

# FUNGOS ANAERÓBIOS DO RÚMEN DE BEZERRAS E VACAS LEITEIRAS ALIMENTADAS COM DIFERENTES VOLUMOSOS TROPICAIS\*

Eduardo Robson Duarte<sup>1+</sup>, Patrícia Natalícia Mendes de Almeida<sup>2</sup>,  
Cláudio Eduardo Silva Freitas<sup>3</sup>, Flávia Oliveira Abrão<sup>4</sup>, Izabella Carolina  
de Oliveira Ribeiro<sup>5</sup> e Edvaldo Alves Vieira<sup>5</sup>

**ABSTRACT.** Duarte E.R., de Almeida P.N.M., Freitas C.E.S., Abrão F.O., Ribeiro I.C. de O. & Vieira E.A. [Ruminal anaerobic fungi of dairy calves and cows fed with different tropical forages]. Fungos anaeróbios do rúmen de bezerras e vacas leiteiras alimentadas com diferentes volumosos tropicais. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 35(3):260-266, 2013. Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Universitária, 1000, Bairro Universitário, Montes Claros, MG 39400-006, Brasil. Email: duartevet@hotmail.com

Anaerobic ruminal fungi are important for digestion of lignified plant fibers. This work aimed to evaluate the detection rate of these fungi in ruminal fluid of calves and dairy cows fed with different sources of tropical forages. Holstein animals were sampled, 30 cows fed sorghum silage, 30 cows fed on *Brachiaria brizantha* pasture, 12 calves supplemented with sorghum silage and 11 calves fed with chopped sugar cane. After puncture and collection of ruminal fluid, mycological direct exams of the samples were performed, using KOH for clarification and stained with methylene blue. The detection rate for dairy cows fed with sorghum silage was only 33.3%, while for the other groups corresponding to 100% of positive exams. Cows fed with sorghum silage had lower number of positive tests than those fed on *B. brizantha* ( $p < 0.05$ ). The fungal structures were thick, with multiple zoosporeangia and bulbous rhizoids, suggestive of the genus *Caecomyces*.

KEY WORDS. Rumen, mycobiota, tropical forages, semiarid.

**RESUMO.** Os fungos anaeróbios do rúmen são importantes para a digestão de fibras vegetais lignificadas. Neste trabalho objetivou-se verificar a taxa de detecção desses fungos no líquido ruminal de bezerras e vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes de volumosos tropicais. Foram amostrados animais da raça Holandesa, sendo 30 vacas alimentadas com silagem de sorgo, 30 alimentadas em pastagem de

*Brachiaria brizantha*, 12 bezerras suplementadas com silagem de sorgo e 11 bezerras alimentadas com cana de açúcar picada. Após a punção e coleta do fluido ruminal, foi realizado o exame micológico direto com a clarificação com KOH e coloração com azul de metileno. A taxa de detecção para vacas alimentadas com silagem de sorgo foi apenas 33,3%, enquanto que para os demais grupos a positividade

\*Recebido em 3 de agosto de 2012.

Aceito para publicação em 20 de agosto de 2013.

<sup>1</sup> Médico-veterinário, DSc. Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais (ICA/UFMG), Av. Universitária, 1000, Bairro Universitário, Montes Claros, MG 39400-006, Brasil. +Autor para correspondência. E-mail: duartevet@hotmail.com

<sup>2</sup> Médico-veterinário, MSc. Faculdades Integradas do Norte de Minas, (FUNORTE/SOEBRAS), Av. Osmani Barbosa, 11.111, Bairro Universitário, Montes Claros, MG 39404-006. E-mail: patricianobre@funorte.edu.br

<sup>3</sup> Zootecnista, Programa de Pós-Graduação, Universidade Estadual de Montes Claros, Montes Claros, MG. E-mail: eduardo\_freitas@hotmail.com

<sup>4</sup> Zootecnista, MSc. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha Belo Horizonte, MG 31270-901. E-mail: flavia\_abraao2005@yahoo.com.br

<sup>5</sup> Curso de Zootecnia, ICA/UFMG, Av. Universitária, 1000, Bairro Universitário, Montes Claros, MG 39400-006. E-mail: jose\_vald12@yahoo.com.br

correspondeu a 100%. Vacas recebendo silagem de sorgo apresentaram menor número de exames positivos, quando comparadas com aquelas alimentadas em *Brachiaria brizantha* ( $p < 0,05$ ). As estruturas fúngicas encontradas eram espessas, múltiplos zoosporângios e rizomicélios bulbosos, sugestivas do gênero *Caecomyces*. Os fungos anaeróbios do rúmen aderem preferencialmente a tecidos vegetais fibrosos, o que justificaria a maior taxa de detecção para as vacas alimentadas na pastagem.

