad del forraje, entre otros el manejo (Elferink, 2002).

Las bacterias ácido lácticas BAC son beneficiosas y pertenecen a la microflora epifítica de los vegetales Su población natural crece significativamente entre la cosecha y el ensilaje (Woolford, 1984; McDonald *et al.*, 1991). Los componentes BAC que se asocian con el proceso de ensilaje pertenecen a los géneros: *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Lactococcus* y *Streptococcus*. La mayoría de ellos

Primer Encuentro Internacional de la Tuna para forraje como una medida de adaptación al cambio climático en Bolivia

son mesófilos. Son capaces de bajar el pH del ensilaje a valores entre 4 y 5, dependiendo de las especies y del tipo de forraje. Todos los miembros del BAC son aeróbicos facultativos, pero muestran cierta preferencia por la condición anaeróbica (Holzapfel y Schillinger 1992; Hammes *et al.*, 1992; Devriese *et al.*, 1992; Weiss, 1992; Teuber *et al.*, 1992).

Además hay otros microorganismos indeseables que causan el deterioro anaeróbico (p. ej. clostridios y enterobacterias) o deterioro aeróbico (ej. levaduras, bacilos, *Listeria* sp. y mohos). Muchos de estos organismos indeseables no sólo reducen el valor nutritivo del ensilaje sino que pueden además afectar la salud de los animales o alterar la calidad de la leche, o ambas (p. ej.: *Listeria* sp., clostridios, hongos y bacilos).

La penca de tuna *Opuntia ficus indica* se trata de un alimento succulento (gran cantidad de agua), por ser de bajo tenor proteico y materia seca total, pero es rico en carbohidratos de alta y mediana digestibilidad, en este caso se trata de un valioso recurso forrajero en zonas áridas y semiáridas, principalmente en la época crítica de déficit forrajero. (Beale I, 2013).

El ensilaje es un método de conservación de forrajes con alto contenido de humedad, que se fundamenta en la fermentación ácido láctica espontánea del forraje bajo condiciones anaeróbicas. Las bacterias ácido lácticas (BAL), propias del material a ensilar, fermentan los carbohidratos solubles del forraje produciendo ácido láctico y, en menor grado, ácido acético (Stefanie *et al.*, 1999).

Estos microorganismos son denominados probióticos y se han asociado con efectos benéficos para la salud, entre los que destacan, el incremento en la resistencia contra la colonización de microorganismos patógenos, estimulación del sistema inmune del hospedero, inducción de la apoptosis de células cancerosas, entre otros. Los pectin-oligosacáridos (PO) presentes en el nopal estimulan el desarrollo de bifidobacterias, por su parte los mucílago-oligosacáridos (MO) generan un incremento en el desarrollo de Lacto bacilos. La suplementación MO y PO de nopal generó un incremento de hasta el 35% en la producción de ácidos grasos de cadena corta.(Díaz, 2011).

Los objetivos del trabajo fueron:

- Evaluar los microorganismos presentes en la fermentación anaeróbica en estado fresco de Tuna *Opuntia ficus indica* para ensilado.
- Evaluar y monitorear el crecimiento de bacterias Acido lácticas en los distintos tratamientos y en los diferentes tiempos de fermentación.

Materiales y metodología

Esta investigación se llevó a cabo en la Facultad de Ciencias y Tecnología de la Universidad Mayor de San Simón, en el laboratorio de Servicios Académicos, Microbiología e Investigación. Esta investigación se realizó de enero a abril de 2014.

Primer Encuentro Internacional de la Tuna para forraje como una medida de adaptación al cambio climático en Bolivia



Se prepararon cuatro tratamientos para evaluar la fermentación de las cuatro mezclas en estado fresco que se detallan en la Tabla 1.

Tabla 1. Tratamientos y mezclas para el fermentado

Tratamiento	Penca de tuna	Alfalfa	Chala de maíz	Melaza
T1	1000 g	--	--	10 g
T2	500 g	500 g	--	10 g
T3	500 g	--	500 g	10 g
T4	500 g	100 g	400 g	10 g

La fermentación se realizó con microorganismos autóctonos de los sustratos, todos los tratamientos contaron con la adición de 10% de melaza. Sus combinaciones fueron evaluadas en un fermentador de plástico en anaerobiosis con una temperatura controlada de 30 °C. Cada tratamiento constó de 3 repeticiones.

