



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS

**FUNGOS E PROTOZOÁRIOS DO TRATO
DIGESTÓRIO DE CORDEIROS
ALIMENTADOS COM FENO DA FOLHA
DE BANANEIRA**

CLÁUDIO EDUARDO SILVA FREITAS

2014

CLÁUDIO EDUARDO SILVA FREITAS

**FUNGOS E PROTOZÓARIOS DO TRATO DIGESTÓRIO DE
CORDEIROS ALIMENTADOS COM FENO DA FOLHA DE
BANANEIRA**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Montes Claros como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração Produção Animal, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador:

Prof. Dr. Dorismar David Alves

**UNIMONTES
MINAS GERAIS - BRASIL
2014**

Freitas, Cláudio Eduardo Silva.

F862f

Fungos e protozoários do trato digestório de cordeiros alimentados com feno da folha de bananeira [manuscrito] / Cláudio Eduardo Silva Freitas. – 2014.

76 p.

Dissertação (mestrado)-Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Montes Claros-Janaúba, 2014.

Orientador: Prof^o. DSc. Dorismar David Alves.

1. Alimentação animal. 2. Fungos e Protozoários. 3. Nutrição de ruminantes. I. Alves, Dorismar David. II. Universidade Estadual de Montes Claros. III. Título.

CDD. 636.20852

Catálogo: Biblioteca Setorial Campus de Janaúba

CLÁUDIO EDUARDO SILVA FREITAS

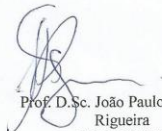
**FUNGOS E PROTOZOÁRIOS DO TRATO DIGESTÓRIO DE
CORDEIROS ALIMENTADOS COM FENO DA FOLHA DE
BANANEIRA**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Montes Claros, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal, para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

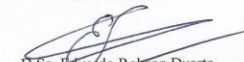
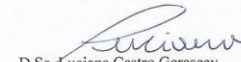
APROVADA em 07 de MARÇO de 2014.



Prof. D.Sc. Dorismar David Alves
UNIMONTES
(Orientador)



Prof. D.Sc. João Paulo Sampaio
Rigueira
UNIMONTES


D.Sc. Eduardo Robson Duarte
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS
D.Sc. Luciana Castro Geraseev
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS

JANAÚBA
MINAS GERAIS – BRASIL
2014

Dedico

A toda a minha família, em especial a minha mãe (Laura), meu pai (Beijamim), aos meus irmãos (Alencar, Cláudia, Alexandre e Carlos), a minha amada esposa (Angélica), aos meus sobrinhos (Sofia, Caio e Alice) e a minha Avó (Almerinda) in memoriam.

Muito obrigado por me apoiarem nos momentos mais importantes da minha vida.

Que Deus os Abençoe sempre.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por essa vitória e por estar presente em cada momento da minha vida.

À Universidade Estadual de Montes Claros, pela realização dos estudos e pesquisa.

À Capes, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais por ceder os laboratórios para a realização dos experimentos.

A todos os professores, pelos ensinamentos proporcionados.

Ao professor David, pela orientação, compreensão, confiança e amizade.

Ao professor Eduardo Robson, pela coorientação, incentivo e amizade.

Ao professor Vicente, pela coorientação e ensinamentos.

À professora Luciana Gerassev, pela colaboração.

Ao professor Virgílio Mesquita, todo o carinho e amizade.

A Franklin, pela amizade e ajuda na condução do experimento.

A Fernando Etiene e Daniel Herbert, pela amizade e pela graça de Deus por ter conhecido essas pessoas maravilhosas.

Às amigas do laboratório que ajudaram, Jaqueline, Manu, Paty, Brenda e Fran.

Aos meus amigos Adélio, Carina, Lucas, João, Péricles e Flávia, pela amizade e companheirismo.

A Minha esposa, Angélica, pela ajuda desde o início das análises laboratoriais, sua ajuda foi importantíssima.

Obrigado, Senhor, por ter colocado no meu caminho pessoas tão maravilhosas!

Muito Obrigado!

“TUDO POSSO NAQUELE QUE ME FORTALECE” (Filipenses 4:13)

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	i
RESUMO GERAL	ii
GENERAL ABSTRACT	iii
CAPÍTULO I	1
1 INTRODUÇÃO GERAL	2
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 A ovinocultura no Brasil	4
2.2 Desempenho de cordeiros na fase de terminação em sistemas de confinamento	5
2.2.1 A bananicultura brasileira	6
2.2.2 Utilização da bananeira como suplemento volumoso	7
2.3 Microbiota Gastrointestinal	8
2.3.1 Protozoários	8
2.3.2 Fungos Celulolíticos	9
2.3.3 Utilização de microrganismos na alimentação animal	12
2.4 Utilização de taninos na nutrição de ruminantes	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16
CAPÍTULO II	22
RESUMO	23
ABSTRACT	24
1 INTRODUÇÃO	25
2 MATERIAL E MÉTODOS	27
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
4 CONCLUSÃO	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
CAPÍTULO III	42
RESUMO	43
ABSTRACT	44
1 INTRODUÇÃO	45

2 MATERIAL E MÉTODOS	47
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
4 CONCLUSÃO	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72

LISTA DE TABELAS

		Pag.
CAPÍTULO I		
TABELA 1	Efetivo do rebanho ovino nacional e por região no ano de 2012	4
TABELA 2	Composição química da folha da bananeira (<i>Musa</i> sp)	7
CAPÍTULO II		
TABELA 1	Composição percentual dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais ¹	28
TABELA 2	Teores médios de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), nutrientes digestíveis totais (NDT), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) em função dos tratamentos	28
TABELA 3	Teor total de proantocianidinas em extratos hidroalcoólicos do feno da folha da bananeira e do feno de <i>Cynodon</i> spp.	29
TABELA 4	Análises macroscópicas e físicas do líquido ruminal de ovinos alimentados com diferentes proporções dos fenos de <i>Cynodon</i> sp. e da folha da bananeira (<i>Musa</i> sp.)	32
TABELA 5	Densidade de protozoários do rúmen de ovinos (10 ⁴ ciliados/mL de fluido ruminal) alimentados com diferentes proporções do feno de <i>Cynodon</i> sp. e feno da folha da bananeira	34
CAPÍTULO III		
TABELA 1	Composição percentual dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais ¹	48

TABELA 2	Teores médios de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), nutrientes digestíveis totais (NDT), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) em função dos tratamentos	48
TABELA 3	Teor total de proantocianidinas em extratos hidroalcoólicos do feno da folha da bananeira e do feno de <i>Cynodon</i> spp.	49
TABELA 4	Deteção de fungos anaeróbios estritos no conteúdo ruminal de ovinos alimentados com folha de bananeira	53
TABELA 5	Quantificação de fungos micelianos e leveduriformes em amostras de líquido ruminal, provenientes de ovinos alimentados com feno da folha de bananeira	55
TABELA 6	Distribuição de gêneros de fungos micelianos provenientes do trato gastrointestinal de ovinos alimentados com feno da folha de bananeira	56
TABELA 7	Quantificação de fungos micelianos em amostras de líquido ruminal, provenientes de ovinos alimentados com feno da folha de bananeira	59
TABELA 8	Distribuição de gêneros de fungos micelianos provenientes do trato gastrointestinal de ovinos alimentados com feno da folha de bananeira	60
TABELA 9	Atividade celulolítica de isolados de <i>Aspergillus</i> spp. provenientes do rúmen de ovinos alimentados com feno da folha de bananeira após o cultivo em meio	

	contendo celulose microcristalina (1 %), com 24, 48 e 72 h de incubação	62
TABELA 10	Atividade celulolítica de isolados de <i>Aspergillus</i> spp. provenientes das fezes de ovinos alimentados com feno da folha de bananeira após o cultivo em meio contendo celulose microcristalina (1 %) com 24, 48 e 72 h de incubação	66
TABELA 11	Atividade celulolítica de isolados de <i>Paecilomyces</i> spp. provenientes do trato gastrointestinal de ovinos alimentados com feno da folha de bananeira após o cultivo em meio contendo celulose microcristalina (1 %) com 24, 48 e 72 h de incubação	69

RESUMO GERAL

FREITAS, Cláudio Eduardo Silva Freitas. **Fungos e protozoários do trato digestório de cordeiros alimentados com feno da folha de bananeira.** 2014. Cap. I, 76 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Montes Claros, MG.¹

A ovinocultura é uma importante fonte de renda para a população rural do norte de Minas Gerais, porém o longo período de estiagem é um fator limitante para a pecuária, neste contexto surge o interesse de pesquisas que utilizam subprodutos agroindustriais na alimentação de ruminantes. Foram utilizados 30 animais, com peso vivo médio inicial de 24,50 kg e com idade média de cinco meses criados em sistema intensivo, com adaptação de 15 dias. Os ovinos foram distribuídos em delineamento inteiramente ao acaso, com seis repetições e cinco tratamentos, permanecendo confinados por três períodos de 21 dias. Os tratamentos testados foram: T1 100% (feno de *Cynodon* spp.); T2 12,5% (feno da folha da bananeira) + 37,5% (feno de *Cynodon* spp.); T3 25% (feno da folha da bananeira) + 25% (feno de *Cynodon* spp.); T4 37,5% (feno da folha da bananeira) + 12,5% (feno de *Cynodon* spp.); T5 100% (feno da folha da banana). As dietas apresentavam uma relação Volumoso:Concentrado de 50:50, isoprotéicas. Avaliaram-se as características do fluido ruminal de ovinos alimentados com feno da folha da bananeira. Imediatamente após a coleta do fluido ruminal foram avaliadas características físico-químicas. Realizaram-se exame micromorfológico do suco do rúmen, exame direto de fungos anaeróbios estritos e cultivo, quantificação, isolamento e identificação de fungos aeróbios do rúmen, quantificação, identificação de protozoários ruminais e atividade celulolítica de fungos aeróbios do rúmen. Verificou-se que as concentrações de fungos micelianos no suco ruminal de ovinos alimentados com feno da folha da bananeira (*Musa* sp.) e feno de *Cynodon* sp. é significativamente menor, quando comparadas com a concentração de leveduras. Fungos do gênero *Aspergillus* são predominantes entre os isolados provenientes do rúmen e das fezes de ovinos alimentados com feno da folha da bananeira (*Musa* sp.) e feno de *Cynodon* sp. Entre os isolados desses microrganismos, 69,44% apresentam atividade celulolítica superior a um, o que indica boa capacidade para degradação da celulose e elevado potencial para o desenvolvimento de probióticos ou prebióticos na alimentação de ruminantes. A população total de protozoários e o gênero *Entodinium* são reduzidos no ambiente ruminal desses animais. Sugere-se o efeito inibitório dos taninos condensados ou outros compostos dessa planta sobre a microbiota ruminal.

Comitê Orientador: Prof. Dr. Dorismar David Alves - Unimontes; Prof. Dr. Eduardo Robson Duarte - Universidade Federal de Minas Gerais; Prof. Dr. Luciana Castro Gerassev - Universidade Federal de Minas Gerais; Prof. Dr. João Paulo Sampaio Rigueira - Unimontes.

GENERAL ABSTRACT

FREITAS, Cláudio Eduardo Silva. **Fungi and protozoa in the digestive tract of lambs fed banana leaf hay**. 2014. Chapter I. 76 p. Dissertation (Master's degree in Animal Science) – Universidade Estadual de Montes Claros, MG.¹

The sheep husbandry is an important source of income for the rural population in the north of Minas Gerais, but the long period of drought is a limiting factor for livestock, in this context the interest of research using agro-industrial byproducts in ruminant feeding arises. We used 30 animals which were about five months old, with an average weight of 24.50 kg and created in intensive system, with adaptation of 15 days. The animals were distributed in a completely randomized design with six replications and five treatments, remaining on feedlot for three periods of 21 days. The treatments were: T1 (100% *Cynodon* spp. hay); T2 12.5% (banana leaf hay) + 37.5% (*Cynodon* spp. hay); T3 (25% banana leaf hay) + 25% (*Cynodon* spp. hay); T4 37.5% (banana leaf hay) + 12.5% (*Cynodon* spp. hay); T5 (100% banana leaf hay). Diets showed a roughage: concentrate ratio of 50:50, isoproteic. We evaluated the characteristics of the rumen fluid of sheep fed banana leaf hay. Physicochemical characteristics were immediately evaluated after collection of ruminal fluid. We performed micromorphological examination of the rumen fluid, direct examination of strict anaerobes fungi and cultivation, quantification, isolation and identification of aerobic fungi from the rumen, quantification, identification of rumen protozoa and cellulolytic activity of the rumen aerobic fungi. It was found that the concentrations of mycelial fungi in the rumen fluid of the sheep fed banana leaf hay (*Musa* sp.) and *Cynodon* sp. hay is significantly lower when compared to the concentration of yeast. Fungi from the *Aspergillus* genus are prevalent among isolates from the rumen and feces of sheep fed banana leaf hay (*Musa* sp.) and *Cynodon* sp. hay. Among isolates of these microorganisms, 69.44% have cellulolytic activity higher than one, which indicates good capacity for cellulose degradation and high potential for the development of probiotics or prebiotics in ruminant food. The total protozoa population and *Entodinium* genus are reduced in the rumen of these animals. It is suggested the inhibitory effect of condensed tannins or other compounds of that plant on ruminal microbiota.

Guidance committee: Prof. Dr. Dorismar David Alves - Unimontes; Prof. Dr. Eduardo Robson Duarte - Universidade Federal de Minas Gerais; Prof. Dr. Luciana Castro Gerassev - Universidade Federal de Minas Gerais; Prof. Dr. João Paulo Sampaio Rigueira - Unimontes.

CAPÍTULO I

FUNGOS E PROTOZÓARIOS DO TRATO DIGESTÓRIO DE CORDEIROS ALIMENTADOS COM FENO DA FOLHA DE BANANEIRA

1 INTRODUÇÃO GERAL

A ovinocultura é uma atividade expressiva na economia de muitos países e está presente em áreas com distintas características edafoclimáticas (VIDAL *et al.*, 2006). O Brasil possui grande extensão territorial e clima favorável ao desenvolvimento da espécie ovina, com potencial para se tornar um dos maiores produtores desses animais (SIQUEIRA, 1999). Contudo, a alimentação deficiente durante o período seco do ano limita o aproveitamento econômico e eficiente dessa espécie.

Os resíduos agroindustriais representam grande potencial para alimentação animal, principalmente de ruminantes. A bananeira (*Musa spp.*) é um alimento que gera quantidades significativas de resíduos agroindustriais podendo ser utilizada na alimentação de ruminantes, pois possui teores de proteína bruta que podem chegar a 17 %, sendo uma alternativa interessante para redução dos custos no confinamento, tendo como limitante apenas seu alto teor de fibra e de compostos fenólicos (NUNES *et al.*, 2007; RIBEIRO *et al.*, 2007). Além disso, diversas variedades de bananeiras possuem taninos (OLIVO *et al.*, 2007) que podem melhorar a nutrição de ruminantes, reduzindo a degradação ruminal da proteína vegetal e aumentando o fluxo de proteína bruta para o intestino.

A habilidade dos microrganismos para degradar polissacarídeos estruturais, como a celulose, é uma característica de grande interesse, tanto na microbiologia industrial quanto na ecologia microbiana do rúmen e do ambiente geral. Em diferentes países, 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, 2009).

Os fungos do rúmen podem assumir importância fundamental na degradação das forragens tropicais, visto que produzem enzimas com

atividade para degradar celulose e hemicelulose lignificadas (CERDÀ, 2003).

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 (DAVIES *et al.*, 1993).

A evolução do trato gastrointestinal nos ruminantes proporcionou desenvolvimento de relação simbiótica e mutualística com protozoários ciliados que, junto às bactérias e os fungos, compõem a microbiota ruminal (KOZLOSKI, 2002; MACKIE, 2002).

Os protozoários ciliados possuem considerável atividade celulolítica e fermentativa. São os maiores microrganismos presentes no rúmen, constituindo uma importante fração da comunidade no ecossistema ruminal. Foram os primeiros a serem descritos nesse nicho e podem representar 60 % da proteína microbiana (RYLE; ØRSKOV, 1987).