**PALAVRAS-CHAVE.** Rúmen, mycobiota, forragens tropicais, semiárido.

## INTRODUÇÃO

Os fungos anaeróbios do rúmen desenvolvem importante papel na digestão e no ecossistema do trato digestório de ruminantes, considerando as propriedades enzimáticas, fisiológicas, metabólicas e mecânicas desempenhadas no ambiente ruminal (Cerdà 2003, Kamra 2005). Esses fungos podem representar até 8% da biomassa microbiana do rúmen nos animais que recebem dietas ricas em fibras e estão envolvidos na degradação da parede celular lignificada (Akin 1987).

A biomassa vegetal ingerida pelos ruminantes consiste basicamente de celulose, hemicelulose e lignina, além da pectina, que contribui com mais de 100g kg<sup>-1</sup> de matéria seca de algumas forragens (Theodorou et al. 1996). Os fungos da microbiota ruminal apresentam grande produção enzimática para degradação de vários polissacarídeos da parede celular vegetal (Gordon & Phillips 1998, McAllister 2001, Ximenes 2003). Os rizoides desses fungos podem penetrar fibras lignificadas, desestruturar a parede celular e aumentar a área de superfície das partículas de alimentos, o que facilita a colonização de outros microrganismos (Paul et al. 2004).

A maior população fúngica no rúmen é observada em animais adultos e que ingerem maior proporção de fibras vegetais (Grenet et al. 1989). A principal espécie encontrada em bovinos é *Neocallimastix variabilis*, que é de ciclo monocêntrico, com zoósporos poliflagelados e filamentos com rizomicélio abundante. A espécie *Anaeromyces elegans* é também isolada no trato digestório desses animais, apresentando ciclo policêntrico, com zoósporos uniflagelados e filamentos com rizomicélio (Ho et al. 1993).

Poucos estudos têm avaliado a presença e a participação desses fungos no ambiente ruminal de bovinos alimentados com diferentes fontes de

volumosos tropicais. A comparação da frequência desses fungos no ecossistema ruminal de animais adultos e jovens também não está completamente elucidada na literatura científica. Por isso, o objetivo neste trabalho foi avaliar a presença de estruturas características de fungos anaeróbios no conteúdo ruminal de vacas e bezerras leiteiras, alimentadas com diferentes fontes de volumosos tropicais.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Local

As coletas de fluido ruminal foram realizadas na Fazenda Experimental do Instituto de Ciências Agrárias (ICA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e em uma outra fazenda localizada no município de Montes Claros, que está inserido no norte do estado de Minas Gerais, Brasil. As coordenadas geográficas dessa região correspondem a 16°50'52" de latitude sul, 43°55'29" de longitude oeste e encontra-se a 646 m de altitude. O clima, segundo classificação de Köppen-Geiger, é do tipo Aw, considerado tropical de savana, com longo período seco (outubro a abril) e curto período chuvoso (novembro a março). A temperatura média durante o período no qual se realizou este experimento, novembro de 2008 a agosto de 2009, foi de 22,9°C e a pluviosidade foi de 960,0 mm, de acordo com o 5º Distrito do Instituto Nacional de Meteorologia, localizado em Montes Claros.

### Animais

Foram avaliados quatro tratamentos, em delineamento inteiramente casualizado, considerando-se a utilização de diferentes volumosos por diferentes categorias de animais. Foram coletadas amostras de conteúdo ruminal de vacas e bezerras com grau de sangue predominantemente da raça Holandesa (3/4 a puro por cruz). As vacas apresentavam, em média, 5,91 anos de idade e 546 kg de peso. As bezerras apresentavam idade média de 12,9 meses e peso médio de 196,8 kg, sendo que todas estavam confinadas, recebendo suplementação volumosa em cocho de alvenaria.

As vacas apresentavam, em média, 5,91 anos de idade e 546 kg de peso. As bezerras apresentavam idade média de 12,9 meses e peso médio de 196,8 kg, sendo que todas estavam confinadas, recebendo suplementação volumosa em cocho de alvenaria.

### Tratamentos

Em todos os tratamentos, à exceção dos animais a pasto, os alimentos foram fornecidos às oito e às dezesseis horas. Os tratamentos foram comparados dois a dois com o objetivo de avaliar o efeito da alimentação ou da idade dos animais na taxa de detecção dos fungos do rúmen.

