

Seleção de Fungos Celulolíticos do Intestino Grosso de Borregos e Ovelhas Criados em Pastagens Tropicais

Aerobic Cellulolytic Fungi of the Large Intestine of Lambs and Sheep Bred in Tropical Pasture

Valdo Soares Martins Júnior^a; Eduardo Robson Duarte^a; Kellerson Luiz da Silva^b; Cláudio Eduardo Silva Freitas^c; Flávia Oliveira Abrão Pessoa^d; Patrícia Natalícia Mendes de Almeida^e

^aUniversidade Federal de Minas Gerais, MG, Brasil.

^bUniversidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias, MG, Brasil.

^cUniversidade Estadual de Montes Claros, MG, Brasil.

^dInstituto Federal Goiano - Campus Ceres, GO, Brasil.

^eFaculdades Integradas do Norte de Minas, MG, Brasil.

*E-mail: duartevet@hotmail.com

Resumo

O ambiente ruminal é composto por inúmeros microrganismos, onde cada um deles possui um papel fundamental no aproveitamento das dietas ingeridas pelos ruminantes, os fungos são seres unicelulares que atuam degradando as porções fibrosas dessa dieta. Objetivou-se neste estudo avaliar a atividade celulolítica (AC) de fungos micelianos aeróbios provenientes do trato digestório de ovinos. Foram identificados e avaliados 38 isolados de fungos micelianos provenientes de borregos e ovelhas, após o reisolamento, amostras desses microrganismos foram inoculadas em meio C, contendo celulose microcristalina a 1% como única fonte de carbono e incubadas em estufa a 37 °C, em triplicata, por um período de três dias. As leituras da AC foram realizadas após 24, 48 e 72 horas de incubação. Foi adicionado solução contendo vermelho congo e após 15 minutos, as placas foram lavadas com 15 mL de solução 1M de NaCl. Os índices de AC foram calculados pela razão entre o halo de degradação de celulose e o halo da colônia. Dois isolados do gênero *Aspergillus* e um *Trichoderma* sp. apresentaram índice AC maior que um, apresentando bom crescimento ao utilizarem esse polissacarídeo com única fonte de carbono. Futuros estudos devem avaliar o potencial desses fungos como probióticos na alimentação de ruminantes ou para microbiologia industrial.

Palavras-chave: Ovinos. Celulose. Trato Digestório. Norte de Minas Gerais.

Abstract

The ruminal environment is composed of numerous microorganisms, each of which plays a fundamental role in the use of the diets ingested by ruminants, fungi are unicellular beings that act by degrading the fibrous portions of this diet. The objective of this study was to evaluate the cellulolytic activity (CA) of aerobic mycelial fungi from the digestive tract of sheep. Thirty-eight isolates of mycelial fungi from lambs and sheep were identified and evaluated, after re-isolation, samples of these microorganisms were inoculated in medium C, containing 1% microcrystalline cellulose as the only carbon source, and incubated in an oven at 37 °C, in triplicate, for a period of three days. AC readings were performed after 24, 48 and 72 hours of incubation. Solution containing congo red was added and after 15 minutes, the plates were washed with 15 mL of 1M NaCl solution. CA indices were calculated by the ratio between the cellulose degradation halo and the colony halo. Two isolates of the genus *Aspergillus* and one *Trichoderma* sp. showed CA index greater than one, showing good growth when using this polysaccharide as a single carbon source. Future studies should assess the potential of these fungi as probiotics in ruminant feed or for industrial microbiology.

Keywords: Sheep. Cellulose. Digestive Tract. North of Minas Gerais.

1 Introdução

A ovinocultura é uma atividade expressiva na economia de muitos países e está presente em áreas, sob as mais distintas características edafoclimáticas, desenvolvida de forma extensiva e com baixos níveis tecnológicos (SINGARAVADIVELAN et al., 2019). Em regiões tropicais, a alimentação deficiente durante o período seco do ano limita o aproveitamento desses animais, pois as pastagens dessas regiões durante a estiagem apresentam digestibilidade reduzida ocasionado pelo processo fisiológico de lignificação da parede celular vegetal (WANG et al., 2016).