Estudos da composição microbiana no trato digestório são importantes para avaliar as diferenças de colonização entre ruminantes de diferentes categorias de animais 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.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A Ovinocultura no Brasil

O Brasil possui boas condições climáticas, edáficas e botânicas para a produção de pequenos ruminantes. A ovinocultura é uma atividade econômica que se encontra em crescimento na maioria dos estados brasileiros e esse fato se relaciona ao aumento do consumo da carne ovina. Além disso, a criação de ovinos surge como alternativa de viabilização social e econômica para pequenas e médias propriedades rurais (CUNHA *et al.*, 2007).

A ovinocultura possibilita o aproveitamento de áreas inadequadas para a criação de outras espécies animais ou para o cultivo de lavouras, seja pelo tamanho ou pela topografia acidentada, e permite ainda a integração com outras atividades agropecuárias (NICIURA *et al.*, 2009).

A ovinocultura cresceu significativamente na última década em várias regiões brasileiras, merecendo destaque o Nordeste, que reúne o maior efetivo do rebanho de ovinos deslanados, e em seguida a região Sul com destaque para ovinos lanados (Tab. 1) (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 2012).

TABELA 1. Efetivo do rebanho ovino nacional e por região no ano de 2012

Brasil e Região	Número de animais
	2012
Brasil	16.789.492
Norte	598.643
Nordeste	9.325.885
Sudeste	744.426
Sul	5.042.222
Centro-Oeste	1.078.316

Fonte: IBGE, 2012.

Para o Nordeste, a ovinocultura é de fundamental importância socioeconômica, pois representa uma alternativa na oferta de carne, leite, lã e pele, tornando-se fonte de alimento para o pequeno produtor (PORTO FILHO, 2008).

A atividade é promissora no agronegócio brasileiro, em virtude do Brasil possuir baixa oferta da carne ovina para o consumo interno e dispor dos requisitos necessários para ser exportador (MADRUGA *et al.*, 2004).

A ovinocultura brasileira encontra-se em expansão, porém ainda há muito a evoluir. O aumento do consumo de carne é o principal desafio a ser superado para acelerar o crescimento dessa exploração (VIANA, 2008).

2.2 Desempenhos de Cordeiros na Fase de Terminação em Sistemas de Confinamento

O sistema de terminação de cordeiros em confinamento pressupõe investimentos tanto em alimentação quanto em instalações e, por isso, esse sistema não é uma prática usual entre os ovinocultores brasileiros. Como a perspectiva de mercado vem crescendo no país, faz-se necessária a intensificação desse processo de terminação de cordeiros, para melhorar a produção e a qualidade do produto final, e garantir ao produtor retorno mais rápido do capital investido (XENOFONTE *et al.*, 2008).

A terminação de ovinos exclusivamente a pasto, prática comum no nordeste, tem-se mostrado ineficaz em grande parte do sistema de produção, pois, nesse sistema, o animal não tem regularidade de alimentação e, no período de seca, não consegue atender a exigência de manutenção, tornando longo o período para esses animais alcançarem o peso de abate (BARROSO *et al.*, 2006).

De acordo com os resultados de Siqueira *et al.* (1993), ao compararem a recria de cordeiro a pasto ou em confinamento, o ganho de pesos diário e final foi superior nos animais confinados, evidenciando a eficiência do sistema de confinamento.

A terminação de ovinos em confinamento é alternativa para aumentar a produção de carne, devido à maior rapidez para alcançar o ponto de abate e pela maior facilidade de controlar verminoses. Segundo Oliveira *et al.* (2003), uma das alternativas para viabilizar esse sistema de produção é a utilização de rações formuladas com adição de alimentos alternativos, disponíveis na região. O uso de resíduos agroindustriais na alimentação em sistema de confinamento é de fundamental importância, para se reduzir custos (GARCIA *et al.*, 2000).

2.2.1 A Bananicultura brasileira

Em 2012, a produção mundial de bananas foi de aproximadamente 6.902.184 milhões de toneladas, sendo o Brasil o quinto maior produtor, responsável por cerca de sete milhões de toneladas (IBGE, 2012). Nesse mesmo ano, os maiores produtores foram Índia, China, Filipinas e Equador, respectivamente (FAO, 2013).

De acordo com dados do IBGE (2012), a produção de bananas no Brasil teve destaque para as regiões Nordeste e Sudeste, sendo os estados da Bahia e São Paulo os maiores produtores, produzindo respectivamente 1.215.435 e 1.083.346 toneladas de banana.

A bananeira é uma planta tipicamente tropical, exigindo calor constante e elevada umidade para o bom desenvolvimento (ALVES, 1999). Essas condições favoráveis são encontradas em Minas Gerais, colocando o estado entre os cinco maiores produtores do país. É uma planta de ciclo curto que permite a colheita de cachos de 12 a 14 meses após o plantio das mudas e mantém a produção constante ao longo do ano (MANICA, 1997).

No estado de Minas Gerais, a região Norte é a principal produtora, com 687.293 toneladas em 2012, com destaque para o município de Jaíba, responsável por 82.000 toneladas dessa produção (IBGE, 2012).

2.2.2 Utilização da bananeira como suplemento volumoso

A composição nutricional da bananeira varia em função da cultivar. Em estudo realizado por Bezerra *et al.* (2002), as análises bromatológicas das folhas da bananeira revelaram teores médios de 12 % de proteína bruta. Esses teores se aproximam das exigências desse nutriente para cordeiros em terminação (NRC, 2007). Oliveira (2012) avaliou a composição químico-bromatológica do feno da folha de bananeira e encontrou 13,86 % de PB conforme Tab. 2.

TABELA 2. Composição químico-bromatológica média do feno de folhas de bananeiras

	Folha de banana
Matéria Seca (%)	92,72
Proteína Bruta (%)	13,86
Matéria Mineral (%)	9,78
Extrato Etéreo (%)	5,26
Fibra em Detergente Neutro (%)	61,14
Fibra em Detergente Ácido (%)	38,71
Proteína Insolúvel em Detergente Neutro (%)	54,31
Proteína Insolúvel em Detergente Ácido (%)	21,22
Carboidratos Totais (%)	71,10
Carboidratos Não Fibrosos (%)	23,47

Adaptado de Oliveira (2012)

De acordo com os resultados obtidos por Ruiz e Rowe (1980), a folha da bananeira pode ser incluída na alimentação de ruminantes sem comprometer a produção, desde que seja fornecida quantidade de proteína

suplementar, provavelmente devido a quantidade significativa de nitrogênio indisponível que a folha possui.

Archimède *et al.* (2002), ao avaliarem sistema de produção animal com bovinos, caprinos, ovinos e suínos consorciado com a bananicultura em uma propriedade rural, constataram aumento de consumo das diferentes partes das bananeiras, principalmente por ovinos e caprinos. Ruiz e Rowe (1980) observaram maior consumo de matéria seca quando foram fornecidas somente as folhas da bananeira para bovinos.

2.3 Microbiota Gastrointestinal

O ambiente ruminal é composto por bactérias, protozoários ciliados, fungos, micoplasmas e bacteriófagos, de forma que essa microbiota estabelece entre si interações positivas ou negativas (KAMRA, 2005; LOPES *et al.*, 2002).

A degradação da celulose e hemicelulose é realizada por microrganismos que podem ser encontrados naturalmente no meio ambiente ou como parte do trato digestório dos animais superiores (SHALLOM; SHOHAM, 2003).

Muitos microrganismos habitantes do rúmen possuem relação de simbiose com o hospedeiro. A microbiota ruminal atua sinergicamente para a bioconversão de substâncias menos aproveitadas como celulose, hemicelulose e ureia em compostos como os ácidos graxos voláteis, aminoácidos, vitaminas e outras substâncias que estimulam o crescimento e a produção de carne, leite e lã (KAMRA, 2005).

2.3.1 Protozoários

Os protozoários do rúmen foram os primeiros microrganismos a serem descritos nesse nicho, provavelmente pelo fato de serem facilmente visualizados quando observados no microscópio óptico. Podem representar

2% de peso do conteúdo ruminal, e 60 % da proteína microbiana. A princípio, acreditava-se que os protozoários fossem essenciais para o hospedeiro, porém os ruminantes conseguem sobreviver e crescer sem a população de protozoários do rúmen (RUIZ-LACAZ, 1992).

A maioria dos protozoários ruminais é ciliada e pertence às famílias Ophryoscolecidae e Isotrichidae. São classificados como holotríqueos, com uma cobertura de cílios ao seu redor, e entodinomorfos, com apenas algumas regiões ciliadas (LOPES *et al.*, 2002). Protozoários ruminais possuem considerável atividade celulolítica e fermentativa. Animais faunados apresentam maior ganho de peso e digestibilidade da matéria seca (MS) quando comparados com os defaunados (LOPES *et al.*, 2002; RUIZ-LACAZ, 1992).

O estabelecimento e a manutenção do equilíbrio dessas populações microbianas são dependentes da qualidade da dieta, da frequência de distribuição dos alimentos, assim como das interações microbianas que ocorrem dentro do rúmen (DEHORITY, 1998). Essa eficiência é influenciada pelo teor e a fonte de nitrogênio e de carboidratos na dieta, a taxa de diluição ruminal, frequência de alimentação, consumo de alimento, relação volumoso e concentrado, adição de ionóforos e os teores de P, S e Mg (RIBEIRO *et al.*, 2001). Devido à qualidade da dieta fornecida, alguns microrganismos são selecionados quanto ao tipo de substrato disponível. Assim, microrganismos que não conseguem adaptar a essas flutuações são eliminados do ambiente ruminal (KAMRA, 2005).

2.3.2 Fungos Celulolíticos

Por não serem estritos do rúmen, os fungos micelianos aeróbios podem ser encontrados em muitos outros ambientes e têm sido utilizados, em processos simples de fermentação de alimentos. Todavia, no último século, tem-se descoberto o potencial biotecnológico desses microrganismos para os mais diversos fins, como a produção de enzimas (PINTO *et al.*

2001), antibióticos, vitaminas, componentes farmacêuticos, fungicidas, reguladores do crescimento de plantas, hormônios e proteínas (KAVANAGH, 2005).

As propriedades enzimáticas, fisiológicas e metabólicas dos fungos do rúmen indicam que esses microrganismos desenvolvem importante papel na digestão e no ecossistema do trato digestório de ruminantes. Esses são encontrados em amostras provenientes de bovinos, ovinos, caprinos, cervídeos e equinos. Em ovinos, estão presentes no ambiente ruminal desde as primeiras semanas de vida até a morte dos animais (FONTY; GOUET, 1994). Almeida (2009), avaliando a população de microrganismos no intestino grosso de bovinos leiteiros alimentados com diferentes volumosos, observou grande diversidade da população de fungos aeróbios, sendo encontrados fungos do gênero *Acremonium*, *Aspergillus*, *Gliocladium*, *Paecilomyces*, *Rhizopus*, *Scedosporium*, *Scopulariopsis* e *Trichophyton*.

A degradação enzimática dos polissacarídeos atrai atenção de pesquisadores para aplicações biotecnológicas. Fungos filamentosos têm a capacidade de produzir complexo de enzimas como as celulases e as xilanases. As celulases microbianas são mundialmente estudadas por vários pesquisadores com o objetivo de aumentar a liberação de glicose dos substratos, maximizando a fermentação e produção de etanol (REMBRANDT *et al.*, 1997). Genes que codificam as enzimas celulolíticas e xilanolítica foram isolados de fungos do gênero *Aspergillus* e *Trichoderma* (MARUI, 2002). Novas linhagens de *Trichoderma reesei* têm sido desenvolvidas e podem constituir uma ferramenta útil para melhorar a atividade ou produção das celulases (ZHANG *et al.*, 2010).

O bioetanol de segunda geração de biomassas lignocelulósicas é produzido através da fermentação da glicose a etanol combustível. As celulases podem ser produzidas por algumas cepas de fungos ou bactérias, o fungo *Trichoderma reesei* é o mais utilizado industrialmente para a produção de celulases. Celulases de *Trichoderma* spp. têm sido pesquisadas e apresentam a capacidade de provocar hidrólise extensiva de todos os tipos de

celulose, inclusive da forma cristalina, podendo ser utilizadas na indústria de malte, madeira e têxtil, apresentando um grande potencial para a produção de álcool de segunda geração (HAHN-HÄGERDAL *et al.*, 1985 DIJKERMAN *et al.*, 1997).

Brewer e Taylor (1969) estudaram a população de fungos isolados aerobicamente do fluido ruminal de ovelhas criadas sob regime extensivo na Inglaterra. Esses pesquisadores constataram a presença de estruturas fúngicas típicas de *Aspergillus fumigatus* e *Sporomia* spp. no suco do rúmen desses animais.

Acremonium cellulolyticus é um fungo que produz celulase e tem sido explorado pela indústria de enzimas. Trabalhos mostram que a adição de lactose aumenta significativamente a produção de várias proteínas com atividade celulase por essa espécie. Sabe-se ainda que celulases de *Trichoderma* e *Aspergillus* spp. têm sido investigadas em detalhes há muitas décadas. No entanto, pouco se sabe sobre celulases do *Acremonium cellulolyticus* (FANG *et al.*, 2008).

Outro fungo descrito na literatura científica como destaque na degradação da celulose é o *Sporotrichum thermophile*, que pode degradar alguns tipos de material celulósico mais rápido do que *Trichoderma reesei* (GAIKWAD; MAHESHWARI, 1994).

Neurospora crassa e *Fusarium oxysporum* são consideradas raras espécies de fungos, que apresentam simultaneamente alta produção de celulase e de etanol celulósico. Ambas as espécies foram recentemente aprovadas para utilização em experimentos sobre a conversão direta de lignoceluloses em etanol (LIN *et al.*, 2010).

Pleurotus ostreatus e *P. sajor-caju* foram testados quanto a capacidade de produzir várias enzimas celulolíticas e ligninolíticas como a lacase, lignina peroxidase, xilanase, endo-1,4- β -D-glucanase e exo-1,4- β -D-glucanase em resíduos agrícolas de banana (biomassa de folhas e pseudocaules). Os padrões de produção dessas enzimas extracelulares foram estudados durante o crescimento dos microrganismos por um período de 40

dias. Ambos os microrganismos apresentaram níveis semelhantes de atividades enzimáticas. Níveis muito baixos de atividade das enzimas celulolíticas foram observados em relação às enzimas degradantes de lignina (REDDY *et al.*, 2003).

2.3.3 Utilização de microrganismos na alimentação animal

Sabe-se que diversos microrganismos têm sido estudados e avaliados na dieta de diferentes espécies animais como possíveis probióticos. Para que diferentes microrganismos possam ser utilizados como promotores de crescimento é necessário que esses se enquadrem numa escala de características desejáveis. Não devem ser tóxicos e nem patogênicos, e apresentar identificação taxonômica exata. Devem ainda possuir persistência no trato gastrointestinal, serem capazes de competir com a microbiota residente, e apresentarem antagonismo em relação a bactérias patogênicas (GAGGÍA *et al.*, 2010).

Gaggía *et al.* (2010) descrevem *Aspergillus oryzae*, *A. niger*, *Saccharomyces cerevisiae*, *S. pastorianus*, *Bifidobacterium thermophilum*, *Lactobacillus acidophilus* e *L. amylovorus* como as principais espécies listadas na literatura que apresentam perfil probiótico na nutrição animal.

Culturas microbianas vivas dos fungos exógenos *Aspergillus oryzae* e *Saccharomyces cerevisiae* e os seus respectivos extratos têm sido utilizados como suplementos alimentares na dieta dos animais, podendo melhorar a produtividade de ruminantes em cerca de 7 % a 8 % (MARTIN; NISBET, 1992; WALLACE, 1994).

Lee *et al.* (2004) avaliaram o efeito da suplementação de culturas do fungo anaeróbio do rúmen, *Piromyces communis*, do filtrado desse fluido e do filtrado autoclavado quanto à capacidade de influenciar a produção cumulativa de gás, a digestão da celulose e a população microbiana. A incorporação desses aditivos promoveu aumento acentuado na produção de gás ruminal representando 50, 29 e 32 %, respectivamente. A adição do

fungo também aumentou não só a concentração de bactérias totais e fungos anaeróbios celulolíticos, mas também as atividades enzimáticas de avicelase, carboximetil celulase (CMCase) e xilanase.