### Vacas alimentadas com silagem de sorgo (T1)

Foram coletadas amostras de 30 vacas suplementadas com silagem de sorgo. Esses animais receberam diariamente, em média, 30 kg de silagem de sorgo por animal como única fonte de volumoso, além de 5 kg animal<sup>-1</sup> de concentrado. Esse concentrado possuía 70% de grãos de milho moídos, 25% de grãos de soja moídos, 3% de premix mineral e 2% de ureia. As composições bromatológicas da silagem de sorgo e do concentrado estão descritas na tabela 1. Os animais tinham ainda, à disposição em cocho de alvenaria para consumo *ad libitum*, o premix mineral e sal comum na proporção

de 1:1.

### Vacas alimentadas em pastagem de *Brachiaria brizantha* (T2)

O segundo grupo de 30 vacas foi alimentado exclusivamente em pastagem de *Brachiaria brizantha* no período de verão, janeiro a abril de 2009. Os resultados da análise bromatológica de amostras desse capim encontram-se na tabela 1. Os animais recebiam, também à vontade, a mesma mistura de premix mineral e sal comum que os animais do grupo anterior.

### Bezerras alimentadas com silagem de sorgo (*Sorghum bicolor*, L.) (T3)

Após um período de 60 dias consumindo silagem de sorgo, 12 bezerras foram submetidas à coleta de fluido ruminal. Esses animais consumiam, em média, 15 kg animal<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> da mesma silagem fornecida às vacas e dois kg animal<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> de concentrado (Tabela 1). Os ingredientes utilizados no preparo desse concentrado foram cachos de sorgo triturados (70%), farelo de soja (25%), ureia (2%) e premix mineral (3%). As bezerras tinham à disposição, para consumo *ad libitum*, mistura de mineral com sal comum na proporção de 1,5:1.

### Bezerras alimentadas com cana forrageira (*Saccharum officinarum*, L.) (T4)

As bezerras utilizadas nesse tratamento foram adaptadas à dieta com cana forrageira picada (Tabela 1) por um período de 43 dias, alcançando o consumo médio desse volumoso de 9,2 kg animal<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>. Antes das alimentações, foram adicionados ureia e sulfato de amônia na proporção de 9:1, ambos diluídos em água. A quantidade da mistura de ureia e sulfato de amônia fornecida foi de 40 g para cada 100 kg de peso corporal dos animais. Foi ainda disponibilizada a mistura de premix mineral e sal comum fornecida anteriormente.

### Procedimentos de coleta

Os animais foram imobilizados em brete de contenção, no período da manhã, antes da primeira refeição. Para a coleta do fluido ruminal foram realizadas tricotomia e assepsia com solução de Iodo-PVPI (1%) em área de aproximadamente cinco

cm<sup>2</sup>, localizada na parte ventral do abdômen esquerdo, abaixo da fossa paralombar e cranialmente à articulação do joelho (Dirksen 1993).

Foram puncionados 15 ml de fluido ruminal, com o auxílio de catéter humano (Solidor®, 14,2, BioMed Health Care Products, Haryana - Índia) acoplado a seringas estéreis. Cada seringa foi lacrada, identificada, armazenada em caixa isotérmica com gelo e encaminhada ao laboratório.

### Análises físico-químicas e exame direto para detecção dos fungos

Nos exames macroscópicos e físico-químicos do líquido, foram avaliados cor, odor e viscosidade, como recomendado por Dirksen (1993). O pH do líquido ruminal foi mensurado utilizando-se um potenciômetro digital imediatamente após a coleta.

Para exame direto dos fungos, foram recolhidos 2mL do conteúdo ruminal, que foram transferidos para tubos de ensaio contendo 15mL de solução de KOH a 10% para a clarificação. As amostras foram incubadas durante uma hora a 90°C. O sobrenadante foi removido e os resíduos neutralizados com 10 mL de solução 0,02N de HCL, durante um a dois minutos. Após desprezar a solução ácida, os resíduos foram transferidos para outros tubos contendo 15mL de uma solução 0,05% de azul de metileno e lactoglicerol. O conteúdo foi analisado em um microscópio estereoscópio. As partículas que demonstraram a presença de esporângios, hifas e rizoides de fungos foram transferidas e montadas em lâminas com azul de metileno e examinadas sob a luz da microscopia óptica com aumento de 400 a 1000 vezes (Chaudhry 2000). O delineamento utilizado foi inteiramente ao acaso.