As forragens são imprescindíveis na dieta dos ruminantes, como fonte de nutrientes e energia no ambiente ruminal. Intrinsecamente as forrageiras tropicais apresentam menor

valor nutritivo em comparação às de origem temperada. Entretanto, frequentemente compreendem a única fonte de alimento para os ruminantes nos trópicos o que resulta em baixa produtividade dos ruminantes criados em pastagens em regiões semiáridas (DÍAZ et al., 2014). Portanto, alternativas para melhorar a eficiência econômica e produtiva dos ruminantes em condições tropicais devem ser avaliadas (ABDELRAHMAN et al., 2016).

Os fungos podem assumir importância fundamental na degradação das forragens tropicais, pois produzem enzimas com atividade para degradar polissacarídeos mais complexos (WEI et al., 2016). Estruturas fúngicas podem ser observadas em todas as partes do trato digestório dos ruminantes, desde as secreções salivares até as porções finais do intestino grosso e dietas com altos teores de fibras estimulam desenvolvimento

de populações fúngicas no ambiente ruminal (ABRÃO et al., 2014; WEI et al., 2016).

Em diferentes países, em todo o mundo, tem-se caracterizado a microbiota do trato digestório e registrado a importante participação desses microrganismos na digestão e no equilíbrio do ecossistema e na saúde dos ruminantes (ALMEIDA et al., 2012). Entretanto, pouco é conhecido do potencial de fungos aeróbios do trato digestório de ovinos para a nutrição

A habilidade dos microrganismos para degradar polissacarídeos, como a celulose, é uma característica de grande interesse, tanto na microbiologia industrial quanto na ecologia microbiana do rúmen e do ambiente geral. A caracterização da microbiota do trato digestório permitirá a seleção de isolados fúngicos com atividade superior de enzimas celulolíticas, importantes na degradação da parede celular vegetal (WEI et al., 2016).

Estudos da composição microbiana no trato digestório são importantes para avaliar as diferenças de colonização entre ruminantes de diferentes categorias e selecionar possíveis isolados com atividade celulolítica. Em futuros estudos, microrganismos com tais características poderão ser utilizados como probióticos para ruminantes. Essa suplementação poderá reduzir o período de adaptação para digestão de diferentes forragens, reduzindo a perda de peso e aumentando a produtividade desses animais (ABRÃO et al., 2014).

Objetivou-se com o presente trabalho caracterizar e avaliar a atividade celulolítica de fungos aeróbios da microbiota do intestino grosso de borregos e ovelhas criados em pastagens tropicais no Norte de Minas Gerais.

2 Material e Métodos

Os isolados dos fungos micelianos foram obtidos em coletas realizadas em uma propriedade no município de Francisco Sá, Norte do Estado de Minas Gerais. Foram cultivados em meio Ágar Sabouraud Dextrose (KASVI®, Teramo, Itália) e identificados após técnica de microcultivo. Foram identificados 78 fungos micelianos isolados de ovelhas. Dentre os 40 isolados de cordeiros, 35 correspondentes ao gênero *Aspergillus*, três *Paecilomyces* spp., um *Acremonium* sp. e um *Trichoderma* sp. De um total de 38 isolados das fezes das matrizes, 15 *Paecilomyces* spp., 11 *Aspergillus* spp. 11 *Malbranchea* spp. e uma *Onychocola* spp. (FREITAS et al., 2012).

2.1 Atividade Celulolítica

Cada isolado foi reinoculado em meio C, contendo celulose microcristalina (1%), sulfato de amônio (0,5%), sulfato de magnésio heptahidratado (0,05%) e ágar-ágar a (2%) para se adaptarem e crescerem nesse meio, onde a única fonte de carbono disponível foi a celulose microcristalina (WOOD, 1995).

Após incubação durante sete dias, cada isolado foi

novamente semeado em placas de petri 90 mm x 90 mm contendo 15 mL do mesmo meio e em triplicata. Posteriormente, foram incubadas em estufa BOD a 39 °C. As leituras da atividade celulolítica foram realizadas às 24, 48 e 72 horas, conforme adaptação à metodologia descrita por Teather e Wood (1982).

