



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

POPULAÇÃO DE ENTEROBACTERIACEAE DO RUMÉN E DAS FEZES DE BEZERROS NELORE MACHOS E FÊMEAS ALIMENTADOS COM FENO DE UROCHLOA BRIAZANTHA NO PERÍODO PÓS-DESMAME

Autores: THIAGO ALVES XAVIER DOS SANTOS, VALDO SOARES MARTINS JÚNIOR, ISABELA PAROLIS MARTINS, SUZE ADRIANE FONSECA, LUIS MIGUEL GONÇALVES FERNANDES, JULIA SAMARITANO PEREIRA ROCHA, KELLEN AMANDA SILVA BORGES

INTRODUÇÃO

O diversificado ecossistema ruminal é composto por bactérias (10^{10} .mL⁻¹), protozoários ciliados (10^6 .mL⁻¹), fungos anaeróbicos estritos (10^6 .mL⁻¹), fungos anaeróbios facultativos (10^4 .mL⁻¹), enterobactérias (10^6 .mL⁻¹), micoplasmas (interdeminado) e bacteriófagos (10^8 .mL⁻¹). Essa complexa comunidade de microrganismos, estabelece diversas interações importantes para o equilíbrio ruminal, como a atividade fermentativa e inibição do crescimento de microrganismos contaminantes. As interações são responsáveis pela bioconversão dos alimentos em substâncias utilizadas pelo animal, como os ácidos graxos controle curto e as proteínas microbiana (ABRÃO et al., 2014; HENDERSON et al., 2015).

A composição do ecossistema microbiano ruminal é influenciada pela dieta e sua frequência de distribuição, idade, condições do animal hospedeiro e bem como as interações microbianas (OLIVEIRA et al., 2013).

Enterobacteriaceae são bactérias Gram-negativas no qual os gêneros frequentemente isolados são *Escherichia* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Proteus* spp., *Morganella* spp., *Providencia* spp., *Shigella* spp. e *Salmonella* spp. . Embora sejam residentes naturais do trato intestinal, algumas cepas podem causar infecções intestinais e são denominadas de enteropatogênicas, como *Escherichia coli*, *Shigella* spp. e *Salmonella* spp (KONEMAN et al., 2001). Algumas espécies dessa família podem ser encontradas no ecossistema ruminal, sendo influenciadas principalmente pela dieta dos animais (FREITAS et al., 2014). Entretanto pouco se conhece sobre a população dessas bactérias em bezerros de diferentes sexos e criados em região semiárida. Neste estudo o objetivo foi de comparar a população de Enterobacteriaceae presente no fluido ruminal e nas fezes de bezerros Nelore machos e fêmeas.

MATERIAIS E MÉTODOS

A. Animais, instalações, manejo alimentar

O experimento foi constituído por 16 bezerros Nelore com aproximadamente oito meses de idade, oito machos e oito fêmeas, confinados em baias individuais, cobertas no cocho com dimensões de 1,5 m de largura x 3,0 m de comprimento equipadas com bebedouros, e providas de cochos para o fornecimento da dieta. O experimento foi realizado na cidade Montes Claros, Norte de Minas Gerais.

As dietas foram formuladas de acordo com a NRC (2016), sendo constituída de 60% feno de *Urochloa brizantha* e 40% concentrado (milho, soja e sal mineral), fornecidas diariamente, às 08:00 h e 15:00 h. As quantidades de alimento ofertado, foram ajustados diariamente em função das sobras, mantidas em 5%, para garantir o consumo à vontade e a água foi *ad libitum*. Antes do início do período experimental os animais passaram por 15 dias em adaptação à dieta e as baias.



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

B. Coleta do fluido ruminal e fezes

As coletas foram realizadas no período de oito às 11 horas da manhã. Após prévio jejum, os bezerros foram imobilizados em brete de contenção e na parte ventral do abdômen esquerdo dos animais, abaixo cranialmente à articulação do joelho, com aproximadamente 5 cm², foram realizadas a tricotomia e a assepsia, com solução de Polivinilpirrolidona-Iodo (Iodo-PVP 1%). Foram puncionados aproximadamente 15 mL de fluido ruminal, com o auxílio de cateter humano, acoplado a seringas estéreis. Antes da coleta de fezes foi se realizada a assepsia da região perianal com solução de Iodo-PVP 1% e as mesmas foram coletadas diretamente da ampola retal dos animais com uso de luvas estéreis e posteriormente acondicionadas em sacos estéreis apropriados. As amostra de fluido ruminal e fezes foram armazenadas por até uma hora e transportadas em caixas térmicas a 4° C (ABRÃO et al., 2014).

C. Cultivo microbiológico

Foram realizadas diluições decimais do líquido ruminal em tubos contendo 4,5 mL de solução salina estéril. Após cada diluição, os tubos foram homogeneizados em vórtex durante um minuto. Alíquotas de 20 µl das diluições 10¹, 10³ e 10⁵ foram inoculadas em placas estéreis contendo o meio Ágar MacConkey. As placas foram incubadas a 37°C em estufa BOD e monitoradas para o crescimento de colônias fúngicas por até 72 horas. O experimento foi realizado em triplicata.