Para comparar as médias de pH das espécies estudadas, utilizou-se o teste t, e as taxas de detecção dos fungos foram analisadas pelo teste do qui-quadrado. Essas análises foram processadas no programa SAEG (2007), considerando diferenças significativas aquelas com valores de P<0,05.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Características físico-químicas do fluido ruminal

A Tabela 2 apresenta diferenças nas características físicas do fluido ruminal entre os grupos de animais avaliados, o que sugere a interferência da dieta nesses parâmetros. As vacas e bezerras alimentadas com silagem de sorgo apresentaram fluido ruminal mais escuro. Entretanto, 96,7% das vacas que receberam capim possuía suco verde claro, enquanto todas as bezerras alimentadas com cana forrageira apresentaram fluido com coloração castanho claro.

O potencial de redução do azul de metileno (PRAM) variou consideravelmente entre os grupos avaliados. Enquanto 100% das amostras coletadas das bezerras apresentaram valores iguais ou inferiores a seis minutos, 81% das amostras coletadas em vacas alimentadas com capim apresentaram PRAM superior a seis minutos. Essa variação poderia ser atribuída à relação volumoso/concentrado, pois as

Tabela 1. Composição químico-bromatológica da silagem de sorgo, do capim *Brachiaria brizantha*, da cana picada e das rações concentradas fornecidas às vacas e às bezerras.

Parâmetros	Percentual				
	Silagem de sorgo	<i>Brachiaria brizantha</i>	Cana picada*	Concentrado	
				Vacas	Bezerras
MS	31,04	32,76	24,84	85,36	86,50
FDN	46,28	37,49	36,68	10,56	18,12
FDA	38,21	31,18	30,55	8,02	13,86
PB	5,45	6,02	5,16	18,65	11,61
EE	2,93	2,02	0,90	5,15	4,71
MM	7,44	6,61	7,37	8,27	4,39
CT	84,18	85,35	86,57	67,58	79,29
CNF	37,90	47,86	49,89	57,02	61,17

\* Cana picada sem adição de ureia e sulfato de amônia.

MS: matéria seca; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; MM: matéria mineral; CT: carboidratos totais; CNF: carboidratos não-fibrosos. CT= 100 - (PB + EE + MM) e CNF = CT - FDN, Conforme Weiss (1998).

Tabela 2. Análises macroscópicas e físicas do líquido ruminal de bovinos leiteiros alimentados com diferentes tipos de volumosos.

Variáveis	Número de amostras	%	Valores de referência Dirksen(1993)
<b>Vacas silagem (n=30)</b>			
Cor: Castanho escuro	30	100	Castanho oliva ou verde
Odor: Aromático	30	100	Aromático
Viscosidade			
Levemente espessa	14	46,7	Espessa
Espessa	16	53,3	
PRAM <sup>a</sup>			
Até 3 minutos	11	36,7	Até 3 minutos
De 3 a 6 minutos	5	16,6	
Acima de 6 minutos	14	46,7	
<b>Vacas capim (n=30)</b>			
Cor: Castanho oliva ou verde	29	96,6	Castanho oliva ou verde
Castanho enegrecido	1	3,4	
Odor			
Aromático	30	100	Aromático
Viscosidade			
Levemente espessa	22	73,3	Espessa
Espessa	8	27,7	
PRAM			
Até 3 minutos	6	20,0	Até 3 minutos
Acima de 6 minutos	24	80,0	
<b>Bezerras silagem (n=12)</b>			
Cor: Castanho escuro	12	100	Castanho oliva ou verde
Odor: Aromático	30	100	Aromático
Viscosidade			
Levemente espessa	14	100	Espessa
PRAM			
De 3 a 6 minutos	12	100	Até 3 minutos
<b>Bezerras cana (n=11)</b>			
Cor			
Castanho médio a escuro	3	27,3	Castanho oliva ou verde
Verde oliva claro	8	72,7	
Odor			
Aromático a inodoro	11	100	Aromático
Viscosidade			
Aquosa	11	100	Espessa
PRAM			
Até 3 minutos	9	81,8	Até 3 minutos
De 3 a 6 minutos	2	18,2	

<sup>a</sup> PRAM: potencial de redução do azul de metileno.

vacas que estavam a pasto e não recebia concentrado apresentaram maior PRAM. Segundo Dirksen (1993), dietas com níveis elevados de concentrado poderiam resultar em um PRAM de apenas um minuto, enquanto uma dieta constituída exclusivamente de feno pode elevar esse tempo para três a seis minutos.