Ao final de cada período de incubação, procedeu-se à adição de 15 mL de solução com o corante vermelho congo (1mg mL^{-1}) sobre as placas durante 15 minutos. Após esse procedimento, as placas foram lavadas com 15 mL de solução 1M de NaCl, por três vezes consecutivas, procedendo-se à mensuração dos diâmetros dos halos claros e do diâmetro das colônias com o auxílio de um paquímetro (Mitutoyo®). Foi calculado o índice de atividade celulolítica (AC) de cada microrganismo, dividindo-se os valores das medidas do halo de hidrólise pelo diâmetro da colônia para cada período de avaliação (LOPES et al., 2009).

2.2 Análise estatística

O delineamento utilizado foi o inteiramente ao acaso. As taxas de detecção dos fungos foram avaliadas pelo teste do qui-quadrado (SAMPAIO, 1998), sendo consideradas diferenças significativas aquelas com valores de $p < 0,05$. Os dados foram processados no sistema para análises estatísticas e genéticas, SAEG (Versão 9.1).

3 Resultados e Discussão

A predominância do gênero *Aspergillus* poderia ser explicada por sua versatilidade e eficiência em catabolizar fontes de carbono solúveis tão bem quanto polímeros complexos (FLIPPIN et al., 2009). Tal capacidade pode ser comprovada em estudo com adição de culturas vivas de *Aspergillus oryzae*, *Saccharomyces cerevisiae* e de seus respectivos extratos, utilizados como suplementos alimentares na dieta de ruminantes. Pesquisas demonstram que esses aditivos microbianos podem melhorar o ganho de peso, a digestibilidade total da fibra (TRICARICO et al., 2008) e modificações positivas na digestão ruminal do amido (DI FRANCIA et al., 2008).

A comparação da atividade celulolítica nos tempos de 24, 48 e 72 horas, avaliada especificamente para o gênero *Aspergillus*, está demonstrada no Quadro 1.

Quadro 2 - Atividade celulolítica de isolados de *Aspergillus* spp. provenientes do trato digestório de ovelhas e borregos Santa Inês x Dorper, alimentados com forragens tropicais, após o cultivo em meio contendo celulose microcristalina (1%) com 24, 48 e 72 h de incubação

Isolados	Tempo de Crescimento (horas)					
	24		48		72	
	Colônia (mm)	AC*	Colônia (mm)	AC*	Colônia (mm)	AC*
Borrego 1	0,5	0	1	0	1,1	0
Borrego 2	0,7	0	1,1	0	1,4	0
Borrego 3	0,6	0	1,1	0	1,4	0

Isolados	Tempo de Crescimento (horas)					
	24		48		72	
	Colônia (mm)	AC*	Colônia (mm)	AC*	Colônia (mm)	AC*
Borrego 4	0,8	0	1,2	0	1,1	0
Borrego 5	1,2	0	1,8	0	4,1	1,39**
Borrego 6	0,2	0	0,9	0	1,2	0
Borrego 7	0,4	0	1	0	2,3	0
Borrego 8	1	0	1,4	0	1,7	0
Borrego 9	0,9	0	1,6	0	2,1	0
Borrego 10	0,9	0	1,8	0	2,3	0
Borrego 11	0,8	0	1,7	0	2,7	0
Borrego 12	1,1	0	2,1	0	2,8	0
Borrego 13	0,3	0	0,8	0	1,4	0
Borrego 14	0,7	0	1,7	0	2,6	0
Borrego 15	0,4	0	0,6	0	1,1	0
Borrego 16	0,5	0	1,3	0	2,1	0
Borrego 17	1	0	2,6	0	4	0
Borrego 18	0	0	0,5	0	1,7	0
Borrego 19	0,7	0	3	0	6,9	0
Borrego 20	0,2	0	1,2	0	2,2	0
Borrego 21	0,5	0	1,1	0	2,3	0
Borrego 22	0,4	0	1,1	0	1,3	0
Borrego 23	0,6	0	0,9	0	1,9	0
Borrego 24	0,3	0	1	0	2,6	1,23**
Borrego 25	0,4	0	0,8	0	1,3	0
Borrego 26	0,4	0	1,2	0	1,8	0
Borrego 27	0,4	0	1,4	0	2	0
Borrego 28	0,5	0	0,8	0	1,2	0
Borrego 29	0,6	0	1,2	0	2	0
Borrego 30	0,2	0	0,8	0	1,6	0
Borrego 31	0,5	0	1,1	0	1,5	0
Borrego 32	0,4	0	1	0	1,9	0
Borrego 33	0,8	0	0,9	0	1,6	0
Borrego 34	0,3	0	1,1	0	1,8	0
Borrego 35	0,2	0	1,2	0	1,7	0
Matriz 1	0,5	0	1,1	0	1,6	0
Matriz 2	0,4	0	1,4	0	2,8	0
Matriz 3	0,3	0	1,5	0	2,0	0
Matriz 4	0,4	0	1,3	0	2,0	0
Matriz 5	0,3	0	1,0	0	1,7	0
Matriz 6	0,7	0	1,2	0	2,4	0
Matriz 7	0	0	0,6	0	1,4	0
Matriz 8	0	0	0,3	0	2,8	0
Matriz 9	0,2	0	1,1	0	1,6	0
Matriz 10	0,3	0	1,0	0	1,7	0
Matriz 11	0,3	0	1,2	0	1,9	0
Média Borregos	0,55	0	1,26	0	2,08	0,07
Média Matrizes	0,21	0	1,06	0	1,99	0