Abdelrahman e Hunaiti (2008) relatam que a suplementação com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* e com o aminoácido metionina em dietas para cordeiros em crescimento melhora a biodisponibilidade de cobre, zinco e cobalto, reduz a conversão alimentar, e promove aumento no ganho de peso total e ganho de peso médio diário. Outra pesquisa avaliando a suplementação dessa levedura para ovelhas alimentadas com cana-de-açúcar destaca aumento na concentração de AGV, e nenhum efeito sobre a proporção molar de AGV, população de protozoários e digestibilidade (ARCOS-GARCÍA *et al.*, 2000).

2.4 Utilização de taninos na nutrição de ruminantes

Taninos são definidos como um complexo heterogêneo de polifenóis de origem vegetal com o objetivo de proteger a planta contra o ataque de doenças, ingestão por herbívoros ou em resposta a limitações no crescimento das plantas (AGANGA e MONASE, 2001).

Os taninos são divididos em dois principais grupos, os hidrolisáveis e os condensados. Os taninos hidrolisáveis não são encontrados com muita frequência na natureza, estes são formados por ésteres com um núcleo central de carboidratos, principalmente a D-glicose. Taninos condensados são principalmente produtos polimerizados de flavan-3-ol (catequina) e flavan-3,4-diol (leucoantocianidina) ou uma mistura destes. A natureza química total de taninos condensados, no entanto, não foi elucidado (JANSMAM, 1993).

Na nutrição animal, os taninos são classificados como fator antinutricional, principalmente para animais não ruminantes, pois níveis acima de 1 % na dieta podem afetar o consumo, a digestibilidade da proteína e de aminoácidos essenciais, entretanto os ruminantes são mais tolerantes à

ação dos taninos, pois a microbiota ruminal é capaz de detoxificar parcialmente transformando-o em compostos mais simples e não tóxicos (McDONALD *et al.*, 1995; SELINGER *et al.*, 1996).

Em revisão realizada por Oliveira e Berchielli (2007), os principais efeitos negativos descritos quando ocorre ingestão elevada de taninos pelos ruminantes são a diminuição da digestibilidade e do consumo voluntário. Todavia, os autores ressaltam que não se pode atribuir os efeitos dos taninos apenas a fatores antinutricionais, sendo que esses compostos podem apresentar vantagens quando fornecidos adequadamente aos ruminantes.

Um dos principais benefícios da utilização de taninos condensados na alimentação de ruminantes está relacionado à proteção das proteínas da degradação ruminal, prevenção do timpanismo e aumento da tolerância às helmintoses (OLIVEIRA E BERCHIELLI, 2007).

Oliveira *et al.* (2009) avaliaram a eficácia anti-helmíntica dos extratos aquosos de folhas, pseudocaulos e corações de bananeiras da cultivar 'Prata-Anã', nas concentrações 25, 75 e 150 mg mL⁻¹ e concluíram que os extratos aquosos das três partes da bananeira apresentam propriedades anti-helmínticas efetivas sobre o desenvolvimento larval de *Haemonchus* spp.

A quantidade de proteína que flui a partir do rúmen é um fator importante para a produtividade dos ruminantes. A proteína que chega ao abomaso é constituída da mistura de proteína da dieta e de proteína microbiana. O aumento do fluxo de proteína a partir do rúmen depende da diminuição da proteólise por micro-organismos do rúmen e aumento da eficiência da síntese de proteína microbiana (PATRA e SAXENA, 2011).

Experimentos conduzidos a fim de se estudar os efeitos das concentrações de taninos condensados na dieta de ovinos recebendo 2,5 % de *Lotus corniculatus*, 6 a 10 % de *L. pedunculatus* e 12 % de *Acacia aneura*, indicaram aumento em lactação, crescimento de lã e ganho de peso, sem alterar o consumo voluntário quando os animais consumiram 4 a 6 % de taninos condensados na dieta e redução do consumo voluntário, eficiência

digestiva e produtividade animal, quando os animais consumiram 6 a 12 % de taninos condensados na dieta (AERTS *et al.*, 1999).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELRAHMAN, M. M.; HUNAITI, D. A. The effect of dietary yeast and protected methionine on performance and trace minerals status of growing Awassi lambs. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 115, p. 235-241, 2008.

AERTS, R. J. *et al.* Condensed tannins from and exert different effect on the rumen degradation of ribulose-1,5- bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) protein. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 79, p. 79-85, 1999.

AGANGA, A. A.; MONASE, K. W. Tannin content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capasa*, *Zizyphus mucronata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata*, and *Rhus lancea* seeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 91, p. 107-113, 2001.

ALMEIDA, P. N. M. **População microbiana ruminal e atividade celulolítica de fungos provenientes de bovinos leiteiros alimentados com diferentes forragens**. 2009. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias)-Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2009.

ALVES, E. J. **A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais**. 2. ed. Brasília: EMBRAPA, 1999. 585 p.

ARCHIMÈDE, H. *et al.* Integration of livestock production in the banana plantation: feasibility and researchable areas. In: INTERNATIONAL CONFERENCE OF BRITISH SOCIETY OF ANIMAL SCIENCE, 2002, Merida, México, 2002. **Anais...** Merida, México: INRA, 2002. p. 12-15.

ARCOS-GARCÍA, J. L. *et al.* Effect of two commercial yeast cultures with *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal fermentation and digestion in sheep fed sugar cane tops. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 63, p. 153-157, 2000.

BARROSO, D. D. *et al.* Desempenho de ovinos terminados em confinamento com resíduo desidratado de vitivinícolas associado a diferentes fontes energéticas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 5, p. 1553-1557, 2006.

BEZERRA, L. J. D. *et al.* **Estudo bromatológico da bananeira (*Musa sp*) e sua utilização na alimentação de bovinos**. 2002. Disponível em: <<http://www.agronline.com.br/agrociencia/artigo/37>>. Acesso em: 1 maio 2011.

BREWER, D.; TAYLOR, A. *Aspergillus Fumigatus* and *Sporormia Minima* Isolated from the Rumen of Sheep. **Journal of General Microbiology**, London, v. 59, p. 137-139, 1969.

CERDÀ, A. R. **Fermentación ruminal, degradación protéica y sincronización energía-proteína en terneras en cebo intenso**. 2003. 196 f. Tese (Doutorado em Produção Animal)-Universitat Autònoma de Barcelona, Espanha, 2003.

CUNHA, E. A. *et al.* **Produção de ovinos para corte**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 2007. 141 p. Série Tecnologia Apta. Boletim Técnico, n. 48.

DAVIES, D. R. *et al.* Distribution of Anaerobic Fungi in the Digestive Tract of Cattle and Their Survival in Faeces. **Journal of General Microbiology**, London, v. 139, p. 1395-1400, 1993.

DEHORITY, B. A. Microbial Interactions in the Rumen. **Revista de La Facultad de Agronomía Luz**, Maracaibo, v. 15, p. 69-86, 1998.

DIJKERMAN, R. *et al.* Degradation of Structural Polysaccharides by the Plant Cell-Wall Degrading Enzyme System from Anaerobic Fungi: an Application Study. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 21, p. 130-136, 1997.

FANG, X. *et al.* Lactose Enhances Cellulase Production by the Filamentous Fungus *Acremonium Cellulolyticus*. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, v. 106, p. 115-120, 2008.

FAOSTAT. **Produção mundial de banana**. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 09 jan. 2014.

FONTY, G.; GOUET, P. H. Plant cell wall degradation of anaerobic fungi. In: PRINS, R. A.; STEWART, C. S. (Eds.). **Micro-organisms in ruminant nutrition**. Nottingham: Nottingham University, 1994. p. 97-112.

GAGGIÀ, F.; MATTARELLI, P.; BIAVATI, B. Probiotics and Prebiotics in Animal Feeding for Safe Food Production. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 141, p. 15-28, 2010.

GAIKWAD, J. S.; MAHESHWARI, R. Localization and Release of 13-Glucosidase in the Thermophilic and Cellulolytic Fungus, *Sporotrichum thermophile*. **Experimental Mycology**, Orlando, v. 18, p. 300-310, 1994.

GARCIA, I. F. F. *et al.* Desempenho de cordeiros texel x bergamácia, texel x santa inês e santa inês puros, terminados em confinamento, alimentados com

casca de café como parte da dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 2, p. 564-572, 2000.

HAHN-HÄIGERDAL, B.; HAIGGSTROM, M. Production of ethanol from cellulose, Solka Floc BW 200, in a fedbatch mixed culture of *Trichoderma reesei*, C 30, and *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 22, p. 187-189, 1985.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa Pecuária Municipal (PAM)**. 2012. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=73&z=p&o=25&i=P>>. Acesso em: 09 jan. 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Agrícola Municipal (PAM)**. 2010. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=1613&z=p&o=26&i=P>>. Acesso em: 09 jan. 2014.

JANSMAN, A. J. M. Tannins in feedstuffs for simple stomached animals. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 6, p. 209-236, 1993.

LEE, S. S. *et al.* In Vitro Stimulation of Rumen Microbial Fermentation by a Rumen Anaerobic Fungal Culture. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 115, p. 215-226, 2004.

LIN, C. *et al.* Response Surface Optimization for Ethanol Production from *Pennisetum Alopecoider* by *Klebsiella Oxytoca* THLC0409. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 34, p. 1922-1929, 2010.

LOPES, F. C. F. *et al.* Efeitos da Defaunação em Ovinos Alimentados Com Cana-de-Açúcar (*Saccharum Officinarum*, L.) Adicionada de Uréia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 54, p. 180-182, 2002.

KAMRA, D. N. Rumen Microbial Ecosystem. **Current Science**, Bangalore, v. 89, p. 125- 35, 2005.

KAVANAGH, K. **Fungi: biology and applications**. Chichester: John Wiley And Sons Editors, 2005. 267 p.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. Santa Maria: UFSM, 2002. 140 p.

MACKIE, R. I. Mutualistic fermentative digestion in the gastrointestinal tract: diversity and evolution. **Integrative and Comparative Biology**, Mclean, v. 42, p. 319-326, 2002.

MADRUGA, M. S. Qualidade química, sensorial e aromática da carne caprina e ovina: mitos e verdades. In: ENCONTRO NACIONAL PARA O DESENVOLVIMENTO DA ESPÉCIE CAPRINA, 8., Botucatu. **Anais...** São Paulo: Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004. p. 215-234.

MANICA, I. **Fruticultura tropical 4: banana**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 1997. 485 p.

MARTIN, A. S.; NISBET, D. J. Effect of Direct-Feed Microbial on Rumen Microbial Fermentation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, p. 1736-1744, 1992.

MARUI, J. *et al.* Transcriptional activator, AoXlnR, Mediates Cellulose-Inductive Expression of the Xylanolytic and Cellulolytic Genes in *Aspergillus Oryzae*. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 528, p. 279-282, 2002.

McDONALD, P. *et al.* **Animal nutrition**. 5. ed. Zaragoza: Acribia, 1995. 576 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrients requeriments of small ruminants**. Washington, D.C: National Academy Press, 2007, 362 p.

NICIURA, S. C. M.; VERISSÍMO, C. J.; MOLENTO, M. B. **Determinação da eficácia anti-helmíntica em rebanhos ovinos: metodologia da colheita de amostras e de informações de manejo zossanitário**. Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, 2009. Disponível em: <<http://www.cppse.embrapa.br/080servicos/.../documentos/Documentos91.pdf>>. Acesso em: 25 maio 2010.

NUNES, H. *et al.* Alimentos alternativos na dieta dos ovinos: uma revisão. **Asociación Latinoamericana de Producción Animal**, v. 15, n. 4, p.147-158, 2007.

OLIVEIRA, L. N. **Composição química, degradabilidade e potencial de emissão de metano de resíduos da bananicultura para ruminantes**. 2012. 47 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais)-Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

_____. *et al.* Eficácia de resíduos da bananicultura sobre a inibição do desenvolvimento larval em *Haemonchus* spp. provenientes de ovinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 2, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/2009nahead/a445cr2282.pdf>>. Acesso em: 25 dez. 2013.

OLIVEIRA, M. V. M. *et al.* Desempenho de cordeiros das raças bergamácia e santa inês, terminados em confinamento, recebendo dejetos de suínos

como parte da dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 6, p. 1391-1396, 2003.

OLIVEIRA, S. G.; BERCHIELLI, T. T. Potencialidades da utilização de taninos na conservação de forragens e nutrição de ruminantes: revisão. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 12, n. 1, p. 1-9, 2007.

OLIVO, M. S. *et al.* Uso da bananeira (*Musa spp.*) no controle de parasitas de animais domésticos: do empirismo à ciência. **Livestock Research for Rural Development**, Cali, v. 19, n. 11, p. 159, 2007.

PATRA, A. K.; SAXENA, J. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. **Journal of the Science Food and Agriculture**, London, v. 91, p. 24-37, 2011.

PINTO, G. A. S. *et al.* Selection of Tannase-Producing *Aspergillus Niger* Strains. **Brazilian Journal of Microbiology**. São Paulo, v. 32, p. 24-26, 2001.

PORTO FILHO, J. M. P. **Sensibilidade dos nematóides gastrintestinais de caprinos leiteiros à antihelmínticos no município de Passagem, Paraíba, Brasil**. 2008. Disponível em:
<http://www.ufcg.edu.br/~cstr/mono_mv.../monogr_jose_maias_porto_filho.pdf>. Acesso em: 25 dez. 2013.

REDDY, G. V. *et al.* Utilization of Banana Waste for the Production of Lignolytic and Cellulolytic Enzymes by Solid Substrate Fermentation Using Two *Pleurotus* Species (*P. ostreatus* and *P. sajor-caju*). **Process Biochemistry**, London, v. 38, p. 1457-1462, 2003.

REMBRANDT, D. *et al.* Degradation of Structural Polysaccharides by the Plant Cell-Wall Degrading Enzyme System from Anaerobic Fungi. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 2, p. 130-136, 1997.

RIBEIRO, A. C. *et al.* Composição bromatológica e degradabilidade in situ de folhas de árvores frutíferas para alimentação de ruminantes. **Boletim de Medicina Veterinária**, Espírito Santo do Pinhal, v. 3, n. 3, p. 17-23, 2007.

RIBEIRO, K. G. *et al.* Eficiência microbiana, fluxo de compostos nitrogenados no abomaso, amônia e pH ruminais, em bovinos recebendo dietas contendo feno de capim-tifton 85 de diferentes idades de rebrota. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, p. 581-588, 2001.

RUIZ, G.; ROWE, J. B. Intake and digestion of different parts of the banana plant. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburgh, v. 5, n. 3, p. 253-256, 1980.

- RUIZ-LACAZ, R. *et al.* Microbiologia do rúmen e do biodigestor. In: RUIZ-LACAZ, R. **Microbiologia zootécnica**. São Paulo: Roca. 1992. p. 123-167.
- RYLE, M.; ØRSKOV, E. R. Ciliados de la panza y piensos tropicales. **Revista Mundial de Zootecnia**, Roma, v. 64, n. 10, p. 21-30, 1987.
- SHALLOM, D.; SHOHAM, Y. Microbial hemicellulases. **Current Opinion Microbiology**, Oxford, v. 6, n. 3, p. 219-228, June 2003.
- SELINGER, L. B.; FOSBERG, C. W.; CHENG, K. J.; The rumen: a unique source of enzymes for enhancing livestock production. **Anaerobe**, San Diego, v. 2, n. 5, p. 263-284, Oct. 1996.
- SIQUEIRA, E. R.; AMARANTE, A. F. T.; FERNANDES, S. Estudo comparativo da recria de cordeiros em confinamento e pastagens. **Revista de Veterinária e Zootecnia**, Rio de Janeiro, v. 5, p. 17-28, 1993.
- SIQUEIRA, E. R. Potencialidade da ovinocultura de corte. **Revista Tecnologia e Treinamento Agropecuário**, v. 3, n. 10, p. 32, mar./abr. 1999.
- VIANA, J. G. A. Panorama geral da ovinocultura no mundo e no Brasil. **Revista Ovinos**, Porto Alegre, v. 4, n. 12, mar. 2008. Disponível em: <<http://www.almanaquecampo.com.br/imagens/files/panorama%20geral%20ovinocultura%20brasil.pdf>>. Acesso em: 09 jan. 2014.
- VIDAL, M. F. *et al.* Análise econômica da produção de ovinos em lotação rotativa em pastagem de capim tanzânia (*Panicum maximum* (Jacq)). **Revista de Economia e Sociologia Rural**, Brasília, v. 44, p. 801-818, 2006.
- XENOFONTE, A. R. B. *et al.* Desempenho e digestibilidade de nutrientes em ovinos alimentados com rações contendo farelo de babaçu. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 11, p. 2063-2068, 2008.
- WALLACE, R. J. Ruminant Microbiology, Biotechnology, and Ruminant Nutrition: Progress and Problems. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, p. 2992-3003, 1994.
- ZHANG, J. *et al.* Development of the cellulolytic fungus *Trichoderma reesei* strain with enhanced b-glucosidase and filter paper activity using strong artificial cellobiohydrolase 1 promoter. **Bioresource Technology**, Essex, v. 101, p. 9815-9818, 2010.