Em um estudo que avaliou as características físico-químicas de fluido ruminal de vacas leiteiras de alta produção, com média de 25 kg de leite dia<sup>-1</sup>, o PRAM observado foi menor que seis minutos em 100% das amostras avaliadas. Embora a técnica de coleta de fluido ruminal tenha sido por sonda estomacal de via dupla, os resultados estão dentro do esperado, uma vez que a dieta das vacas amostradas constituiu-se de alimentos com elevado valor pro-

teico como silagem de sorgo e milho, ração concentrada e pastagem de Tifton (*Cynodon nemfluesis*) (Campos et al. 2006).

As médias do potencial hidrogeniônico (pH) do líquido ruminal dos quatro grupos avaliados podem ser observadas na Tabela 3. Esses valores, quando comparados pelo teste t de Student, não apresentaram diferenças entre os grupos alimentados com diferentes fontes de volumosos e nem mesmo entre as categorias com os mesmos volumosos.

A mensuração do pH tem importância como método de triagem das amostras de fluido de rúmen, uma vez que auxilia no diagnóstico da acidose ruminal e outras desordens metabólicas do rúmen em rebanhos leiteiros (Garret et al. 1999). O pH ruminal após o jejum de 12 horas pode refletir as características da dieta e dos produtos finais da fermentação e, conseqüentemente, está relacionado às taxas de crescimento microbiano (Lavezzo et al. 1998). Além disso, a estabilização do pH ruminal é atribuída ao poder tamponante da saliva e da capacidade da mucosa do rúmen em absorver mais rapidamente os ácidos livres resultantes da fermentação. Dietas com baixa relação volumoso/concentrado e baixos teores de fibras efetivas aumentam a acidificação ruminal, promovendo a morte de microrganismos celulolíticos (Dukes et al. 1996).

As médias de pH para os diferentes grupos avaliados estão dentro ou próximo dos valores normais, segundo Dirksen (1993). O valor normal do pH do conteúdo ruminal oscila entre 5,5 e 7,4 ao longo do dia, de acordo com a alimentação administrada e com o intervalo de tempo da última alimentação. A elevação do valor do pH pode ocorrer em casos de jejum superior a 24 h ou quando a microbiota for alterada por outros motivos, como na intoxicação por ureia ou em processos de putrefação, que resultam em acentuada alcalose ruminal (Dirksen 1993).

Em outra pesquisa realizada com vacas leiteiras lactantes, verificou-se que os valores médios do pH foram de 7,28. Esses resultados, considerados altos,

Tabela 3. Médias dos valores do potencial hidrogeniônico e taxa de detecção de fungos anaeróbios em fluidos ruminais de bovinos leiteiros alimentados com diferentes fontes de volumosos.

Grupo animal	pH (Média do grupo)	Taxa de detecção de fungos (%)
Vacas silagem	6,98	33,3
Vacas capim	6,84	100,0
Bezerras silagem	6,85	100,0
Bezerras cana	6,97	100,0

C (coeficiente de variação): 5,14%.

podem ter sido influenciados pelo método de coleta adotado, que foi via sonda esofagiana, quando geralmente ocorre contaminação da amostra com a saliva do animal. Outro fator que, em associação à contaminação pela saliva, pode ter colaborado para a elevação do pH ruminal dos animais é que, no momento da coleta, as vacas estavam em jejum de oito horas (Moreira et al. 2001), o que favorece o pH para a neutralidade (Dirksen 1993).

O ponto ótimo da digestão das fibras vegetais é dado quando valores de pH se encontram entre 6,7 e 7,1. Em situações em que o pH atinge níveis inferiores a 6,2, ocorre redução na digestibilidade, já que os microrganismos celulolíticos são os mais sensíveis ao aumento da concentração de íons hidrogênio (Orskov 1986). Outra consequência da queda do pH ruminal é a redução da digestão de proteínas, celulose, hemicelulose, pectinas e amido. Isso seria justificado porque, quando o pH atinge a faixa de 5,5 a 6,5, ocorre decréscimo no metabolismo microbiano no rúmen (Hoover & Stokes 1991).

A avaliação físico-química do fluido ruminal é de importante valor no diagnóstico de enfermidades associadas ao aparelho digestivo dos ruminantes, especialmente aquelas dos compartimentos pré-gástricos, onde está alojada a microbiota autóctone do rúmen. Esses microrganismos são altamente sensíveis às alterações externas e internas às quais, rotineiramente, estão submetidos os animais (Borges et al. 2002). Sendo, assim, bons indicadores da saúde ruminal.