Nota: *AC corresponde ao índice de atividade celulolítica, que mede a relação do diâmetro do halo de degradação da celulose microcristalina pelo diâmetro da colônia do fungo

** Indica índice de atividade celulolítica maior que um

Fonte: dados da pesquisa.

Nessa análise, foi possível observar que, mesmo dentro de um único gênero, como o *Aspergillus*, houve variações individuais entre os valores de AC dos 46 isolados avaliados.

Pode-se observar que os isolados Borrego 6 e Borrego 25 apresentaram AC superior a um com 72 horas de incubação, considerado bom índice para produção de enzimas celulolíticas (TEATHER; WOOD, 1982).

Provavelmente, essa capacidade possa estar relacionada às diferenças entre espécies e cepas desse fungo, fator esse ainda não considerado neste estudo. Futuros estudos devem ser feitos para tentar elucidar a maior degradação da celulose realizada por fungos provenientes do intestino grosso de borregos.

Recentes estudos avaliaram os efeitos da adição do extrato de *Aspergillus oryzae*, espécie utilizada na produção de molho de soja, sobre amostras do fungo anaeróbico *Neocallimastix frontalis*, proveniente do rúmen de vacas leiteiras. Os resultados demonstraram aumento de três vezes na produção de zoósporos móveis de *N. frontalis*, indicando o potencial promissor da adição do extrato de *A. oryzae* no ambiente ruminal (SCHIMIDT et al., 2004).

Dessa forma, os fungos do gênero *Aspergillus* encontrados neste trabalho poderiam também apresentar interação positiva com os demais microrganismos da microbiota autóctone do rúmen e ainda ter papel favorável na degradação da celulose, uma vez que estudos têm demonstrado alta atividade celulolítica desse gênero (RUEGGER; TAUKE-TORNISIELO, 2004).

Facchini et al. (2011a) avaliaram a produção de xilanases e celulasas de *Aspergillus japonicus* usando resíduos agroindustriais e observaram que ambas as enzimas exibiram ampla estabilidade de pH e apresentaram tolerância a íons de Al³⁺, Ba²⁺, Ca²⁺, Co²⁺, Cu²⁺, K²⁺, Mn²⁺, Na⁺ NH₄⁺ Hg²⁺ e Zn²⁺. O extrato bruto do fungo utilizado nesse estudo apresentou boa estabilidade ruminal quando comparado com preparações comerciais e pode ser obtido a partir de procedimentos de menor custo disponível utilizando resíduos agroindustriais. Segundo esses autores a utilização dessa cepa é promissora, uma vez que cresce rapidamente sob condições simples, secretando enzimas que exibem propriedades necessárias para aplicação na dieta de ruminantes.

Facchini et al. (2011b) avaliaram o pré-tratamento enzimático contendo extrato de enzimas fibrolíticas do fungo *Aspergillus japonicus* CO3 em quatro forrageiras tropicais, *Cynodon* spp. (Tifton-85), *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens* e *Panicum maximum* cv. Tanzânia. Foi observado que o pré-tratamento com extrato de *Aspergillus japonicus* teve melhor atividade enzimática para *Brachiaria decumbens* e *Brachiaria brizantha*. O extrato desse fungo pode melhorar a disponibilidade de açúcares fermentáveis, aumentando a fermentação ruminal com a hidrólise da parede celular de polissacarídeos.