CAPÍTULO II

PROTOZOÁRIOS RUMINAIS DE OVINOS ALIMENTADOS COM FENO DA FOLHA DE BANANEIRA

RESUMO

FREITAS, Cláudio Eduardo Silva. **Protozoários ruminais de ovinos alimentados com feno da folha de bananeira**. 2014. Cap. II. p. 22-41. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Montes Claros, MG.¹

Neste estudo, objetivou-se avaliar as características físico-químicas do fluido ruminal e o perfil da população de protozoários no rúmen de ovinos alimentados com folha de bananeira em substituição ao feno de *Cynodon* spp.. Foram utilizados 30 animais, com peso vivo médio inicial de 24,50 kg e com idade média de cinco meses criados em sistema intensivo, com adaptação de 15 dias. Os ovinos foram distribuídos em delineamento inteiramente ao acaso, com seis repetições e cinco tratamentos, permanecendo confinados por três períodos de 21 dias. Os tratamentos testados foram: T1 100% (feno de *Cynodon* spp.); T2 12,5% (feno da folha da bananeira) + 37,5% (feno de *Cynodon* spp.); T3 25% (feno da folha da bananeira) + 25% (feno de *Cynodon* spp.); T4 37,5% (feno da folha da bananeira) + 12,5% (feno de *Cynodon* spp.); T5 100% (feno da folha da banana). As dietas apresentavam uma relação Volumoso:Concentrado de 50:50, isoprotéicas. Amostras do suco ruminal foram coletadas diretamente do rúmen. Para conservação dos protozoários, um mL do suco ruminal foi diluído em nove mL de solução de formaldeído a 10%. Posteriormente foram realizadas diluições decimais em solução salina e contagem de protozoários em câmara de Sedgewick Rafter. A análise macroscópica do líquido coletado foi realizada imediatamente após a coleta em um tubo contendo cinco ml do suco amostrado. Foram avaliados: cor, odor, viscosidade e tempo de redução do azul de metileno (PRAM) na concentração 0,03 %. O pH do líquido ruminal foi estimado utilizando-se um potenciômetro digital. A média do pH foi 7,25, o PRAM, a cor, o odor e a viscosidade não foram influenciadas com a inclusão do feno da bananeira. O gênero *Entodinium* foi o de maior ocorrência em todos os tratamentos avaliados ($p < 0,05$). O gênero *Entodinium* foi o de maior ocorrência em todos os tratamentos avaliados ($p < 0,05$), e juntamente com o número total de protozoários verificaram-se reduções populacionais a partir de 75% de inclusão do feno da folha de bananeira como volumoso.

¹**Comitê Orientador:** Prof. Dr. Dorismar David Alves - Unimontes; Prof. Dr. Eduardo Robson Duarte - Universidade Federal de Minas Gerais; Prof. Dra. Luciana Castro Gerassev - Universidade Federal de Minas Gerais; Prof. Dr. João Paulo Sampaio Rigueira – Unimontes.

ABSTRACT

FREITAS, Cláudio Eduardo Silva. **Ruminal protozoa of sheep fed banana leaf hay**. 2014. Chapter II. p. 22-41. 2014. Dissertation (Master's degree in Animal Science) – Universidade Estadual de Montes Claros, MG. ¹

In this study, we aimed to evaluate the physical-chemical characteristics of ruminal fluid and the profile of the protozoa population in the rumen of sheep fed banana leaf hay replacing the *Cynodon* spp. hay. We used 30 animals which were about five months old, with an initial average weight of 24.50 kg created in intensive system, with adaptation of 15 days. The animals were distributed in a completely randomized design with six replications and five treatments, remaining on feedlot for three periods of 21 days. The treatments were: T1 (100 % *Cynodon* spp. hay); T2 12.5% (banana leaf hay) + 37.5 % (*Cynodon* spp. hay); T3 (25% banana leaf hay) + 25% (*Cynodon* spp. hay); T4 37.5% (banana leaf hay) + 12.5% (*Cynodon* spp. hay); T5 (100% banana leaf hay). Diets showed a roughage: concentrate ratio of 50:50, isoproteic. Samples of ruminal fluid were collected directly from the rumen. To conserve protozoa, one ml of rumen fluid was diluted in nine mL of 10% formaldehyde. Subsequently decimal dilutions were performed in saline solution and protozoa counting in Sedgewick Rafter chamber. Macroscopic analysis of the collected liquid was performed immediately after collection into a tube containing five ml of the sampled fluid. We evaluated: color, odor, viscosity and of methylene blue reduction time (MBRT) at 0.03% concentration. The ruminal pH was estimated using a digital potentiometer. The mean pH was 7.25, the MBRT, color, odor and viscosity were not influenced by the inclusion of banana hay. The *Entodinium* genus was the most frequent in all the treatments ($p < 0.05$), and with the total number of protozoa population there was reductions from 75% inclusion of banana leaf hay as roughage.

¹**Guidance committee:** Prof. Dr. Dorismar David Alves - Unimontes; Prof. Dr. Eduardo Robson Duarte - Universidade Federal de Minas Gerais; Prof. Dr. Luciana Castro Gerassev - Universidade Federal de Minas Gerais; Prof. Dr. João Paulo Sampaio Rigueira - Unimontes.

1 INTRODUÇÃO

O rúmen pode ser comparado a um quimiostato com um ambiente anaeróbio estrito, temperatura entre 38 e 42 °C, favorável ao crescimento de microrganismos mesófilos e pH entre seis e sete. Os ácidos produzidos durante a fermentação são prontamente tamponados pelo bicarbonato e fosfato, presentes na saliva. O ambiente ruminal adequado favorece a pressão da microbiota autóctone sobre os microrganismos do solo, água e alimentos ingeridos a todo instante pelos ruminantes, eliminando possíveis patógenos (RUIZ-LACAZ, 1992).

A evolução do trato gastrointestinal nos ruminantes proporcionou desenvolvimento de relação simbiótica e mutualística com protozoários ciliados, que, junto às bactérias e os fungos, compõem a microbiota ruminal (KOZLOSKI, 2002; MACKIE, 2002). Os ciliados possuem considerável atividade celulolítica e fermentativa. São os maiores microrganismos presentes no rúmen, constituindo importante fração da comunidade no ecossistema ruminal. Foram os primeiros a serem descritos nesse nicho, podem representar 2 % de peso do conteúdo ruminal, e 60 % da proteína microbiana (RYLE; ØRSKOV, 1987).

Os resíduos agroindustriais representam grande potencial para alimentação animal, principalmente de ruminantes, que possuem capacidade de transformar resíduos de vegetais em nutrientes para a sua própria utilização. A bananeira (*Musa* sp.) é um alimento que gera quantidades significativas de resíduos agroindustriais podendo ser utilizada na alimentação de ruminantes. A folha da bananeira possui teores de proteína bruta que podem chegar a 17 %, sendo uma alternativa interessante para redução dos custos no confinamento, tendo como limitante apenas seu alto teor de fibra e de compostos fenólicos (NUNES *et al.*, 2007; RIBEIRO *et al.*, 2007). Além disso, diversas variedades de bananeiras possuem taninos (OLIVO *et al.*, 2007) que podem melhorar a nutrição de ruminantes,

reduzindo a degradação ruminal da proteína vegetal e aumentando o fluxo de proteína bruta para o intestino.

Muitos pesquisadores têm caracterizado a microbiota ruminal e registrado a importante participação dos protozoários na digestão e equilíbrio do ecossistema ruminal e na saúde dos ruminantes (ALMEIDA *et al.*, 2012). Entretanto, poucos estudos avaliam a ecologia e a importância desses microrganismos para animais alimentados com resíduos agroindustriais.

Tendo em vista as características nutricionais das folhas da bananeira, é de grande relevância verificar os efeitos desse alimento sobre a população de protozoários que muitas vezes pode retratar as condições do ecossistema ruminal (DIRKSEN, 1993). No presente trabalho avaliaram-se as características físico-químicas do fluido ruminal e o perfil da população de protozoários do rúmen de ovinos alimentados com feno da folha de bananeira (*Musa* sp.).

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental da Universidade Estadual de Montes Claros, localizada no município de Janaúba que está inserido no Norte do estado de Minas Gerais, Brasil. As folhas da bananeira foram desintegradas em máquina estacionária, com posterior secagem do material até atingir aproximadamente 80 % de matéria seca.

Antes do início do período experimental, houve um período de adaptação de 15 dias. Ao iniciar este período, os animais foram devidamente numerados com brinco na orelha, bem como foram submetidos ao controle de endo e ectoparasitos. O período experimental teve duração de 63 dias, sendo 30 dias de adaptação ao ambiente e às dietas, e 33 dias do período experimental propriamente dito. Durante o período de adaptação, todos os animais receberam *ad libitum*, feno de *Cynodon* spp. e feno da folha da bananeira em proporções iguais, com uma relação volumoso:concentrado de 50:50, com base na matéria seca, sendo isoproteicas. As dietas foram formuladas visando ao suprimento das exigências nutricionais de um ovino com 20 a 30 kg de peso vivo, para ganhos diários de 200 g, de acordo as recomendações do NRC (2007), cujas composições percentual e nutricional dos mesmos encontram-se nas Tabelas 1 e 2.

TABELA 1. Composição percentual dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais¹

Ingredientes	Tratamentos ²				
	0 % Folha	25 % Folha	50 % Folha	75 % Folha	100 % Folha
Feno de <i>Cynodon</i> spp.	50,00	37,5	25	12,5	0,00
Feno da Folha de Bananeira	0,00	12,50	25,00	37,50	50,00
Milho Grão	38,78	40,37	42,10	43,61	45,11
Farelo de Soja	8,02	6,24	4,33	2,60	0,78
Fosfato Bicálcico	0,00	0,10	0,23	0,38	0,50
Calcário Calcítico	1,92	2,03	2,12	2,19	2,34
Rumensin	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Bicarbonato	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Premix mineral ³	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50

¹Base na matéria seca; ²Níveis de substituição do feno de *Cynodon* spp. por feno da folha de bananeira; ³ 80 % de sulfato de zinco.

TABELA 2. Teores médios de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), nutrientes digestíveis totais (NDT), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) em função dos tratamentos.

Item	Tratamento ¹				
	0-%	25-%	50-%	75-%	100-%
MS (%)	91,87	91,97	91,70	91,42	91,60
MM ²	9,75	9,34	8,29	8,17	9,31
PB ²	13,79	13,42	12,91	12,64	12,08
NDT ^{2;3}	72,67	71,60	70,52	69,43	68,30
FDN ²	48,45	49,12	48,77	47,77	45,85
FDA ²	25,73	26,08	25,63	24,96	24,43

¹Níveis de substituição do feno de *Cynodon* spp. por feno da folha de bananeira, base na matéria seca; ²Valores expressos em porcentagem da matéria seca; ³Valores tabelados (NRC, 2007).

Em delineamento inteiramente casualizado, foram utilizados 30 ovinos, sem padrão racial definido, machos, não castrados, com idade média de cinco meses e peso vivo médio inicial de 24,50 kg. Os animais foram confinados em baias individuais, providas de comedouros e bebedouros.

A alimentação foi fornecida duas vezes ao dia, ajustada de forma a manter as sobras entre 10 e 15 % do oferecido, com base na matéria seca. Diariamente foi registrada a quantidade oferecida, e as sobras foram coletadas e pesadas. A cada período de 21 dias, a contar do início do experimento, amostras compostas proporcionais das sobras foram feitas por animal, para posteriores análises laboratoriais. Foram determinados os teores de matéria seca das amostras de sobras. Nas dietas experimentais e ingredientes utilizados, além da MS foram determinados os teores de proteína bruta, extrato etéreo, fibra em detergente neutro e cinzas, conforme a metodologia proposta por Silva e Queiroz (2002).

O teor de taninos condensados foi determinado a partir de amostras de 20 g de feno da folha de bananeira (*Musa* sp.) e feno de *Cynodon* spp., o teor total de proantocianidinas foi quantificado nos extratos das duas espécies e nas suas frações, após solvólise catalisada por ácido com *n*-BuOH/HCl 37 % (95:5), segundo metodologia previamente descrita (HIERMANN *et al.*, 1986). Procedeu-se à leitura da absorvância da solução a 540 nm, sendo os valores expressos como cloreto de cianidina. Os resultados correspondem à média de três determinações (Tabela 3).

TABELA 3. Teor total de proantocianidinas em extratos hidroalcoólicos do feno da folha da bananeira e do feno de *Cynodon* spp.

Espécie vegetal	Material	* Teor de proantocianidinas (%)
<i>Musa</i> sp.	Feno	0,71
<i>Cynodon</i> spp.	Feno	0,55

*Teores expressos como cloreto de cianidina.

No ultimo dia experimental foi realizada a coleta do fluido ruminal, os ovinos estavam em jejum de 12 horas. Para a coleta, foram realizadas tricotomia e assepsia com solução de Iodo-PVPI (1 %) em uma área de aproximadamente cinco cm², 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 cateter humano (Solidor®, 14,2, BioMed Health Care Products, Haryana - India) acoplado a seringas estéreis. Cada seringa foi lacrada, identificada, armazenada em caixa isotérmica com gelo e encaminhada ao Laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Agrárias da UFMG.

A análise macroscópica do líquido coletado foi realizada imediatamente após a coleta, em um tubo contendo cinco ml do suco amostrado. Foram avaliados: cor, odor, viscosidade e tempo de redução do azul de metileno (PRAM) na concentração 0,03 %. O pH do líquido ruminal foi estimado utilizando-se um potenciômetro digital (DIRKSEN, 1993).

Posteriormente amostras de um ml do suco ruminal de cada animal foram diluídas em nove ml de solução de formaldeído a 10 % para conservação das estruturas morfológicas dos protozoários (DEHORITY, 1993). As amostras foram analisadas no laboratório de Protozoologia do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Comportamento e Biologia Animal, Universidade Federal de Juiz de Fora, MG, com identificação e contagem dos gêneros de ciliados, segundo técnica descrita por Dehority (1984), Ogimoto e Imai (1981), com a modificação proposta por D'Agosto e Carneiro (1999).

Adotando-se o delineamento inteiramente casualizado, promoveu-se análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5 % de significância e algumas variáveis foram expressas em valores absolutos e percentuais (SAMPAIO, 1998). Para análise das ocorrências dos gêneros, foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Os dados foram processados no Software SAS (SAS INSTITUTE, 2000).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de taninos condensados do feno da folha de bananeira (*Musa* sp.) utilizado neste experimento foi (7,1 g/kg MS), enquanto o feno de *Cynodon* spp. apresentou (5,5 g/kg MS) de taninos condensados.

Experimentos conduzidos a fim de se estudar os efeitos das concentrações de taninos condensados na dieta de ovinos, recebendo 2,5 % de *Lotus corniculatus*, 6 a 10 % de *L. pedunculatus* e 12 % de *Acacia aneura*, indicaram aumento em lactação, crescimento de lã e ganho de peso, sem alterar o consumo voluntário, quando os ovinos consumiram 4 a 6 % de taninos condensados na dieta, e redução do consumo voluntário, eficiência digestiva e produtividade animal, quando os animais consumiram 6 a 12 % de taninos condensados na dieta (AERTS *et al.*, 1999). Concentrações em torno de 0,5 % na MS da dieta pode reduzir a degradabilidade ruminal da proteína, prevenido a ocorrência de timpanismo espumoso (BARRY; McNABB, 1999).