Os resultados das análises microbiológicas e físico-químicas do fluido ruminal podem sofrer interferências de acordo com a dieta fornecida aos animais. Dietas pobres em fibra, levam ao rápido e constante declínio do pH ruminal, promovendo a morte de microrganismos no rúmen o que resulta em desordens metabólicas, ruminites e septicemias (Russell & Rychlik 2001).

### Detecção de fungos anaeróbios do rúmen

Estruturas de fungos anaeróbios do rúmen foram detectadas para todas as vacas alimentadas com capim *B. brizantha*, todas as bezerras recebendo silagem de sorgo e todas as bezerras que estavam recebendo cana picada com ureia. Para as vacas alimentadas com silagem de sorgo, das 30 amostras avaliadas, apenas dez apresentaram essas estruturas fúngicas. As estruturas encontradas foram abundantes e exuberantes para as vacas recebendo capim e para as bezerras alimentadas com silagem (Figura

1). A técnica de detecção de fungos ruminais descrita por Chaudhry (2000) e, utilizada neste estudo, mostrou-se eficiente, prática e relativamente simples, podendo ser utilizada como importante ferramenta para avaliar a presença desses microrganismos nos mais diferentes estudos de prevalência e ensaios de digestibilidade para ruminantes.

Comparando-se as taxas de positividade desses exames pelo teste do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ), constatou-se que o grupo de vacas recebendo silagem de sorgo apresentou menor número de exames positivos, quando comparado ao grupo de vacas alimentadas com *B. brizantha* ( $p < 0,01$ ). O maior teor de concentrado na dieta das vacas alimentadas com silagem de sorgo poderia ter favorecido a população de outros microrganismos no rúmen, uma vez que verificou-se PRAM inferior a seis minutos para 53,3% dos animais desse grupo (Tabela 2). Com a menor proporção de fibras na dieta, ocorreria o decréscimo da população de fungos do rúmen, reduzindo a taxa de detecção. Dietas à base de fibras estimulam o crescimento de fungos anaeróbios do rúmen, pois esses preferem tecidos mais lignificados para se fixar e degradar. Por outro lado, dietas peletizadas e fareladas apresentam tempo de passagem curto no sistema digestório, o que dificulta o crescimento dos fungos anaeróbios (Kamra, 2005). Além disso, elevadas concentrações de açúcares solúveis inibem a germinação dos zoósporos fúngicos dentro do rúmen. Isso ocorreria devido à redução do pH do fluido do rúmen com a fermentação da grande concentração de açúcares solúveis (Kamra, 2005). Os fungos anaeróbios do rúmen podem assumir im-

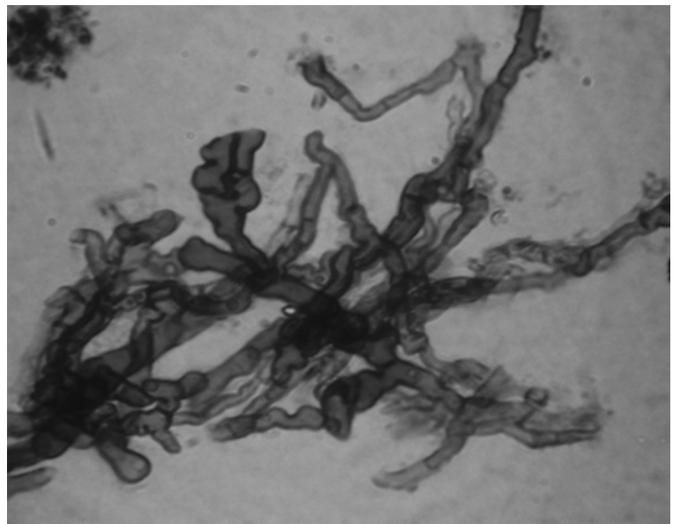


Figura 1. Estrutura microscópica do fungo anaeróbio policêntrico observada após exame direto em de bezerra alimentada com silagem de sorgo. Fluido ruminal, 1000X.

portância fundamental na degradação de forragens tropicais, pois produzem enzimas com atividade para degradar celulose e hemicelulose lignificadas (Cerdà, 2003).