Dessa forma, a aplicação de celulasas produzidas por fungos do gênero *Aspergillus* encontrados no trato digestório de ovelhas e borregos poderão ser também utilizadas como suplementação alimentar para ruminantes, melhorando a digestibilidade.

O Quadro 2 descreve a avaliação da AC nos tempos de incubação 24, 48 e 72 horas para os gêneros *Acremonium*, *Trichoderma*, *Onychocola*, *Paecilomyces* e *Malbranchea*. Analisando os resultados dos índices de AC para esses tempos de incubação, pôde-se observar que um isolado do gênero *Trichoderma* apresentou índice de AC superior a um. Dos 32 isolados descritos no Quadro 2, 21 desenvolveram no meio contendo celulose como única fonte de carbono. Entretanto para os isolados do gênero *Aspergillus* (Quadro 1) os resultados indicaram crescimento nesse meio para todas as amostras avaliadas.

Quadro 2 - Atividade celulolítica de isolados de fungos micelianos dos gêneros *Acremonium*, *Trichoderma*, *Onychocola*, *Paecilomyces* e *Malbranchea* provenientes do trato digestório de matrizes ovinas (M) e borregos (B) Santa Inês x Dorper, alimentados com forragens tropicais, após o cultivo em meio contendo celulose microcristalina (1%) com 24, 48 e 72 h de incubação

Isolados	Tempo de Crescimento (horas)					
	24		48		72	
	(mm)	AC*	(mm)	AC*	(mm)	AC*
<i>Acremonium</i> B 1	0,5	0	1,1	0	1,5	0
<i>Trichoderma</i> B 2	0,3	0	0,9	0	4,1	1,39**
<i>Onychocola</i> M 1	0,7	0	1,2	0	1,8	0
<i>Paecilomyces</i> B 3	0,4	0	0,6	0	1,6	0
<i>Paecilomyces</i> B 4	0,5	0	0,9	0	1,99	0
<i>Paecilomyces</i> B 5	0,6	0	1,6	0	2,0	0
<i>Paecilomyces</i> M 2	0,4	0	0,6	0	1,6	0
<i>Paecilomyces</i> M 3	0,5	0	0,9	0	1,9	0
<i>Paecilomyces</i> M 4	0,6	0	1,6	0	2	0
<i>Paecilomyces</i> M 5	0,4	0	1,2	0	1,4	0
<i>Paecilomyces</i> M 6	0,2	0	0,9	0	1,3	0
<i>Paecilomyces</i> M 7	0	0	1,1	0	2,2	0
<i>Paecilomyces</i> M 8	0,2	0	1,2	0	2,2	0
<i>Paecilomyces</i> M 9	0	0	0	0	0	0
<i>Paecilomyces</i> M 10	0,6	0	1,3	0	1,9	0
<i>Paecilomyces</i> M 11	1	0	1,7	0	2,1	0
<i>Paecilomyces</i> M 12	0,3	0	0,7	0	1,1	0
<i>Paecilomyces</i> M 13	1,1	0	1,4	0	2,1	0
<i>Paecilomyces</i> M 14	0	0	0	0	0	0
<i>Paecilomyces</i> M 15	1,1	0	1,6	0	2,4	0
<i>Paecilomyces</i> M 16	0,6	0	0,9	0	1,1	0
<i>Malbranchea</i> M17	0,8	0	1,4	0	1,9	0
<i>Malbranchea</i> M18	0	0	0	0	0	0
<i>Malbranchea</i> M 19	0,3	0	0,7	0	1,1	0
<i>Malbranchea</i> M 20	0	0	0	0	0	0
<i>Malbranchea</i> M 21	0	0	0	0	0	0
<i>Malbranchea</i> M 22	0	0	0	0	0	0
<i>Malbranchea</i> M 23	0	0	0	0	0	0
<i>Malbranchea</i> M 24	0	0	0	0	0	0
<i>Malbranchea</i> M 25	0	0	0	0	0	0
<i>Malbranchea</i> M 26	0	0	0	0	0	0
<i>Malbranchea</i> M 27	0	0	0	0	0	0

Nota: **Indica índice de atividade celulolítica maior que um

Fonte: dados da pesquisa.

