



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 FUNGOS ANAERÓBIOS FACULTATIVOS NO FLUÍDO RUMINAL E NAS FEZES DE BEZERROS NELORE MACHOS E FÊMEAS ALIMENTADOS COM FENO DE *UROCHLOA BRIAZANTHA* NO PERÍODO PÓS-DESMAME

**Autores:** VALDO JÚNIOR, THIAGO ALVES XAVIER DOS SANTOS, ABIGAIR DUARTE MATIAS, ISABELA PAROLIS MARTINS, LUIS MIGUEL GONÇALVES FERNANDES, JAMERSON CÂNDIDO SANTOS FONSECA, MARCUS VINICIUS VELOSO SUZART

### Introdução

Os fungos anaeróbios facultativos podem estar presentes no ambiente ruminal em proporções aproximadas de 104 unidades formadoras de colônias (UFC) mL<sup>-1</sup> (FREITAS et al., 2012; ABRÃO et al., 2014). Esses fungos podem colonizar e apresentar atividade celulolítica e hemicelulolíticas, importantes para degradação das fibras dos tecidos vegetais, principalmente em forragens tropicais (ALMEIDA et al., 2014). Isolados de *Aspergillus terreus* do rúmen de bovinos tem apresentado significante potencial para degradar a celulose microstalina, além de possuírem enzimas que facilitam a degradação de polissacarídeos em ruminantes, a exemplo o *Aspergillus oryzae*. Dessa forma, a inclusão de fungos autóctones ou de suas enzimas hidrolíticas durante os períodos de estiagem poderia favorecer a degradação de forragem mais lignificada, reduzindo os custos de produção (ABRÃO et al., 2017; WANG; LIU; GROENEWALD, 2017).

Para Frey et al., (2010), durante a passagem da digesta do rúmen até as fezes, acontecem mudanças expressivas na comunidade microbiana. Dessa forma, é importante comparar a população desses fungos no ambiente ruminal e nas fezes. No entanto, pouco se conhece sobre as diferenças das populações desses fungos em bezerros ou bezerras alimentados com forragem de baixa qualidade nutricional após o desmame. Portanto, a caracterização destas microbiotas é essencial para a seleção de isolados fúngicos com maiores níveis enzimáticos que podem facilitar a degradação da parede celular de forragem de baixa qualidade (ABRÃO et al., 2017). O objetivo por meio deste trabalho foi quantificar e comparar a população de fungos anaeróbios facultativos 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 e média de 300 kg de peso, 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 08h00min e 15h00min. As quantidades de alimento ofertado foram ajustadas 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.

#### 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 cm<sup>2</sup>, 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 amostras de fluido ruminal e fezes foram armazenadas por até uma hora e transportadas em caixas térmicas a 4° C (ABRÃO et al., 2014).



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:  
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

# FEPEG

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

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

### 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 10<sup>1</sup>, 10<sup>3</sup> e 10<sup>5</sup> foram inoculadas em placas estéreis contendo o meio Ágar Dextrose Sabouraud. As placas foram incubadas a 37°C em estufa BOD e monitoradas para o crescimento de colônias fúngicas por até 21 dias. O experimento foi realizado em triplicata.

### D. Análise Estatística

Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado para comparação das populações de fungos entre os sexos dos bezerros avaliados foi realizada utilizando-se o teste não-paramétrico *t* 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 que não houve diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre as concentrações de fungos anaeróbicos do fluido ruminal e das fezes dos bezerros.

As amostras do fluido ruminal dos machos apresentaram uma concentração média de 1,1 x 10<sup>6</sup> UFC/mL de fungos anaeróbicos e as fêmeas de 4,2 x 10<sup>6</sup> UFC/mL (Tab. 1), estes resultados foram superiores aos encontrados por Abrão et al., (2014), onde a média da população de fungos anaeróbicos encontrados no rúmen de bezerros Nelores de ambos os sexos, alimentados com feno de *Brachiaria decumbens* e *B. brizantha* de baixo valor nutricional no Norte de Minas Gerais, foi de 3,3 x 10<sup>3</sup> UFC/ mL.