Neste estudo observou-se menor taxa de detecção de fungos anaeróbios para vacas ( $p < 0,05$ ) em relação a bezerras recebendo silagem de sorgo. Entretanto, segundo Grenet et al. (1989), a maior população desses fungos é observada em animais adultos e que ingerem maior proporção de fibras vegetais. Neste caso, a menor taxa observada para as vacas pode ser justificada com a maior ingestão de concentrado e porque as bezerras deste estudo já apresentavam média de 12 meses, o que teria favorecido a colonização ruminal desses animais. A transferência desses fungos, bem como de outros microrganismos, entre animais pode ocorrer com a aquisição inicial de uma população seguida por adição ou substituição desta ao longo da vida do ruminante (Gordon & Phillips, 1998). As fezes podem servir como rota de transferência dos fungos entre os herbívoros. Apesar dos ruminantes não realizarem coprofagia, acidentalmente a ingestão de fezes frescas ou secas pode ocorrer (Trinci et al. 1994). Saliva e alimentos como capim, silagem, feno e água contaminados por fungos são fontes importantes para transferência tanto entre animais quanto entre rebanhos (Gordon & Phillips, 1998).

As formas fúngicas detectadas para todos os grupos avaliados nesta pesquisa eram espessas, com estruturas de múltiplos zoosporângios e rizomicélios bulbosos, compatíveis com as estruturas do fungo anaeróbio do rúmen do gênero *Caecomyces* (Gleason et al. 2003) (FIG. 1). Entretanto, em pesquisa anterior na mesma região geográfica deste estudo, foi verificado que para novilhos de corte, ingerindo pastagens do gênero *Brachiaria* no período seco do ano, a taxa de detecção foi de 73,3% e as estruturas observadas eram compatíveis com fungos anaeróbios do gênero *Neocallimastix* (Abrão et al. 2010). Futuros estudos são necessários para elucidar essas diferenças observadas entre esses bovinos de corte e os leiteiros.

A habilidade em degradar a parede celular vegetal varia de acordo com o gênero, a espécie e a cepa dos fungos. Cepas pertencentes ao gênero *Caecomyces* geralmente apresentam níveis de atividade celulolítica mais reduzidos quando comparados aos fungos dos outros gêneros (Fonty & Gouet 1994). Neste estudo as dietas apresentavam níveis baixos de FDA e, dessa forma, a presença de fun-

gos do gênero *Neocallimastix*, detectados para bovinos em pastagens lignificadas em nossos estudos anteriores (Abrão et al. 2010), seria superada pela população de *Caecomyces* spp. Fungos do gênero *Caecomyces* poderiam apresentar maior velocidade de crescimento, uma vez que têm a capacidade de desenvolver apenas a forma vegetativa, não dependendo da formação de zoósporos para se perpetuar no ambiente ruminal (Trinci et al. 1994). Esses microrganismos podem romper fisicamente as fibras vegetais quando ocorre a expansão dos bulbos dos rizoides dentro da estrutura vegetal. Essa habilidade mecânica e a grande atividade de polissacaridases justificam a capacidade desses fungos para a utilização das fibras vegetais mais resistentes, quando comparados às diferentes espécies bacterianas do rúmen (Trinci et al. 1994).

## CONCLUSÃO

Os dados obtidos a partir do exame micológico direto indicaram a presença de estruturas fúngicas com características compatíveis com fungos do gênero *Caecomyces*. A taxa de positividade foi significativamente menor para as vacas alimentadas com silagem de sorgo (33%) quando comparada às taxas dos demais tratamentos (100%).

**Agradecimentos.** Este trabalho teve apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e da Pró-Reitoria de Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrão F.O., Barreto S.M.P., Geraseev L.C. & Duarte E.R. Fungos anaeróbios do rúmen de bovinos e caprinos de corte criados em pastagens tropicais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 62:757-760, 2010.
- Akin D.E. Association of rumen fungi with various forage grasses. *An. Feed. Sci. Technol.*, 16:273-285, 1987.
- Borges N.C., Silva L.A.F., Fioravanti M.C.S., Cunha P.H.J., Moraes R.R., Guimarães P.L. & Martins M.E.P. Avaliação do suco ruminal de bovinos "a fresco" e após 12 horas de conservação. *Cienc. Anim. Bras.*, 3:57-63, 2002.
- Campos R., Gonzalez F., Coldebella A., Cardoso F. Indicadores do ambiente ruminal e suas relações com a composição do leite e células somáticas em diferentes períodos da primeira fase da lactação em vacas de alta produção. *Cienc. Rur.*, 36:525-530, 2006.
- Cerdà A.R. Fermentación ruminal, degradación protéica y sincronización energía-proteína en terneras en cebo intensi-