D. Análise Estatística

A comparação das populações de fungos entre os sexos dos bezerros avaliados foi realizada utilizando-se o teste não-paramétrico do teste t de *Student* com 5% de significância, utilizando o pacote estatístico Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG versão 9.0).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Após o cultivo foi observado o crescimento de Enterobacteriaceae em todo os grupos de animais.

A quantificação média de Enterobacteriaceae no fluido ruminal foi de 4,9 x 10³ UFC/mL para os bezerros machos e de 1,2 x 10⁴ UFC/mL para as fêmeas (Tab. 1), não apresentando diferenças significativas ($P < 0,05$). Essas quantificações foram semelhantes aquelas descritas por Vieira et al. (2015), 1,1 x 10⁴ UFC/mL de Enterobacteriaceae no fluido ruminal de bezerros Nelore mantidos em pastagem tropical no município de Coração de Jesus, Norte de Minas Gerais.

No fluido ruminal dos bezerros notou-se uma maior concentração de bactérias fermentadoras da lactose (Lac+), sendo 60% nos machos e 78% nas fêmeas em relação as não fermentadoras de lactose (Lac-), com 40% para os machos e 22% para as fêmeas. Vieira et al. (2015) também constatou maior concentração de Lac+ (52%) em relação as Lac- (34%) em bezerros Nelore.

As médias de unidades formadoras de colônias por gramas de fezes (UFC/g) também não apresentaram diferenças entre os sexos, com 2,3 x 10⁶ UFC/g para os machos e 9,2 x 10⁶ UFC/g para as fêmeas (Tab. 1), porém está médias foram menores do que aquelas observadas no estudo de de Enterobacteriaceae em fezes bezerros Holandeses com dois meses de idade criados em diferentes sistemas de aleitamento (5,2 x 10¹⁰ UFC/g) (VIRGINIO JÚNIOR et al., 2016).

Assim como no fluido ruminal, as bactérias Lac+ das fezes também apresentaram maior concentração, com 79% para os machos e 85% para fêmeas, em relação as Lac-, 21% nos machos e 15% nas fêmeas, entretanto não houve as diferenças significativas entre os sexos.

As diferenças de concentrações dessas bactérias entre o sexo dos animais tanto no fluido ruminal como nas fezes não foram significativas, e isto poderia ser explicado, uma vez que os hormônios sexuais desses animais ainda estão baixos. Dessa forma novos estudos devem ser realizados para elucidar as possíveis relações existente entre o sexo e a população dessas bactérias em ruminantes.



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

CONCLUSÕES

Neste estudo constatou-se que o sexo não influenciou a população de Enterobacteracea encontradas no fluido ruminal e nas fezes dos bezerros Nelore alimentados com feno de baixa qualidade após o desmame.

AGRADECIMENTOS

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Código Financeiro 01), Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico, Tecnológico Desenvolvimento (CNPq), Pró-Reitoria de Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (PRPq-UFMG) e a Connan – Nutrição Animal.

Aprovado pelo Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Minas Gerais, sob o parecer de número 209/2018.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRÃO, F. O. et al. Characterization of Fungi from Ruminant Fluid of Beef Cattle with Different Ages and Raised in Tropical Lignified Pastures. **Current Microbiology**, v. 69, n. 2, p. 649-59, 2014.
- FREITAS, C. E. S. et al. Aerobe and anaerobe facultative Gram-negative bacteria rod-shaped in the ruminal fluid of dairy cattle fed with different diets containing tropical forages. **Archivos de Medicina Veterinária**, v. 6, p. 457-462, 2014.
- HENDERSON, G. et al. Rumen microbial community composition varies with diet and host, but a core microbiome is found across a wide geographical range. **Scientific Reports**, v. 15, p. 1-15, 2015.
- KONEMAN, E. W. et al. **Diagnóstico Microbiológico**. 5 ed, São Paulo: MEDSI, 2001 p.177 -261.
- OLIVEIRA V. S. et al. Características químicas e fisiológicas da fermentação ruminal de bovinos em pastejo – Revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária [online]**, v. 11, p. 1-21, 2013.
- VIEIRA, E. A. et al. Bastonetes Gram-negativos aeróbios e anaeróbios facultativos no fluido ruminal de bovinos de corte alimentados em pastagem lignificada e em novilhos com acidose ruminal. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 9, p. 811-816, 2015.
- VIRGINIO JÚNIOR, G. F. et al. Caracterização físico-química e microbiológica do fluido ruminal e do conteúdo gastrointestinal de bezerros alimentados com silagem de leite de transição. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 11, n. 2, p. 142-147, 2016.



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

Tabela 1. Médias das unidades formadoras de colônias de Enterobactereacea isoladas do fluido ruminal e fezes de bezerras Nelore machos e fêmeas após o período de desmame.

| Tratamentos | Quantificação UFC/mL | Fluido Ruminal | | Quantificação UFC/g | Fezes | |
|-------------|-------------------------|----------------|-------------|------------------------|--------------|-------------|
| | | Lac + (%) | Lac- (%) | | Lac + (%) | Lac- (%) |
| Machos | $4,9 \times 10^3$ | 60% | 40% | $2,3 \times 10^6$ | 79% | 21% |
| Fêmeas | $1,2 \times 10^4$ | 78% | 22% | $9,2 \times 10^6$ | 85% | 15% |