As análises físico-químicas no fluido ruminal dos ovinos revelaram semelhanças entre as amostras, sendo que o tempo de redução do azul de metileno (PRAM) foi menor que 6 para todos os grupos de animais avaliados neste experimento. A cor variou entre tonalidades de castanho-oliva e castanho-escuro, o odor e a viscosidade predominaram respectivamente aromático e espesso em 100 % das amostras avaliadas (Tabela 4). Esses dados corroboram os estudos de Dirksen (1993) que define esses resultados dentro dos padrões normais.

TABELA 4. Análises macroscópicas e físicas do líquido ruminal de ovinos alimentados com diferentes proporções dos fenos de *Cynodon* sp. e da folha da bananeira (*Musa* sp.)

Tratamento	Variáveis				
	pH	PRAM	Odor	Viscosidade	Cor
T1	7,32 a	<6 (100 %)	Aromático (100 %)	Espessa (100 %)	Castanho-oliva (67 %) Castanho-escuro (33 %)
T2	7,13 a	<6 (100 %)	Aromático (100 %)	Espessa (100 %)	Castanho-oliva (83 %) Castanho-escuro (17 %)
T3	7,19 a	<6 (100 %)	Aromático (100 %)	Espessa (100 %)	Castanho-oliva (17 %) Castanho-escuro (83 %)
T4	7,34 a	<6 (100 %)	Aromático (100 %)	Espessa (100 %)	Castanho-oliva (33 %) Castanho-escuro (67 %)
T5	7,25 a	<6 (100 %)	Aromático (100 %)	Espessa (100 %)	Castanho-oliva (50 %) Castanho-escuro (50 %)

Médias com letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Nota: T1 100 % (feno de *Cynodon* spp.); T2 12,5 % (feno da folha da bananeira) + 37,5 % (feno de *Cynodon* spp.); T3 25 % (feno da folha da bananeira) + 25 % (feno de *Cynodon* spp.); T4 37,5 % (feno da folha da bananeira) + 12,5 % (feno de *Cynodon* spp.); T5 100 % (feno da folha da banana).

PRAM: Potencial de Redução do Azul de Metileno.

A média do potencial hidrogeniônico (pH) do líquido ruminal dos cinco grupos avaliados permaneceu próximo à neutralidade (7,25), não ocorrendo diferença entre os tratamentos ($P>0,05$). Os valores de pH encontrados apresentaram-se normais, já que dietas ricas em fibras proporcionam maior tempo de ruminação e, conseqüentemente, maior produção de saliva, elevando o pH. Contudo, o jejum de 12 horas poderia proporcionar um pequeno aumento no pH ruminal (DEHORITY, 1993; MATOS *et al.*, 2008). 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 (DIRKSEN, 1993).

A distribuição e a quantificação dos gêneros de protozoários identificados nesta pesquisa encontram-se na (Tabela 5). O gênero *Entodinium* foi o de maior ocorrência no rúmen de ovinos alimentados com diferentes proporções dos fenos de *Cynodon* sp. e da folha da bananeira (*Musa* sp.) ($p<0,05$).

TABELA 5. Densidade de protozoários do rúmen de ovinos (10^4 ciliados/mL de fluido ruminal) alimentados com diferentes proporções do feno de *Cynodon* sp. e feno da folha da bananeira

Gêneros	Tratamentos					Totais	Pr > F
	T1	T2	T3	T4	T5		
<i>Entodinium</i> spp.	2861,333 A	2520,000 A	1965,333 A	1418,666 B	762,666 B	9527,998	0,0028
<i>Diploplastron</i> spp.	10,666 A	2,666 A	21,333 A	8,000 A	0 A	42,665	0,5769
<i>Elytroplastron</i> spp.	2,666 A	10,666 A	16,000 A	8,000 A	0 A	37,332	0,2278
<i>Metadinium</i> spp.	2,666 A	2,666 A	0 A	0 A	2,666 A	7,998	0,7359
<i>Eudiplodinium</i> spp.	10,666 A	2,666 A	0 A	5,333 A	8,000 A	26,665	0,4534
<i>Enoploplastron</i> spp.	0 A	2,666 A	0 A	0 A	0 A	2,666	0,4261
<i>Epidinium</i> spp.	0 A	0 A	50,666 A	0 A	8,000 A	58,666	0,2065
<i>Polyplastron</i> spp.	5,333 A	0 A	0 A	0 A	0 A	5,333	0,4261
<i>Diplodiniinae</i> spp.	2,666 A	2,666 A	0 A	0 A	0 A	5,332	0,5674
Total	2896,000 A	2544,000 A	2053,333 A	1440,000 B	781,333 B	9714,666	0,0035

Médias seguidas da mesma letra na mesma linha não diferem pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis com ($p < 0,05$)

Nota: T1 100 % (feno de *Cynodon* spp.); T2 12,5 % (feno da folha da bananeira) + 37,5 % (feno de *Cynodon* spp.); T3 25 % (feno da folha da bananeira) + 25 % (feno de *Cynodon* spp.); T4 37,5 % (feno da folha da bananeira) + 12,5 % (feno de *Cynodon* spp.); T5 100 % (feno da folha da banana).

PRAM: Potencial de Redução do Azul de Metileno.

Neste estudo, foram identificados oito gêneros, encontrados no rúmen de ovinos alimentados com diferentes proporções dos fenos de *Cynodon* sp. e feno da folha da bananeira. A dieta, provavelmente, é um dos fatores mais importantes para a concentração e a distribuição dos gêneros de protozoários existentes no rúmen (WILLIAMS, 1986). O número total de protozoários e o gênero *Entodinium* diminuíram com a inclusão do feno da folha da bananeira ($p < 0,05$).

Dehority e Odenyo (2003), ao compararem ruminantes africanos selvagens e domésticos, observaram maior diversidade das populações de protozoários ciliados em animais mantidos exclusivamente sob pastejo, em relação a outros que eram alimentados com concentrado.

Estudos têm demonstrado os efeitos inibitórios de taninos condensados sobre protozoários do rúmen. Makkar *et al.* (1995) avaliaram o efeito de taninos purificados do feno de *Quercus incana* e *Dichostachys cinérea* e concluíram que a inclusão de (0,1-0,4 mg mL⁻¹) de taninos condensados reduziu significativamente o número de protozoários entodiniomorfos e holotrichos. Esses resultados corroboram os dados obtidos na presente pesquisa, pois a população total de protozoários e o gênero *Entodinium* diminuíram significativamente nos tratamentos avaliados (Tabela 5).

Ao avaliar os efeitos da mistura de pedaços de mandioca e banana crua sobre a fermentação ruminal em vacas leiteiras, Lunsin *et al.* (2010) relataram diminuição na população de protozoários e aumento na população de bactérias e zoósporos de fungos, sugerindo que os taninos condensados presentes no fruto da banana crua possam reduzir população de protozoários.

Neste estudo, as populações dos gêneros *Diploplastron*, *Elytroplastron*, *Metadinium*, *Eudiplodinium*, *Enoploplastron*, *Epidinium*, *Polyplastron* e *Diplodiniinae* não apresentaram diferença ($p > 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 5). Ratificando esse dado, em um estudo realizado por Raghuvansi *et al.* (2007), avaliando ovinos alimentados com dieta tanífera Neem (*Azadirachta indica*), Siris (*Albizia lebbek*) e Ardu (*Ailanthus*

excelsa) com baixo nível de taninos condensados (39,5, 62,9 e 4,95 g/Kg MS) respectivamente, não promoveram alterações nas populações de protozoários ruminais.

Abarghuei *et al.* (2010), ao analisarem os efeitos do fornecimento de bagaço de uva e do polietileno glicol para ovinos recebendo 24,3 g/Kg MS de taninos condensados, verificaram que não houve efeito para o gênero *Metadinium* spp.

Os gêneros *Epidinium* e *Ophryoscolex* são conhecidos pela relação de antagonismo estabelecida entre ambos, de forma que, frequentemente, não estabelecem populações mistas (GÖÇMEN *et al.*, 2001). Os resultados encontrados neste estudo confirmam a relação estabelecida para esses gêneros de protozoários, uma vez que não foi encontrado o gênero *Ophryoscolex*.

Os taninos apresentam evidentes efeitos antiprotozoários (Hristov *et al.*, 2003), uma vez que tem se observado diminuição da população de protozoários no rúmen quando se fornece dietas com altos teores de taninos condensados.

O gênero *Entodinium* foi o mais representativo em todos os tratamentos, o que confirma grande parte dos levantamentos sobre ciliados ruminais. Verificou-se efeito dos tratamentos sobre a contagem total de protozoários e sobre as populações de ciliados do gênero *Entodinium*, que apresentaram reduções populacionais nos tratamentos contendo 75 e 100 % de feno da folha de bananeira em substituição ao feno de *Cynodon* spp. (Tabela 5). Este fato pode estar relacionado à presença de compostos terpenoides e flavonoides na folha de bananeira (MAGDELEINE *et al.*, 2014), que podem ser inibitórios ao desenvolvimento de protozoários ruminais deste gênero.

Em contraste com as reduções populacionais observadas para o gênero *Entodinium*, os demais gêneros inventariados neste estudo mantiveram-se constantes em todos os tratamentos avaliados, o que pode estar relacionado à característica fibrosa da dieta, que estimula a ruminação e

a secreção de saliva, contribuindo para manutenção equilibrada do pH e, portanto, favorável ao crescimento dos microrganismos ruminais (MARTINELE *et al.*, 2008).

4 CONCLUSÕES

Com a inclusão do feno da folha de bananeira na dieta de ovinos, o pH, o PRAM, a cor, o odor e a viscosidade não são influenciados, sugerindo baixa toxicidade para a microbiota ruminal. As inclusões de 75 e 100 % de feno de bananeira como volumoso promovem reduções significativas na população de *Entodinium* spp. e do total de protozoários.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABARGHUEI, M. J.; ROUZBEHAN, Y.; ALIPOUR, D. The influence of the grape pomace on the ruminal parameters of sheep. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 132, n. 1-3, p. 73-79, 2010.
- AERTS, R. J. *et al.* Condensed tannins from and exert different effect on the rumen degradation of ribulose-1,5- bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) protein. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 79, p. 79-85, 1999.
- ALMEIDA, P. N. M. *et al.* Fungos aeróbicos no líquido ruminal de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes de forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 41, n. 11, p. 2336-2342, 2012.
- BARRY, T. N.; McNABB, W. C. The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants. **British Journal of Nutrition**, England, v. 81, p. 263-272, 1999.
- D'AGOSTO, M.; CARNEIRO, M. E. Evaluation of lugol solution used for counting rumen ciliates. **Revista Brasileira de Zoologia**, São Paulo, v. 16, n. 3, p. 725-729, 1999.
- DEHORITY, B. A. Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v. 48, n. 1, p. 182-185, 1984.
- _____. **Laboratory manual for classification and morphology of rumen ciliate protozoa**. Florida: CRC Press Inc., 1993. p. 96.
- _____.; ODENYO, A. A. Influence of diet on the rumen protozoal fauna of indigenous african wild ruminants. **The Journal of Eukaryotic Microbiology**, Lawrence, v. 50, p. 220-223, 2003.
- DIRKSEN, G. Sistema digestivo. In: DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. (Eds.). **Rosenberger**: exame clínico dos bovinos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. cap. 7, p.167-169.
- GÖÇMEN, B. *et al.* The rumen ciliate fauna of domestic sheep (*Ovis ammon aires*) from the Turkish Republic of Northern Cyprus. **The Journal of Eukaryotic Microbiology**, Ontario, v. 48, p. 455-459, 2001.

- HIERMANN, A.; KARTNIG, T. H.; AZZAM, S. Ein Beitrag zur quantitativen Bestimmung der Procyanidine in *Crataegus*. **Scientia Pharm**, Wien, v. 54, p. 331-337, 1986.
- HRISTOV, A. *et al.* Evaluation of several potential bioactive agents for reducing protozoal activity in vitro. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 105, n.1-4, p. 163-184, March. 2003.
- KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. Santa Maria: UFSM, 2002. 140 p.
- LUNSIN, R. *et al.* Effects of Pelleted Cassava Chip and Raw Banana (Cass-Bann) on Rumen Fermentation and Utilization in Lactating Dairy Cows. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, Thailand, v. 9, n. 17, p. 2239-2245, 2010.
- MACKIE, R. I. Mutualistic fermentative digestion in the gastrointestinal tract: diversity and evolution. **Integrative and Comparative Biology**, Mclean, v. 42, p. 319-326, 2002.
- MAKKAR, H. P. S.; BLUMMEL, M.; BECKER, K. Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycols and tannins, and their implication in gas production and true digestibility in vitro techniques. **Bristh Journal of Nutrition**, England, v. 73, p. 897-913, 1995.
- MARIE-MAGDELEINE, C. *et al.* In vitro effects of *Musa x paradisiaca* extracts on four developmental stages of *Haemonchus contortus*. **Research in Veterinary Science**, London, v. 96, p. 127-132, 2014.
- MARTINELE, I. *et al.* População de protozoários de ovinos mestiços mantidos em pastagens naturais de caatinga. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 9, n. 2, p. 280-292, 2008.
- MATOS, D. S. *et al.* População de protozoários ciliados no rúmen de ovinos criados na caatinga de Pernambuco. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 9, n. 2, p. 270-279, 2008.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. NRC. **Nutrient requirements of small ruminants**. Washington, D. C.: National Academy Press, 2007. 362 p.
- NUNES, H. *et al.* Alimentos alternativos na dieta dos ovinos: uma revisão. **Asociación Latinoamericana de Producción Animal**, v. 15, n. 4, p.147-158, 2007.
- OGIMOTO, K.; IMAI, S. **Atlas of rumen microbiology**. Tokyo: Japan Scientific Societies, 1981. 231p.

OLIVO, M. S. *et al.* Uso da bananeira (*Musa spp.*) no controle de parasitas de animais domésticos: do empirismo à ciência. **Livestock Research for Rural Development**, Cali, v. 19, n. 11, 2007.

RAGHUVANSI, S. K. *et al.* Feed digestion, rumen fermentation and blood biochemical constituents in Malpura rams fed a complete feed-block diet with the inclusion of tree leaves. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 71, p. 21-30, 2007.

RIBEIRO, A. C. *et al.* Composição bromatológica e degradabilidade *in situ* de folhas de árvores frutíferas para alimentação de ruminantes. **Boletim de Medicina Veterinária**, Espírito Santo do Pinhal, v. 3, n. 3, p. 17-23, 2007.

RUIZ-LACAZ, R. *et al.* Microbiologia do rúmen e do biodigestor. In: RUIZ-LACAZ, R. **Microbiologia zootécnica**. São Paulo: Roca. 1992. p. 123-167.

RYLE, M.; ØRSKOV, E. R. Ciliados de la panza y piensos tropicales. **Revista Mundial de Zootecnia**, Roma, v. 64, n. 10, p. 21-30, 1987.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221 p.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT User's guide**: version 8. Cary, NC, 2000.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análises de alimentos**: métodos químicos e biológicos. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 2002. 235 p.

WILLIAMS, A. G. Rumen holotrich ciliate protozoa. **Microbiological Reviews**, Washington, v. 50, n. 1, p. 25-49, 1986.