- vo. Tesis. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona, 2003. 208 f. (Disponível em: < <http://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/5667/arc1de1.pdf?sequence=1> >)
- Chaudhry A.S. Microscopic studies of structure and ruminal fungal colonization in sheep of wheat straw treated with different alkalis. *Anaerobe*, 6:155-161, 2000.
- Dirksen G. Sistema digestivo, p.167-169. In: Dirksen G., Gründer H.D. & Stöber M. (Eds), *Rosenberger: exame clínico dos bovinos*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1993.
- Dukes H.H., Swenson M.J. & Reece W.O. *Dukes fisiologia dos animais domésticos*. 11ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1996. 856p.
- Fonty G. & Gouet P.H. Plant cell wall degradation by anaerobic fungi, p. 97-112. In: Prins R.A. & Stewart C.S. (Eds), *Micro-organisms in ruminant nutrition*. Nottingham University Press, Dalfsen, 1994.
- Garrett E.F., Pereira M.N., Nordlund K.V., Armentano L.E., Goodger W.J. & Oetzel G.R. Diagnostic methods for the detection of subacute ruminal acidosis in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 82:1170-1178, 1999.
- Gleason F.H., Gordon G.L.R. & Phillips M.W. Variation in morphology of rhizoids in australian isolates of *Caecomyces* (Chytridiomycetes). *Australasin. Mycol.*, 21:81-93, 2003.
- Grenet E., Jamont J., Fonty G. & Bernalier A. Kinetics study of the degradation of wheat straw and maize stem by pure cultures of anaerobic fungi observed by scanning electron microscopy. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 2:456-457, 1989.
- Gordon G.L.R. & Phillips M.W. The role of anaerobic gut fungi in ruminants. *Nutr. Res. Rev.*, 11:133-168, 1998.
- Ho Y.W., Barr D.J.S., Abbulah N. & Jalaludin S. *Anaeromyces*, an earlier name for *Ruminomyces*. *Mycotaxon*, 47:283-293, 1993.
- Hoover W.H. & Stokes S.R. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. *J. Dairy Sci.*, 74:3630-3644, 1991.
- Kamra D.N. Rumen Microbial Ecosystem. *Cur. Sci.*, 89:125-35, 2005.
- Lavezzo O.E.N.M., Lavezzo W. & Wechsler F.S. Estádio de desenvolvimento do milho. 3: avaliação de silagens por intermédio de parâmetros de fermentação ruminal. *Rev. Bras. Zootec.*, 27:171-178, 1998.
- McAllister T.A., Hristov A.N., Beauchemin K.A., Rode L.M. & Cheng K.J. Enzymes in ruminant diets, p.273-298. In: Bedford M.R. & Partridge G.G. (Eds), *Enzymes in farm animal nutrition*. CABI, Oxon, 2001.
- Moreira A.L., Pereira O.G., Garcia R., Valadares Filho S.C., Campos J.M.S., Souza V.G. & Zervoudakis J.T. Produção de leite, consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes, pH e concentração de amônia ruminal em vacas lactantes recebendo rações contendo silagem de milho e feno de alfafa e de capim-coastcross. *Rev. Bras. Zootec.*, 30(supl. 1):1089-2001, 2001.
- Orskov E.R. *Protein nutrition in ruminants*. 2<sup>nd</sup> ed. Academic, San Diego, 1986. 175p.
- Paul S.S., Kamra D.N., Sastry V.R.B., Sahu N.P. & Agarwal N. Effect of anaerobic fungi on in vitro feed digestion by mixed rumen microflora of buffalo. *Reprod. Nutr. Dev.*, 44:313-319, 2004.
- Russell J.B. & Rychlik J.L. Factors that alter rumen microbial ecology. *Science*, 292:1119-1122, 2001.
- SAEG. Sistema para Análises Estatísticas. Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes. UFV, Viçosa, 2007.
- Theodorou M.K., Mennim G., Davies D.R., Zhu W.-Y., Trinci A.P.J. & Brookman J.L. Anaerobic fungi in the digestive tract of mammalian herbivores and their potential for exploitation. *Proc. Nutr. Soc.*, 55:913-926, 1996.
- Trinci A.P.J., Rickers A., Gull K., Davies D.R., Nielsen B.B., Zhu W.Y. & Theodorou M.K. Anaerobic Fungi: their distribution and life cycle, p.79-126. In: Prins R.A. & Stewart C.S. (Eds), *Micro-organisms in Ruminant Nutrition*. Nottingham University Press, Dalfsen, 1994.
- Van Soest P.J., Robertson J.D. & Lewis B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharide in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.*, 74:3583-3597, 1991.
- Ximenes E. Fungos Anaeróbios. *Rev. Ciênc. Med. Biol.*, 2:269-275, 2003.