Na quantificação das leveduras ruminais, a média para os bezerros machos foi de 1,3 x 10<sup>6</sup> UFC/mL e de 1,5 x 10<sup>6</sup> UFC/mL para as fêmeas, estes resultados corroboram com Abrão et al. (2014) que encontraram resultados inferiores a este trabalho, com a média constatada de 4,0 x 10<sup>1</sup> UFC/ mL para os bezerros Nelores estudados.

Os fungos anaeróbicos foram detectados pela primeira vez nas fezes de bezerros recém-nascidos e cordeiros, com 4 e 5 semanas de vida, respectivamente (Theodorou et al., 1993). No presente estudo foram quantificados nas fezes concentração média de 6,5 x 10<sup>4</sup> UFC/g para os machos e 9,2 x 10<sup>3</sup> UFC/g para as fêmeas, concentração menor em relação às encontradas por McGranaghan et al. (2006), que foi de 1,5 x 10<sup>5</sup> UFC/g de fezes em bezerros.

A diferença entre o sexo dos animais e a população de fungos anaeróbicos não foi significativo, isto pode ser explicado, devido os hormônios sexuais dos bezerros ainda se encontrem em baixas concentrações. Por isso novos estudos devem ser realizados para melhor elucidar as possíveis relações entre o sexo e a microbiota dos animais.

## CONCLUSÃO

Neste estudo constatou-se que o sexo não influencia na população de fungos anaeróbicos facultativos encontrados no fluido ruminal e nas fezes dos bezerros Nelore alimentados com feno de *Urochloa brizantha* no período pós-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.



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:  
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

# FEPEG

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

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

*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.

ABRÃO, F. O. et al. Notable fibrolytic enzyme production by *Aspergillus* spp. isolates from the gastrointestinal tract of beef cattle fed in lignified pastures. **PLoS ONE**, v. 12, n. 8, p.1-13, 2017.

ALMEIDA, P. N. M. et al. Atividade celulolítica de fungos aerobios isolados do rúmen de bovinos leiteiros alimentados com forragens tropicais. **Revista Caatinga**, v. 27, n. 4, p. 202–207, 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 Veterinaria**, v. 6, p. 457-462, 2014.

FREY, J. C. et al. Comparative studies of microbial populations in the rumen, duodenum, ileum and faeces of lactating dairy cows. **Journal Applied Microbiology**, v. 108, n. 2, p. 1982–1993, 2010.

MCGRANAGHAN, P. et al. The survival of anaerobic fungi in cattle faeces. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 29, n. 3, p. 293-300, 2006.

THEODOROU, M. K. et al. Comparison of anaerobic fungi in faeces and rumen digesta of newly born and adults ruminants. **Mycological Research**, v.97, n. 10, p. 1245-1252, 1993.

WANG, X.; LIU, X.; GROENEWALD, J. Z. Phylogeny of anaerobic fungi (phylum Neocallimastigomycota), with contributions from yak in China. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 110, v. 1, p. 87–103, 2017.



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 de unidades formadoras de colônias (UFC) de fungos anaeróbios facultativos isolados do fluído ruminal e fezes de bezerros Nelore machos e fêmeas após o período de desmame.

SEXOS	FLUÍDO RUMINAL		FEZES	
	FUNGOS	LEVEDURAS	FUNGOS	LEVEDURAS
MACHOS	1,1 x 10 <sup>6</sup>	1,3 x 10 <sup>6</sup>	6,5 x 10 <sup>4</sup>	3,6 x 10 <sup>5</sup>
FÊMEAS	4,2 x 10 <sup>6</sup>	1,5 x 10 <sup>6</sup>	9,2 x 10 <sup>3</sup>	1,7 x 10 <sup>6</sup>