CAPÍTULO III

CARACTERIZAÇÃO DE FUNGOS AERÓBIOS E ANAERÓBIOS E ATIVIDADE CELULOLÍTICA DE FUNGOS AERÓBIOS DO TRATO DIGESTÓRIO DE RUMINANTES ALIMENTADOS COM FENO DA FOLHA DA BANANEIRA

RESUMO

FREITAS, Cláudio Eduardo Silva. **Caracterização de fungos aeróbios e anaeróbios e atividade celulolítica de fungos aeróbios do trato digestório de ruminantes alimentados com feno da folha da bananeira.** 2014. Cap. III, p.42-76. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Montes Claros, MG.¹

Objetivou-se avaliar a micobiota ruminal e o índice de atividade celulolítica (IAC) de fungos micelianos aeróbios do trato digestório de ovinos. Foram utilizados 30 ovinos, com peso vivo médio inicial de 24,50 kg e com idade média de cinco meses criados em sistema intensivo distribuídos em delineamento inteiramente ao acaso, com seis repetições e cinco tratamentos. Foram realizadas substituições gradativas do feno de *Cynodon* ssp. pelo feno da folha de bananeira permanecendo confinados por três períodos de 21 dias. As dietas apresentavam uma relação Volumoso:Concentrado de 50:50, isoproteicas. Foram coletados, após o abate, aproximadamente 15 ml de conteúdo ruminal e Swab de fezes. Para fungos anaeróbios foi realizado o exame micológico direto com a clarificação com KOH. Os cultivos foram realizados no meio BDA e meio C. Os isolados de fungos micelianos foram identificados após a técnica de microcultivo. Foi constatada a presença de colônias leveduriformes para 100% das amostras avaliadas. Após o microcultivo em BDA identificaram-se 33 isolados correspondentes ao gênero *Aspergillus*, quatro de *Paecilomyces* e três de *Scedosporium* provenientes do fluido ruminal. De 15 isolados das fezes, identificaram-se dez do gênero *Aspergillus*, três *Paecilomyces* e dois *Scedosporium*. Entre os fungos micelianos, o gênero *Aspergillus* foi o mais observado, correspondendo a 78,18 % dos isolados. Após o exame micológico direto, foi observada a presença de estruturas fúngicas típicas de fungos anaeróbios do rúmen em 23,33 % das amostras. No meio C 23 isolados provenientes do suco ruminal corresponderam ao gênero *Aspergillus* e três ao *Paecilomyces*. Identificaram-se nas fezes sete *Aspergillus* spp. e três *Paecilomyces* spp.. Fragmentos desses fungos foram inoculados em meio C a 37°C e realizadas leituras da atividade celulolítica após 24, 48 e 72 horas de incubação. O gênero *Aspergillus* predominou entre os isolados ($p < 0,05$). Não houve diferença nos índices de atividade celulolítica entre os tratamentos ($p > 0,05$). Vinte e dois isolados de *Aspergillus* spp. e três de *Paecilomyces* spp. apresentaram (IAC) superior a um, indicando potencial biotecnológico para utilização na nutrição de ruminantes.

¹ **Comitê de Orientação:** Prof. Dr. Dorismar David Alves - Unimontes; Prof. Dr. Eduardo Robson Duarte - Universidade Federal de Minas Gerais; Prof. Dr. Luciana Castro Gerassev - Universidade Federal de Minas Gerais; Prof. Dr. João Paulo Sampaio Rigueira - Unimontes.

ABSTRACT

FREITAS, Cláudio Eduardo Silva. **Characterization of aerobic and anaerobic fungi and cellulolytic activity of aerobic fungi in the digestive tract of ruminants fed banana leaf hay.** 2014. Chapter III, p. 42-76. 2014. Dissertation (Master's degree in Animal Science) – Universidade Estadual de Montes Claros, MG.¹

This study aimed to evaluate ruminal mycobiota and cellulolytic activity index (CAI) of aerobic mycelial fungi in the digestive tract of sheep. We used 30 sheep which were about five months old, an average weight of 24.50 kg created in intensive system distributed in a completely randomized design with six replications and five treatments. Replacement of *Cynodon* ssp. hay by banana leaf hay were performed and the animals remained on feedlot for three periods of 21 days. Diets showed roughage:concentrate ratio of 50:50, isoproteic. We collected, after slaughter, approximately 15 ml of rumen and fecal swab content. Direct mycological exam with clarification with KOH was carried out for anaerobic fungi. The cultures were performed in PDA and C media. The mycelial fungi isolates were identified after microculture technique. The presence of yeast colonies to 100% of the samples was observed. After Microcultivation in PDA, we identified 33 isolates corresponding to the *Aspergillus* genus, four to the *Paecilomyces* and three to the *Scedosporium* one from rumen fluid. From 15 isolates from feces, we identified tens of *Aspergillus*, three of *Paecilomyces* and two of *Scedosporium*. Between mycelial fungi, *Aspergillus* was the most observed, corresponding to 78.18 % of the isolates. After the direct mycological examination, the presence of fungal structures typical of rumen anaerobic fungi in 23.33 % of the samples was observed. In the C medium, 23 isolates from ruminal fluid corresponded to the *Aspergillus* genus and three to *Paecilomyces* one. We identified in feces seven *Aspergillus* spp. and three *Paecilomyces* spp.. Fragments of these fungi were inoculated into C medium to 37 °C and cellulolytic activity readings made after 24, 48 and 72 hours of incubation. The *Aspergillus* genus was predominant amongst isolates ($p < 0.05$). There was no difference in cellulolytic activity indices between treatments ($p > 0.05$). Twenty-two isolates of *Aspergillus* spp. and three of *Paecilomyces* spp. presented (CAI) higher than one, indicating biotechnological potential for use in ruminant nutrition.

¹**Guidance committee:** Prof. Dr. Dorismar David Alves - Unimontes; Prof. Dr. Eduardo Robson Duarte - Universidade Federal de Minas Gerais; Prof. Dr. Luciana Castro Gerassev - Universidade Federal de Minas Gerais; Prof. Dr. João Paulo Sampaio Rigueira - Unimontes.

1 INTRODUÇÃO

Como resultado do melhoramento no manejo nutricional de ruminantes, tem-se observado aumento nos índices de produção animal nos últimos 30 anos (NOORAE *et al.*, 2010). A notável capacidade de produção proteica nos ruminantes é atribuída ao sistema de pré-estômagos, o qual alberga complexo ecossistema microbiano. Como os alimentos fibrosos são à base da alimentação dos ruminantes, esse ecossistema tem importância única, por ser responsável pela degradação da fibra vegetal, digerindo os polímeros da parede celular (STEWART, 1994). Essa interação simbiótica pode suprir os ruminantes quanto aos requisitos energéticos, proteicos e vitamínicos, contribuindo para o crescimento, produção e reprodução (OLIVEIRA *et al.*, 2007).

Por não serem estritos do rúmen, os fungos micelianos aeróbios podem ser encontrados em muitos outros ambientes e têm sido utilizados em processos simples de fermentação de alimentos. Todavia, no último século, tem-se descoberto o potencial biotecnológico desses microrganismos para os mais diversos fins, como a produção de enzimas (PINTO *et al.*, 2001), antibióticos, vitaminas, componentes farmacêuticos, fungicidas, reguladores do crescimento de plantas, hormônios e proteínas (KAVANAGH, 2005).

Diferentes moduladores da microbiota ruminal têm sido estudados a fim de melhorar a atividade microbiana no rúmen (NAGAJARA *et al.*, 1997). Entretanto, evidências científicas sobre os efeitos causados com o uso desses aditivos ainda não são conclusivas (NOORAE *et al.*, 2010). Efeitos de extratos vegetais sobre fungos do rúmen têm sido pouco estudado, mas com efeitos positivos e negativos sobre esses organismos (PATRA; SAXENA, 2009).

A degradação enzimática dos polissacarídeos atrai atenção de pesquisadores para aplicações biotecnológicas. Fungos filamentosos têm a capacidade de produzir complexo de enzimas como as celulases e as

xilanases. As celulases microbianas são mundialmente estudadas com o objetivo de aumentar a liberação de glicose dos substratos, maximizando a fermentação e produção de etanol (REMBRANDT *et al.*, 1997).

Estudos têm relatado que os taninos exercem efeito inibitório sobre atividade de enzimas fibrolíticas produzidas por fungos ruminais, esses efeitos podem estar relacionados à estrutura química do tanino (MCSWEENEY *et al.*, 2001).

Nesta pesquisa, objetivou-se avaliar a presença de estruturas características de fungos aeróbios e anaeróbios e avaliar o índice de atividade celulolítica de fungos aeróbios isolados do fluido ruminal e das fezes de ovinos alimentados com feno da folha de bananeira (*Musa* sp.).

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental da Universidade Estadual de Montes Claros, localizada no município de Janaúba que está inserido no Norte do estado de Minas Gerais, Brasil. As folhas da bananeira foram desintegradas em máquina estacionária, com posterior secagem do material até atingir aproximadamente 80 % de matéria seca.

Antes do início do período experimental, houve um período de adaptação de 15 dias. Ao iniciar este período, os animais foram devidamente numerados com brinco na orelha, bem como foram submetidos ao controle de endo e ectoparasitos. O período experimental teve duração de 63 dias, sendo 30 dias de adaptação ao ambiente e às dietas, e 33 dias do período experimental propriamente dito. Durante o período de adaptação, todos os animais receberam *ad libitum*, feno de *Cynodon* spp. e feno da folha da bananeira em proporções iguais com uma relação volumoso:concentrado de 50:50, com base na matéria seca, sendo isoproteicas. As dietas foram formuladas visando ao suprimento das exigências nutricionais de um ovino com 20 a 30 kg de peso vivo, para ganhos diários de 200 g, de acordo as recomendações do NRC (2007), sendo que a composição percentual e nutricional dos mesmos encontra-se nas Tabelas 1 e 2.

TABELA 1. Composição percentual dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais¹

Ingredientes	Tratamentos ²				
	0 % Folha	25 % Folha	50 % Folha	75 % Folha	100 % Folha
Feno de <i>Cynodon</i> spp.	50,00	37,5	25	12,5	0,00
Feno da Folha de Bananeira	0,00	12,50	25,00	37,50	50,00
Milho Grão	38,78	40,37	42,10	43,61	45,11
Farelo de Soja	8,02	6,24	4,33	2,60	0,78
Fosfato Bicálcico	0,00	0,10	0,23	0,38	0,50
Calcário Calcítico	1,92	2,03	2,12	2,19	2,34
Rumensin	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Bicarbonato	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Premix mineral ³	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50

¹Base na matéria seca; ²Níveis de substituição do feno de *Cynodon* spp. por feno da folha de bananeira; ³ 80 % de sulfato de zinco.

TABELA 2. Teores médios de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), nutrientes digestíveis totais (NDT), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) em função dos tratamentos.

Item	Tratamento ¹				
	0-%	25-%	50-%	75-%	100-%
MS (%)	91,87	91,97	91,70	91,42	91,60
MM ²	9,75	9,34	8,29	8,17	9,31
PB ²	13,79	13,42	12,91	12,64	12,08
NDT ^{2:3}	72,67	71,60	70,52	69,43	68,30
FDN ²	48,45	49,12	48,77	47,77	45,85
FDA ²	25,73	26,08	25,63	24,96	24,43

¹Níveis de substituição do feno de *Cynodon* spp. por feno da folha de bananeira, base na matéria seca; ²Valores expressos em porcentagem da matéria seca; ³Valores tabelados (NRC, 2007)

Em delineamento inteiramente casualizado, foram utilizados 30 ovinos, sem padrão racial definido, machos, não castrados, com idade média de cinco meses e peso vivo médio inicial de 24,50 kg. Os animais foram confinados em baias individuais, providas de comedouros e bebedouros.

A alimentação foi fornecida duas vezes ao dia, ajustada de forma a manter as sobras entre 10 e 15 % do oferecido, com base na matéria seca. Diariamente foi registrada a quantidade oferecida e as sobras foram coletadas e pesadas. A cada período de 21 dias, a contar do início do experimento, amostras compostas proporcionais das sobras foram feitas por animal, para posteriores análises laboratoriais. Foram determinados os teores de matéria seca das amostras de sobras. Nas dietas experimentais e ingredientes utilizados, além da MS foram determinados os teores de proteína bruta, extrato etéreo, fibra em detergente neutro e cinzas, de acordo com a metodologia proposta por Silva e Queiroz (2002).

O teor de taninos condensados foi determinado a partir de amostras de 20 g de feno da folha de bananeira (*Musa* sp.) e feno de *Cynodon* spp., o teor total de proantocianidinas foi quantificado nos extratos das duas espécies e nas suas frações, após solvólise catalisada por ácido com *n*-BuOH/HCl 37% (95:5), segundo metodologia previamente descrita (HIERMANN *et al.*, 1986). Procedeu-se à leitura da absorvância da solução a 540 nm, sendo os valores expressos como cloreto de cianidina. Os resultados correspondem à média de três determinações (Tabela 3).

TABELA 3. Teor total de proantocianidinas em extratos hidroalcoólicos do feno da folha da bananeira e do feno de *Cynodon* spp.

Espécie vegetal	Material	* Teor de proantocianidinas (%)
<i>Musa</i> sp.	Feno	0,71
<i>Cynodon</i> spp.	Feno	0,55

*Teores expressos como cloreto de cianidina.

No último dia experimental foi realizada a coleta do fluido ruminal, quando os ovinos se encontravam em jejum de 12 horas. Para a coleta, foram realizadas tricotomia e assepsia com solução de Iodo-PVPI (1%) em uma área de aproximadamente cinco cm², 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 cateter 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. Após a pré-assepsia da região perianal com iodo-PVPI, as fezes foram coletadas diretamente da ampola retal dos animais com auxílio de *swabs* estéreis e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Agrárias da UFMG.

No cultivo, foi avaliada a taxa de positividade de fungos micelianos para todos os animais avaliados. Utilizou-se *swab* estéril para inocular por esgotamento o fluido ruminal e as fezes em placas de petri contendo o meio Ágar Batata Dextrose e meio C (celulose microcristalina a 1 %; sulfato de amônio a 0,5 %; sulfato de magnésio hepta-hidratado a 0,05 % e ágar-ágar a 2 %). Após inoculação por estriação, as placas foram incubadas invertidas em estufa a 37 °C e monitoradas para o crescimento de colônias fúngicas por até 21 dias (LACAZ *et al.*, 2002).

Foi realizado o cultivo para mensurar a quantidade de unidades formadoras de colônia (UFC) de fungos micelianos e leveduriformes por ml de fluido ruminal. Para determinar a quantificação de fungos anaeróbios facultativos no suco ruminal, foram realizadas diluições decimais seriadas do líquido ruminal em tubos contendo nove ml de solução salina estéril. Após cada diluição, os tubos foram homogeneizados durante três minutos e alíquotas de 100 microlitros das diluições decimais foram inoculadas em placas estéreis contendo os meios descritos anteriormente. Os inóculos foram homogeneizados com alças de *Drigalski* estéreis (*Spread plate*) e as placas foram incubadas em estufa BOD a 37 °C e monitoradas para o

crescimento de colônias fúngicas por até 21 dias (KURTZMAN; FELL, 1998; LACAZ *et al.*, 2002).

Para a identificação dos fungos micelianos obtidos, foi realizada a técnica de microcultivo (LACAZ *et al.*, 1998). As características micromorfológicas, evidenciadas ao microscópio óptico, foram associadas àquelas descritas para fungos de interesse biotecnológico e médico-veterinário (LACAZ *et al.*, 2002).

Após a coleta, dois ml do conteúdo ruminal foram recolhidos para a clarificação e transferidos para tubos de ensaio 15 x 2,5 cm, contendo 15 ml de solução de KOH a 10 %. Esses tubos foram incubados durante uma hora em banho-maria a 90 °C. O sobrenadante foi removido e os resíduos neutralizados com 10 ml da solução de HCl 0,02N durante um a dois minutos. Após desprezar a solução ácida, os resíduos foram transferidos para tubos contendo seis ml da solução de azul de metileno a 0,05 % e lactoglicerol, sendo incubados a 90 °C, durante cinco minutos. Após desprezar o sobrenadante, o precipitado foi acondicionado em placa de petri, juntamente com 15 ml de lactoglicerol. O conteúdo foi inicialmente pesquisado em microscópio estereoscópico com o aumento de 400X. As partículas demonstrando a presença de estruturas de esporângios, hifas e rizoides de fungos foram transferidas e montadas em lâminas com azul de metileno. Posteriormente, as mesmas foram examinadas sob a luz da microscopia óptica, com o aumento de 1000 vezes (CHAUDHRY, 2000).