Ao se avaliar isolados para selecionar como bons produtores de enzima celulolítica, não se deve utilizar apenas

o índice de AC, mas também deve utilizar o crescimento do isolado no meio de cultura. Ruegger e Tauk-Tornisielo (2004), ao avaliarem a atividade celulolítica de *Penicillium herquei* observou diâmetro de colônia de 2 mm e AC igual a 6, enquanto *Trichoderma harzianum* apresentou diâmetro de colônia de 67 mm e AC de 1,1. O resultado indica que mesmos isolados com AC menor poderia ter bom crescimento no meio com celulose e poderia ser pesquisado quanto ao potencial biotecnológico.

O potencial dos gêneros dos fungos avaliados nesta presente pesquisa tem sido avaliado quanto à degradação de resíduos vegetais. Em pesquisa realizada por Basso et al. (2010), foram avaliados os fungos *Paecilomyces variotti*, *Aspergillus fumigatus*, *Acremonium cellulolyticus*, *Penicillium verruculosum* e *Trichoderma* spp. provenientes de bagaço de cana-de-açúcar e de madeira em decomposição, e com as cepas *Trichoderma reesei* QM9414 e *T. reesei* RUT C30. Observou-se que os fungos isolados dos resíduos vegetais são bons produtores de celulasas com unidade internacional (UI) mL⁻¹ de extrato enzimático maior que 0,04.

Entretanto, foram menos eficientes que o *T. reesei* QM9414 que apresentou extrato enzimático de 0,15 UI mL⁻¹ nos três primeiros dias de incubação. Ao compararem a celulase total das cepas de *T. reesei* QM9414 e *T. reesei* RUT C30 com 72 h de incubação, observou-se que o isolado QM9414, também foi superior apresentando extrato enzimático de 0,09 UI mL⁻¹, enquanto *T. reesei* RUT C30 apresentou 0,02 UI mL⁻¹ de extrato enzimático (BASSO et al., 2010). Esses resultados corroboram com os dados encontrados nesta presente pesquisa, pois o fungo do gênero *Trichoderma* apresentou alto índice de AC com 72 h de incubação com halo de 5,7 mm.

Em contrapartida, amostras de *Paecilomyces lilacinus* isoladas do sistema digestório de tainhas (*Aldrichetta forsteri*) não demonstraram capacidade de desenvolver-se em celulose, e de uma variedade de outros polissacarídeos testados, apresentando crescimento apenas com meios suplementados com xilose (MOUNTFORT; RHODES, 1991).

4 Conclusão

Entre os 78 isolados avaliados, duas amostras de *Aspergillus* spp. e uma do gênero *Trichoderma* provenientes de borregos apresentaram elevado índice de atividade celulolítica. Futuros estudos devem avaliar o potencial desses fungos ou de suas enzimas como aditivos alimentares para ruminantes.

Referências

- ABDELRAHMAN, M. *et al.* Growth performance and economic efficiency of fattening Naimi lambs on unconventional ration enhanced with enzyme cocktail. *Pakistan J. Agricul. Scie.* v.53, n.2, 2016. doi: 10.21162/PAKJAS/16.4536
- ABRÃO F.O. *et al.* Characterization of fungi from ruminal fluid of beef cattle with different ages and raised in tropical lignified pastures. *Curr. Microbiol.*, v.69, n.5, p.649-659, 2014. doi: 10.1007/s00284-014-0633-5
- ALMEIDA, P.N.M.D. *et al.* Aerobic fungi in the rumen fluid from