Luego fueron tomadas muestras de 25 g de cada fermentado, por tratamiento, en diferentes tiempos (3, 7, 15 y 30 días) donde se determinó pH, recuento de bacterias ácido láctica, entero bacterias y mohos y levaduras, en medios de cultivos selectivos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 2. Número de unidades formadoras de colonia de bacterias ácido lácticas por 1 g de fermentado

	3 días	7 días	15 días	30 días
T1	4,5x10 ²	6.6x10 ⁵	7,4x10 ⁶	4.2x10 ⁷
T2	2,5x10 ⁴	5,5x10 ⁶	6,3x10 ⁸	3,7x10 ⁸
T3	8,3x10 ⁶	6,5x10 ⁷	2,1x10 ⁷	2,5x10 ⁷
T4	9,6x10 ⁸	7,2x10 ⁸	3,2x10 ⁹	6,3x10 ⁸

Las bacterias ácido lácticas están presentes de manera natural en el sustrato y son las principales en el proceso de fermentación de los 4 tratamientos, hecho que es corroborado por indirectamente por Dias. D. (2011).

Tabla 3. Número de unidades formadoras de colonia de entero bacterias en 25 g de fermentado

	3 días	7 días	15 días	30 días
T1	6,5x10 ²	6.9x10 ²	6,3x10 ²	5.2x10 ¹
T2	8,5x10 ³	5,25x10 ³	5,8x10 ²	6,8x10 ²
T3	3,3x10 ³	7,5x10 ⁴	4,2x10 ³	3,4x10 ²
T4	6,3x10 ⁴	9,25x10 ⁵	6,2x10 ³	8,1x10 ²

Las Enterobacterias se encuentran de manera natural en sustratos vegetales en pequeñas cantidades y en el proceso de fermentación van disminuyendo en numero debido a la ausencia de oxígeno ya que el fermentado es anaeróbico y ellas demandan oxígeno y pH alcalinos a neutros.

Tabla 4. Número de unidades formadoras de colonia de mohos y levaduras en 25 g de fermentado

	3 días	7 días	15 días	30 días
T1	$2,5 \times 10^4$	$7,5 \times 10^4$	$7,25 \times 10^4$	$3,75,2 \times 10^5$
T2	$3,5 \times 10^5$	$3,3 \times 10^5$	$4,35 \times 10^3$	$5,75 \times 10^8$
T3	$8,6 \times 10^4$	$4,7 \times 10^3$	$2,15 \times 10^4$	$4,55 \times 10^7$
T4	$7,2 \times 10^5$	$6,4 \times 10^3$	$6,25 \times 10^4$	$9,35 \times 10^2$

Las levaduras y mohos son aerobios, están presentes como esporas en los sustratos y se hacen viables cuando las condiciones físicas y químicas son favorables hecho que puede ser variable si no se controla bien estos factores. Estos demandan temperaturas constantes de 25 °C y en el caso del presente ensayo fue a 30-35°C, lo cual de alguna manera inhibe su crecimiento.

CONCLUSIONES

- Una característica importante en la utilización de las pencas de tuna y la flora autóctona en la fermentación para ensilado en la nutrición animal, es que aumenta el desarrollo de bacterias ácido lácticas y disminuye la aparición de enterobacterias además de que también en la fase inicial desarrollan levaduras del género *Rodotorula* y *Trichosporum* además de Zygomycetes, por lo tanto las bacterias ácido lácticas son las que proliferan y proporcionan mayor resistencia a enfermedades infecciosas, mayor aprovechamiento de los pastizales y del potencial genético del animal.
- Con la fermentación de la tuna, se pretende aumentar el crecimiento de bacterias ácido lácticas que son denominadas probióticas, y por lo tanto el ganado mejore la conversión alimenticia (menos alimento para lograr el peso deseado).
- Se identifica como flora de fermentación a los géneros de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*.
- Los factores físicos como la temperatura son determinantes, en el ensayo fue de 30°C a 35°C, las cuales resultan eficientes, sin embargo será necesario testear curvas de rendimiento en función de la temperatura. El pH natural que genera el sustrato, va desde 4.5 a 5.3, hecho manifiesto en el trabajo, es necesario investigar curvas de pH, actividad enzimática y rendimiento.
- El presente trabajo es preliminar y debe ser continuado con diversas ópticas: variables físicas, bioquímicas y biológicas.



Referencias citadas y sugeridas

Daniel Díaz Plascencia. 2011. Fermentación *in vitro* de nopal forrajero (*Opuntia* spp.) genotipo an-tv6 con un inóculo de levadura *Kluyveromyces Lactis*. Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua, Chih., México.

Stefanie, J., Briehuis, F., Gottschal, J., Spoeltdrs, S. 1999. Silage fermentation processes and their manipulation. FAO electronic conference. En línea. Disponible en: TropicalSilage, <http://www.fao.org/waicent/faoinfo/agricult/agp/agpc/gp/silage/contents.htm>. Paper 2

Wilkinson, J., Wadephul, F., Hill, J. 1996. Silage in Europe: a survey of 33 countries. Welton, UK: Chalcombe Publications.

Holzappel, W. & Schillinger, U. 1992. The genus *Leuconostoc*. pp. 1508-1534. In: Balows *et al.*, 1992, q.v.

Cochabamba, 16 de mayo de 2014

Primer Encuentro Internacional de la Tuna para forraje como una medida de adaptación al cambio climático en Bolivia