Foram selecionados 26 isolados de fungos micelianos provenientes do suco ruminal e 10 isolados das fezes. Cada isolado foi reinoculado em meio C para se adaptarem e crescerem nesse meio, onde a única fonte de carbono disponível foi a celulose microcristalina.

Após incubação durante sete dias, cada isolado foi novamente semeado, em triplicata, no centro de placas de petri 90 mm x 90 mm contendo 15 mL do mesmo meio. Posteriormente, foram incubadas em estufa BOD a 37 °C. As leituras da atividade celulolítica foram realizadas às

24 h, 48 h e 72 h conforme adaptação à metodologia descrita por Teather & Wood (1982).

Ao final de cada período de incubação, procedeu-se à lavagem das placas durante 15 minutos, utilizando-se 15 ml de solução com o corante vermelho-congo (1mg ml^{-1}). Após esse procedimento, as placas foram novamente lavadas com 15 mL de solução 1M de NaCl, por três vezes consecutivas, procedendo-se à mensuração dos diâmetros dos halos claros, que indicou degradação da celulose, e o diâmetro das colônias com o auxílio de um paquímetro (Mitutoyo®). Posteriormente, calculou-se o índice de atividade enzimática (I.A.) 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).

Após análise exploratória dos dados de quantificação dos fungos com os testes de *Liliefors* e de *Bartlett*, procedeu-se à transformação para $\text{Log}_{10}(X+10)$. Como as variáveis não apresentaram distribuição normal, adotaram-se os testes não paramétricos de Wilcoxon e Kruskal-Wallis. As taxas de positividade e distribuição dos gêneros dos fungos para os diferentes grupos de animais foram avaliadas, utilizando-se o teste do Qui-quadrado (χ^2) (SAMPAIO, 1998). Para os fungos isolados do meio C, os dados obtidos da quantificação das colônias foram transformados para $\text{log}_{10}(X+10)$ e as médias foram comparadas pelo teste de *Scott-Knott*. Para comparar a atividade celulolítica e os tempos de incubação dos grupos de fungos avaliados, foi realizada a análise de variância com emprego do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Os testes foram realizados por meio do pacote estatístico SAEG -Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (2007) considerando diferenças significativas com valores de $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o exame micológico direto, foi observada a presença de estruturas fúngicas típicas de fungos anaeróbios do rúmen em 23,3 % das amostras de 30 ovinos. As formas fúngicas detectadas para todos os grupos avaliados nesta pesquisa eram sugestivas daquelas dos fungos anaeróbios do rúmen, *Neocallimastix* spp. e *Caecomyces* spp. Os resultados indicaram a presença de fungos monocêntricos para oito amostras de ovinos alimentados com os volumosos avaliados nesta pesquisa (Tabela 4).

TABELA 4. Detecção de fungos anaeróbios estritos no conteúdo ruminal de ovinos alimentados com folha de bananeira

Tratamentos	N	<i>Neocallimastix</i> spp.		<i>Caecomyces</i> spp.	
			%		%
T1	6	1	16,67	1	16,67
T2	6	2	33,33	0	0,00
T3	6	0	0,00	0	0,00
T4	6	1	16,67	1	16,67
T5	6	1	16,67	0	0,00

Nota: T1 100 % (feno de *Cynodon* spp.); T2 12,5 % (feno da folha da bananeira) + 37,5 % (feno de *Cynodon* spp.); T3 25 % (feno da folha da bananeira) + 25 % (feno de *Cynodon* spp.); T4 37,5 % (feno da folha da bananeira) + 12,5 % (feno de *Cynodon* spp.); T5 100 % (feno da folha da banana)

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). Entretanto, ao avaliarem a taxa de detecção de fungos anaeróbios no conteúdo ruminal de vacas e bezerras leiteiras, alimentadas com diferentes fontes de volumosos tropicais, Duarte

et al. (2013) encontraram estruturas fúngicas com características compatíveis com fungos do gênero *Caecomyces* para ambos analisados.

Ankur *et al.* (2006) avaliaram o potencial de fungos anaeróbios provenientes de caprinos e ovinos para a degradação de fibras vegetais, e identificaram amostras pertencentes aos gêneros *Anaeromyces*, *Orpinomyces*, *Piromyces* e *Neocallimastix*. Isolados deste último gênero, provenientes de caprinos, apresentaram atividade máxima de avicelalases e celulasas, demonstrando maior atividade *in vitro* de degradação de matéria seca e fibra em detergente ácido (Ankur *et al.*, 2006).

Segundo Grenet *et al.* (1989), a maior população desses fungos é observada em animais adultos e que ingerem maior proporção de fibras vegetais. O que justifica, então, sua maior frequência no líquido ruminal dos ovinos, neste estudo.

Os resultados do cultivo micológico indicaram presença de leveduras para todas as amostras de suco ruminal provenientes dos grupos de animais avaliados neste estudo (100 %). Todavia, para os fungos micelianos, foram observadas taxas de positividade de 50 %, 16 %, 83 %, 67 % e 67 %, respectivamente para os tratamentos com substituição gradativa pelo feno da folha da bananeira 0 %, 25 %, 50 %, 75 % e 100 % ($p < 0,05$). Futuras investigações poderão elucidar as diferenças de ocorrência desses microrganismos constatadas para as categorias avaliadas.

Na quantificação, comparou-se a população de fungos micelianos e leveduriformes para cada tratamento e os efeitos de cada tratamento na concentração desses microrganismos. A (Tabela 5) relaciona as médias das quantidades de UFC ml⁻¹ de fungos micelianos e leveduriformes encontradas nas amostras de fluido ruminal dos grupos de animais avaliados. A população de fungos micelianos foi significativamente menor que a das leveduras dentro de cada tratamento avaliado neste estudo ($p < 0,05$).

TABELA 5. Quantificação de fungos micelianos e leveduriformes em amostras de líquido ruminal provenientes de ovinos alimentados com feno da folha de bananeira

Tratamentos	Fungo micelianos	Leveduras
	(UFC ml ⁻¹)	(UFC ml ⁻¹)
100 % (feno de <i>Cynodon</i> spp.)	1,16x10 ³ Ab	114x10 ³ Aa
25 % (feno da folha da bananeira) + 75 % (feno de <i>Cynodon</i> spp.)	5,00x10 ² Ab	131x10 ³ Aa
50 % (feno da folha da bananeira) + 50 % (feno de <i>Cynodon</i> spp.)	2,00x10 ³ Ab	152x10 ³ Aa
75 % (feno da folha da bananeira) + 25 % (feno de <i>Cynodon</i> spp.)	5,00x10 ² Ab	167x10 ³ Aa
100 % (feno da folha da banana)	1,00x10 ³ Ab	176x10 ³ Aa

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis com (p>0,05).

Letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si pelo teste não paramétrico de Wilcoxon (P<0,05).

Esse resultado pode sugerir a dominância da população de leveduras sobre a dos fungos micelianos, possivelmente ocasionada pelo tipo de substrato disponível. Ressalta-se que, enquanto fungos micelianos produzem grande quantidade e variedade de enzimas específicas para degradar polissacarídeos da parede celular vegetal (GORDON; PHILLIPS, 1992; MCALLISTER *et al.*, 2001; XIMENES, 2003), amplamente presentes em dietas ricas em volumoso, as leveduras degradam com mais facilidade substratos mais simples, como glicose, xilose e glicerol (KURTZMAN; FELL, 1998). Assim, dietas ricas em carboidratos, como é o caso do amido, presente no concentrado poderia ter favorecido, competitivamente, o crescimento das leveduras. Poderia ter ainda ocorrido antagonismo por substâncias produzidas por leveduras, inibindo o crescimento dos outros fungos.

Após o microcultivo de 40 isolados de fungos micelianos provenientes do suco ruminal, identificaram-se 33 isolados correspondentes ao gênero *Aspergillus*, quatro de *Paecilomyces* e três de *Scedosporium* provenientes do fluido ruminal. De 15 isolados das fezes, identificaram-se dez *Aspergillus* spp., três *Paecilomyces* spp., e dois *Scedosporium* spp. (Tabela 6).

TABELA 6. Distribuição de gêneros de fungos micelianos provenientes do trato gastrointestinal de ovinos alimentados com feno da folha de bananeira

Gêneros	AMOSTRA		
	Fezes	Fluido	Total
<i>Aspergillus</i>	10 (66,67 %) a	33 (82,50 %) a	43 (78,18 %) a
<i>Paecilomyces</i>	3 (20,00 %) b	4 (10,00 %) b	7 (12,73 %) b
<i>Scedosporium</i>	2 (13,33 %) b	3 (7,50 %) b	5 (9,09 %) b
Total	15 (100 %)	40 (100 %)	55 (100 %)

Letras divergentes na coluna indicam diferença significativa com valores de $P < 0,05$ no teste do qui-quadrado.

Após a identificação micromorfológica dos isolados de fungos micelianos, verificou-se que *Aspergillus* spp. foi o gênero mais frequente proveniente do fluido ruminal e das fezes ($P < 0,05$). O predomínio de *Aspergillus* spp. poderia ser justificado por sua versatilidade e eficiência em catabolizar diferentes fontes de carbono solúveis, bem como polímeros complexos Flippi *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 FRANZIA *et al.*, 2008).

Ao quantificarem e identificarem fungos aeróbios no líquido ruminal de diferentes categorias de bovinos leiteiros alimentados com diferentes fontes de forrageiras tropicais, Almeida *et al.* (2012) observaram que o gênero *Aspergillus* foi o mais frequente entre os tratamentos avaliados. Esses resultados corroboram os dados encontrados na presente pesquisa, pois o gênero *Aspergillus* predominou nas amostras provenientes do fluido ruminal e das fezes.

Entre os isolados dos gêneros *Paecilomyces* e *Scedosporium*, não houve diferença significativa para as amostras provenientes do fluido ruminal e das fezes. Freitas *et al.* (2012), ao avaliarem o perfil da população de fungos aeróbios em fezes de borregos e de matrizes ovinas criados em pastagem tropical, verificaram a presença de fungos do gênero *Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Acremonium*, *Trichoderma*, *Malbranchea* e *Onychocola*, sendo o gênero *Paecilomyces* predominante nas matrizes ovinas enquanto os do gênero *Aspergillus* foram mais frequentes nos borregos.

Reportando propriedades anti-helmínticas para gênero *Paecilomyces*, Braga *et al.* (2008) demonstraram eficácia ovicida de 52 % da espécie *Paecilomyces lilacinus* sobre ovos de *Taenia saginata*, após dez dias de cultivo. Esporadicamente, fungos do gênero *Scedosporium* são mencionados

como patológicos. Embora sejam encontrados de forma corriqueira no ambiente, esses fungos acometem principalmente pacientes imunocomprometidos (BARRETO-BERGTER *et al.*, 2008; BIENVENU *et al.*, 2009; GUARRO *et al.*, 2009).

Castillo *et al.* (2010), ao avaliarem o potencial antifúngico das plantas taníferas, *Larrea tridentata*, *Flourensia cernua*, *Agave lechuguilla*, *Opuntia sp.* e *Yucca sp.*, sobre o fungo *Rhizoctonia solani* Kühn, confirmam que *L. tridentata* e *F. cernua* inibiram 100 % do crescimento do *R. solani* Kühn.

Ao avaliarem as propriedades antifúngicas das folhas, caule e flores de *Panicum maximum* Jacq. e os seus componentes fitoquímicos, Kanife *et al.* (2012) registraram concentrações de 0,85 %, 0 % e 0,09% de taninos para as folhas, caule e flores, respectivamente. Constataram que as folhas e as flores apresentaram atividade antifúngica significativa com zonas de inibição em *Aspergillus tamari*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger* e *Candida albican*.

Almeida *et al.* (2012), ao analisarem a população de microrganismos no intestino grosso de bovinos leiteiros alimentados com diferentes volumosos, constataram grande diversidade da população de fungos aeróbios, sendo encontrados fungos do gênero *Acremonium*, *Aspergillus*, *Gliocladium*, *Paecilomyces*, *Rhizophus*, *Scedosporium*, *Scopulariopsis* e *Trichophyton*. Em contraste a essa pesquisa, neste presente estudo foram encontrados fungos do gênero *Aspergillus*, *Paecilomyces* e *Scedosporium*, fato que pode estar relacionado à presença de compostos terpenoides e flavonoides na folha de bananeira (MAGDELEINE *et al.*, 2014), que podem ser inibitórios ao desenvolvimento de fungos ruminais destes gêneros.

Os resultados revelaram cultivos positivos para fungos micelianos em todas as amostras provenientes dos grupos de animais avaliados (100 %). Contudo, na quantificação desses microrganismos, verificou-se que a população no suco ruminal de ovinos alimentados com feno da folha da bananeira substituindo-se 75 % do feno de *Cynodon* sp. foi

significativamente menor ($p < 0,05$) quando comparada aos demais tratamentos (Tabela 7).

As diferenças observadas na contagem de fungos micelianos poderiam ser elucidadas pelas diversas interações microbianas existentes no ecossistema ruminal de cada categoria. Dessa forma, a microbiota autóctone do rúmen, e as condições do ambiente ruminal poderiam ter selecionado e favorecido uma menor população desses fungos para os ovinos alimentados com feno da folha da bananeira substituindo-se 75 % do feno de *Cynodon* sp.. As interações microbianas podem ser estabelecidas por diferentes mecanismos. Alguns microrganismos ruminais dependem de outros para fornecer nutrientes essenciais e específicos. Por outro lado, outros microrganismos podem secretar substâncias antagonistas que limitam o crescimento de outras espécies ou cepas (OLIVEIRA *et al.*, 2007).

TABELA 7. Quantificação de fungos micelianos em amostras de líquido ruminal, provenientes de ovinos alimentados com feno da folha de bananeira

Tratamentos	Fungos micelianos (UFC mL⁻¹)
T1	3,66 x 10 ³ A
T2	2,66 x 10 ³ A
T3	2,50 x 10 ³ A
T4	6,67 x 10 ² B
T5	2,00 x 10 ³ A
Coeficiente de Variação	23,80%

Letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).
 Nota: T1 100 % (feno de *Cynodon* spp.); T2 12,5 % (feno da folha da bananeira) + 37,5 % (feno de *Cynodon* spp.); T3 25 % (feno da folha da bananeira) + 25 % (feno de *Cynodon* spp.); T4 37,5 % (feno da folha da bananeira) + 12,5 % (feno de *Cynodon* spp.); T5 100 % (feno da folha da banana).

Após o microcultivo de 26 isolados de fungos micelianos provenientes do suco ruminal e 10 isolados das fezes, identificaram-se 23 isolados correspondentes ao gênero *Aspergillus* e três de *Paecilomyces* provenientes do fluido ruminal. De 10 isolados das fezes, identificaram-se sete *Aspergillus* spp. e três *Paecilomyces* spp. (Tabela 8).

TABELA 8. Distribuição de gêneros de fungos micelianos provenientes do trato gastrointestinal de ovinos alimentados com feno da folha de bananeira

Gêneros	AMOSTRA		
	Fezes	Fluido	Total
<i>Aspergillus</i>	7 (70,00 %) a	23 (88,46 %) a	30 (83,33 %) a
<i>Paecilomyces</i>	3 (30,00 %) b	3 (11,54 %) b	6 (16,67 %) b
Total	10 (100 %)	26 (100 %)	36 (100 %)

Letras divergentes na coluna indicam diferença significativa com valores de $P < 0,05$ no teste do qui-quadrado.

Os resultados indicaram predominância do gênero *Aspergillus* entre os isolados provenientes de fluido ruminal e fezes ($P < 0,05$). Estudos reportam que isolados de *Aspergillus niger* apresentam síntese enzimática de lactase e satisfatória atividade amilolítica (ARAÚJO, 1979). Dessa forma, fungos desse gênero poderiam ocorrer em maior frequência, em relação ao gênero *Paecilomyces* no trato gastrointestinal de ovinos, em razão da presença do amido na dieta desses animais, visto que recebiam concentrado contendo amido.