- dairy cattle fed different sources of forage. *Rev. Bras. Zootec.*, v.41, p.2336-2342, 2012. doi: 10.1590/S1516-35982012001100006
- BASSO, T.P. *et al.* Atividade celulolítica de fungos isolados de bagaço de cana-de-açúcar e madeira em decomposição. *Pesq. Agropec. Bras.*, v.45, p.1282-1289, 2010. doi: 10.1590/S0100-204X2010001100008
- DAVIES, D.R. *et al.* Distribution of anaerobic fungi in the digestive tract of cattle and their survival in faeces. *Microbiol.*, v.139, n.6, p.1395-1400, 1993. doi: 10.1099/00221287-139-6-1395
- DI FRANCIA, A. *et al.* Effects of *Aspergillus oryzae* extract and a *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on intake, body weight gain and digestibility in buffalo calves. *Anim Feed Sci. Technol.*, v.140, n.1/2, p.67-77, 2008. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2007.02.010
- DÍAZ, A. *et al.* Treatment of tropical forages with exogenous fibrolytic enzymes: effects on chemical composition and in vitro rumen fermentation. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, v.99, p.345-355, 2014. doi: 10.1111/jpn.12175
- FACCHINI, F.D.A. *et al.* Production of fibrolytic enzymes by *Aspergillus japonicus* C03 using agro-industrial residues with potential application as additives in animal feed. *Bioproc Biosystems Eng.*, v.34, n.3, p.347-355, 2011. doi: 10.1007/s00449-010-0477-8
- FACCHINI, F.D.A. *et al.* Optimization of fibrolytic enzyme production by *Aspergillus japonicus* C03 with potential application in ruminant feed and their effects on tropical forages hydrolysis. *Bioproc. Bios. Eng.*, v.34, n.8, p.1027-1038, 2011. doi: 10.1007/s00449-011-0553-8
- FLIPPPI, M. *et al.* Biodiversity and evolution of primary carbon metabolism in *Aspergillus nidulans* and other *Aspergillus* spp. *Fungal Genetics Biol.*, v.46, n.1, p.S19-S44, 2009. doi: 10.1016/j.fgb.2008.07.018
- FREITAS, C.E.S. *et al.* Fungos aeróbios no intestino grosso de borregos e de ovelhas criados em pastagens tropicais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.64, p.225-227, 2012. doi: 10.1590/S0102-09352012000100033
- LOPES, V.R.O. *et al.* Análise enzimática de fungos isolados de solo de manguezal. *Encontro de Pesquisa e Pós graduação*, v. 9.
- MOUNTFORT, D.O.; RHODES, L.L. Anaerobic growth and fermentation characteristics of *Paecilomyces lilacinus* isolated from mullet gut. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.57, n.7, p.1963-1968, 1991. doi: 10.1128/aem.57.7.1963-1968.1991
- RUEGGER, M.J.S.; TAUKE-TORNISIELO, S.M. Atividade da celulase de fungos isolados do solo da Estação Ecológica de Juréia-Itatins, São Paulo, Brasil. *Braz. J. Bot.*, v.27, p.205-211, 2004. doi: 10.1590/S0100-84042004000200001
- SCHMIDT, J.A. *et al.* Characterization of *Aspergillus oryzae* fermentation extract effects on the rumen fungus *Neocallimastix frontalis*, EB 188. Part 2. Carbon source utilization and effects on zoospore production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, v.63, n.4, p.431-437, 2004. doi: 10.1007/s00253-003-1294-7
- SINGARAVADIVELAN, A. *et al.* An economic analysis of migratory sheep production system in tamil nadu, india. *J. Anim. Health Prod.*, v.7, n.2, p.58-64, 2019. doi:10.17582/journal.jahp/2019/7.2.58.64
- SISTEMA PARA ANÁLISES ESTATÍSTICAS – SAEG. Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes. Viçosa: UFV, 2007.
- TEATHER, R.M.; WOOD, P.J. Use of Congo red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 43, n. 4, p. 777-780, 1982. doi: 10.1128/aem.43.4.777-780.1982
- TRICARICO, J. M.; *et al.* Dietary supplementation of ruminant diets with an *Aspergillus oryzae* α -amylase. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.145, n.1/4, p.136-150, 2008. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2007.04.017
- WANG, H. *et al.* Genome-wide association analysis of forage quality in maize mature stalk. *BMC Plant Biol.*, v.16, n.1, p.1-12, 2016. doi: 10.1186/s12870-016-0919-9
- WEI, Y.-Q. *et al.* Isolation, identification and fibrolytic characteristics of rumen fungi grown with indigenous methanogen from yaks (*Bos grunniens*) grazing on the Qinghai-Tibetan Plateau. *J. Appl. Microbiol.*, v.120, n.3, p.571-587, 2016. doi: 10.1111/jam.13035
- WOOD, T.M.; WILSON, C.A. Studies on the capacity of the cellulase of the anaerobic rumen fungus *Piromonas communis* P to degrade hydrogen bond-ordered cellulose. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, v.43, n.3, p.572-578, 1995. doi: 10.1007/BF00218468.