Pesquisas avaliando a prevalência de fungos celulolíticos no fluido ruminal de cinco vacas, cinco ovelhas e cinco cabras indicaram maior proporção desses microrganismos nas amostras provenientes das vacas. Os

gêneros *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* e *Mucor* foram os mais prevalentes e ambos apresentaram atividade celulolítica comprovada. Para as amostras isoladas especificamente a partir do suco ruminal das ovelhas, o gênero *Mucor* foi o mais prevalente, correspondendo a 40 % dos isolados, seguido de *Penicillium* sp., que foi identificado para 30 % dos isolados e 10 % para os do gênero *Aspergillus* (OYELEKE; OKUSANMI, 2008).

Dessa maneira, 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).

A Tabela 9 descreve as médias dos índices de atividade celulolítica, após 24, 48 e 72 horas, de isolados de *Aspergillus* spp. provenientes do fluido ruminal de ovinos alimentados com feno da folha de bananeira em substituição ao feno de *Cynodon* ssp.. Não houve diferença nas médias de IAC para os três tempos de incubação entre os tratamentos ($p>0,05$).

TABELA 9. Atividade celulolítica de isolados de *Aspergillus* spp. provenientes do rúmen de ovinos alimentados com feno da folha de bananeira após o cultivo em meio contendo celulose microcristalina (1 %), com 24, 48 e 72 h de incubação

Isolados	24 horas		48 horas		72 horas	
	Colônia (mm)	IAC*	Colônia (mm)	IAC*	Colônia (mm)	IAC*
<i>Aspergillus</i> T1S1	11	1,00	22	1,00	24	1,00
<i>Aspergillus</i> T1S2	6	1,00	13	1,00	15	2,17**
<i>Aspergillus</i> T1S3	11	1,00	22	1,77**	30	1,47
<i>Aspergillus</i> T1S4	14	1,00	40	1,23	32	1,25**
<i>Aspergillus</i> T1S5	7	1,00	22	1,18**	29	1,03
<i>Aspergillus</i> T2S6	7	1,00	44	1,16**	52	1,13
<i>Aspergillus</i> T2S7	13	1,69**	46	1,15	52	1,21
<i>Aspergillus</i> T2S8	1	1,00	22	1,27	28	1,18
<i>Aspergillus</i> T2S9	14	1,29	21	1,67**	27	1,22
<i>Aspergillus</i> T2S10	8	1,00	15	1,00	19	1,00
<i>Aspergillus</i> T2S11	8	1,00	9	1,00	12	1,00

“...continua...”

“TABELA 9. Cont.”

<i>Aspergillus</i> T3S12	9	3,56**	12	1,00	26	1,00
<i>Aspergillus</i> T3S13	6	1,00	18	1,17	25	1,20**
<i>Aspergillus</i> T3S14	11	1,00	22	1,55	23	1,74**
<i>Aspergillus</i> T3S15	28	1,14	45	1,38**	52	1,37
<i>Aspergillus</i> T3S16	27	1,11	49	1,16	56	1,21**
<i>Aspergillus</i> T3S17	10	1,00	23	1,00	34	1,00
<i>Aspergillus</i> T3S18	9	1,00	10	1,00	25	1,00
<i>Aspergillus</i> T4 S19	16	1,00	32	1,00	54	1,00
<i>Aspergillus</i> T5S20	10	1,00	20	1,45**	27	1,22
<i>Aspergillus</i> T5S21	11	1,00	15	2,33**	59	1,00
<i>Aspergillus</i> T5S22	9	1,00	31	1,13	45	1,53**
<i>Aspergillus</i> T5S23	11	1,00	22	1,00	41	1,20**
Médias	11,17	1,13 A	25	1,24 A	34,22	1,22 A

Médias de IAC seguidas da mesma letra na mesma linha não diferem pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis com $p > 0,05$.

Nota: *IAC 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.

S= Suco ruminal

Nesta pesquisa foi possível observar grande variabilidade entre os índices de atividade celulolítica para os 23 isolados de *Aspergillus* spp. provenientes do fluido ruminal, nos diferentes tempos avaliados (Tabela 9). Essa variação poderia ser justificada pelas diferenças genéticas entre as espécies e cepas desse gênero analisadas neste estudo. Para os três tempos avaliados foi verificado que dezesseis isolados do gênero *Aspergillus* apresentaram IAC superior a um, considerado bom índice para produção de enzimas celulolíticas (TEATHER; WOOD, 1982). O isolado *Aspergillus* T3S12 correspondeu ao fungo com maior índice (3,56) após 24 h de incubação, revelando elevado potencial para o desenvolvimento de probióticos ou prebióticos e para microbiologia industrial na produção de celulasas (Tabela 9). Entretanto, futuras pesquisas devem identificar e caracterizar geneticamente esse isolado e outros isolados avaliados nesta pesquisa para favorecer a melhor aplicabilidade desses microrganismos, evitando-se também possíveis efeitos tóxicos ou patogênicos (CASADEVALL, 2007).

Ao se avaliar isolados para selecionar como bons produtores de enzima celulolítica, não se deve utilizar apenas o índice de atividade celulolítica (IAC), mas também o crescimento do isolado no meio de cultura. Ruegger e Tauk-Tornisielo (2004), ao analisarem a atividade celulolítica de *Penicillium herquei*, observaram diâmetro de colônia de 2 mm e IA 6, enquanto *Trichoderma harzianum* apresentou diâmetro de colônia de 67 mm e IA de 1,1. O resultado indica que mesmos isolados com IA menor poderiam ter bom crescimento no meio com celulose e poderiam ser pesquisados quanto ao potencial biotecnológico.

Pesquisas que avaliaram a atividade celulolítica de bactérias anaeróbias isoladas a partir de amostras de fluido ruminal indicaram efetiva capacidade desses microrganismos em degradar a celulose microcristalina. Foram utilizadas as cepas de *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Clostridium cellobioparum*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Bacteroides succinogenes* e *Eubacterium cellulosolvens* (TEATHER; WOOD, 1982). Entretanto, os

halos de degradação de celulose desses microorganismos foram menores do que os dos fungos avaliados neste presente estudo. Por outro lado, os halos das bactérias foram aproximadamente de 1,5 mm às 16 h de incubação, com aumento semanal de um a dois milímetros, e os fungos avaliados nesta pesquisa apresentaram diâmetro médio de 25 mm após 48 horas de incubação (Tabela 9).

A Tabela 10 demonstra as médias dos índices de atividade celulolítica, após 24, 48 e 72 horas, de isolados de *Aspergillus* spp. provenientes das fezes de ovinos alimentados com feno da folha de bananeira em substituição ao feno de *Cynodon* ssp.. Para os três tempos de incubação, não houve diferença nas médias de IAC entre os tratamentos para o gênero avaliado ($p>0,05$).

TABELA 10. Atividade celulolítica de isolados de *Aspergillus* spp. provenientes das fezes de ovinos alimentados com feno da folha de bananeira após o cultivo em meio contendo celulose microcristalina (1 %) com 24, 48 e 72 h de incubação

Isolados	24 horas		48 horas		72 horas	
	Colônia (mm)	IAC*	Colônia (mm)	IAC*	Colônia (mm)	IAC*
<i>Aspergillus</i> T1F1	12	1,00	18	1,00	43	1,12**
<i>Aspergillus</i> T1F2	1	1,00	5	1,00	46	1,39**
<i>Aspergillus</i> T4F3	10	1,00	15	2,00**	23	1,52
<i>Aspergillus</i> T4F4	7	1,00	33	1,06	43	1,07**
<i>Aspergillus</i> T5F5	5	1,00	22	1,18**	30	1,13
<i>Aspergillus</i> T5F6	7	1,00	9	1,00	18	1,00
<i>Aspergillus</i> T5F7	10	1,20	21	1,67**	32	1,28
Médias	6,67	1,03 A	17,57	1,27 A	33,57	1,22 A

Médias de IAC seguidas da mesma letra na mesma linha não diferem pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis com $p > 0,05$.

Nota: *IAC 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.

F= Fezes

Analisando os resultados dos índices de atividade celulolítica de *Aspergillus* spp. oriundos das fezes de ovinos alimentados com feno da folha de bananeira em substituição ao feno de *Cynodon* spp. para os três tempos de incubação, pôde-se observar que seis isolados apresentaram índice de atividade celulolítica maior que um (Tabela 10). Esses isolados apresentam potencial biotecnológico para a produção de enzimas e para o desenvolvimento de probióticos e prebióticos (PINTO *et al.*, 2001). O papel ecológico ou patogênico destes microrganismos também deve ser considerado, visando a melhoria e saúde dos ovinos.

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. 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 (Tanzania). Foi constatado 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 ovinos poderá ser também utilizada como suplementação alimentar para ruminantes, melhorando a digestibilidade.

A comparação da atividade celulolítica nos tempos de 24, 48 e 72 horas, avaliada especificamente para o gênero *Paecilomyces*, está demonstrada na (Tabela 11). Para os três tempos de incubação não houve diferença nas médias de IAC entre os tratamentos para o gênero avaliado ($p>0,05$).

TABELA 11. Atividade celulolítica de isolados de *Paecilomyces* spp. provenientes do trato gastrointestinal de ovinos alimentados com feno da folha de bananeira após o cultivo em meio contendo celulose microcristalina (1 %) com 24, 48 e 72 h de incubação

Isolados	24 horas		48 horas		72 horas	
	Colônia (mm)	IAC*	Colônia (mm)	IAC*	Colônia (mm)	IAC*
<i>Paecilomyces</i> T1S1	2	1,00	13	1,00	21	1,00
<i>Paecilomyces</i> T2S2	34	1,09*	79	1,00	82	1,00
<i>Paecilomyces</i> T5S3	1	1,00	29	1,00	34	1,00
<i>Paecilomyces</i> T2F1	3	1,00	7	1,00	15	1,00
<i>Paecilomyces</i> T4F2	10	1,33	23	1,39	40	1,80*
<i>Paecilomyces</i> T5F3	9	1,11	15	1,40	28	2,18*
Médias	9,83	1,09 A	27,67	1,13 A	36,67	1,33 A

Médias de IAC seguidas da mesma letra na mesma linha não diferem pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis com ($p > 0,05$)

Nota: *IAC 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.

S= Suco ruminal

F= Fezes

Dos seis isolados do gênero *Paecilomyces* três apresentaram índice de atividade celulolítica superior a um, o que indica boa capacidade de degradação enzimática da celulase e aponta o potencial para as pesquisas desses isolados como aditivos ou probióticos, visto que não há relatos científicos de patologias associadas a esses fungos para animais e humanos (LACAZ *et al.*, 2002). Em estudo da microbiota do trato digestório de tainhas (*Aldrichetta forsteri*), verificou-se a presença da espécie *Paecilomyces lilacinus* que demonstrou a capacidade de desenvolver-se tanto em meio aeróbio quanto em meio anaeróbio. Constatou-se que o isolado dessa espécie promoveu maior produção enzimática de celulase na presença de oxigênio (MOUNTFORT; RHODES, 1991).

Em uma recente pesquisa, 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 celulases com unidade internacional (UI) mL⁻¹ de extrato enzimático maior que 0,04 (BASSO *et al.*, 2010). Esses resultados ratificam os dados encontrados nesta pesquisa, pois três fungos do gênero *Paecilomyces* isolados do trato gastrointestinal apresentaram bom índice de atividade celulolítica (AC) com IA de 1,09, 1,80 e 2,18.

Esses dados indicam a importância de se avaliar o potencial biotecnológico dos microrganismos isolados nesta pesquisa, seja para o controle de diferentes agentes de doenças microbianas ou parasitárias ou para aditivos na nutrição de ruminantes. Contudo, o papel patogênico e toxicológico deve ser também considerado tanto para saúde animal como a saúde humana.

4 CONCLUSÕES

Os dados obtidos a partir do exame micológico direto indicaram a presença de estruturas fúngicas com características compatíveis com fungos do gênero *Caecomyces* e *Neocallimastix*.

Fungos do gênero *Aspergillus* são predominantes entre os isolados provenientes do rúmen e das fezes de ovinos alimentados com feno da folha da bananeira e feno de *Cynodon* sp..

A população de fungos micelianos isolados em meio com celulose como única fonte de carbono é menor para ovinos alimentados com feno da folha da bananeira substituindo 75 % do feno de *Cynodon* sp.

Entre os isolados desses microrganismos, 69,44 % apresentam atividade celulolítica superior a um, o que indica boa capacidade para degradação da celulose e elevado potencial para o desenvolvimento de probióticos ou prebióticos na alimentação de ruminantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRÃO, F. O. *et al.* Fungos anaeróbios do rúmen de bovinos e caprinos de corte criados em pastagens tropicais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootenia**, Belo Horizonte, v. 62, n. 3, p. 757-760, jun. 2010.
- ALMEIDA, P. N. M. *et al.* Fungos aeróbicos no líquido ruminal de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes de forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 41, n. 11, p. 2336-2342, 2012.
- ANKUR, T. *et al.* *In vitro* degradation of wheat straw by anaerobic fungi from small ruminants. **Archives of Animal Nutrition**, Montreux, v. 60, p. 412-417, 2006.
- ARAÚJO, E. H. **Contribuição para o estudo do cultivo de *Aspergillus niger* NRRL 337 em meio contendo farinha de mandioca como principal fonte de carbono: influência do pH e da temperatura no cultivo realizado em fermentador.** 1979. Dissertação (Mestrado em Engenharia)-Universidade Federal de Uberlândia, 1979.
- BARRETO-BERGTER, E. *et al.* The opportunistic fungal pathogen *Scedosporium prolificans*: carbohydrate epitopes of its glycoproteins. **International Journal of Biological Macromolecules**, Guildford, v. 42, p. 93-102, 2008.
- BASSO, T. P.; GALLO, C. R.; BASSO, L. C. Atividade celulolítica de fungos isolados de bagaço de cana-de-açúcar e madeira em decomposição. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, p. 1282-1289, 2010.
- BIENVENU, A. L. *et al.* Un cas d'otite externe compliquee d'une osteolyse due a *Scedosporium apiospermum*. **Journal of Medical Mycology**, San Diego, v. 19, n. 2, p. 129-133, June 2009.
- BRAGA, F. R. *et al.* Efeito do fungo *Paecilomyces lilacinus* sobre ovos de *Taenia saginata*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, p. 686-688, 2008.
- CASADEVALL, A. Determinants of virulence in the pathogenic fungi. **Fungal Biology Reviews**, San Diego, v. 21, n. 4, p. 130-132, Nov. 2007.
- CASTILLO, F. *et al.* *In vitro* antifungal activity of plant extracts obtained with alternative organic solvents against *Rhizoctonia solani* Kühn. **Industrial Crops and Products**, San Diego, v. 32, n. 3, p. 324-328, Nov. 2010.

CHAUDHRY A. S. Microscopic studies of structure and ruminal fungal colonization in sheep of wheat straw treated with different alkalis. **Anaerobe**, San Diego, v. 6, n. 3, p. 155-161, June 2000.

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. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 140, p. 67-77, 2008.

DIRKSEN, G. Sistema digestivo. In: DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. (Eds.). **Rosenberger**: exame clínico dos bovinos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. p. 167-169.

DUARTE, E. R. *et al.* Fungos anaeróbios do rúmen de bezerras e vacas leiteiras alimentadas com diferentes volumosos tropicais. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 3, p. 260-266, 2013.

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. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, New York, v. 34, p. 347-355, 2011.

_____. *et al.* Optimization of Fibrolytic Enzyme Production by *Aspergillus Japonicus* C03 With Potential Application in Ruminant Feed and Their Effects on Tropical Forages Hydrolysis. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, New York, v. 34, p. 1027-1038, 2011.

FLIPPPI, M. *et al.* Biodiversity and evolution of primary carbon metabolism in *Aspergillus nidulans* and other *Aspergillus* spp. **Fungal Genetics and Biology**, Orlando, v. 46, p. 19-44, 2009.

FREITAS, C. E. S. *et al.* Fungos aeróbios no intestino grosso de borregos e de ovelhas criados em pastagens tropicais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 64, n. 1, p. 225-227, 2012.

ORDON, G. L. R.; PHILLIPS, M. W. Extracellular Pectin Lyase Produced by *Neocallimastix* sp. LM1, a Rumen Anaerobic Fungus. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 15, n. 3, p. 113-115, 1992.

GRENET, E. *et al.* Kinetics study of the degradation of wheat straw and maize stem by pure cultures of anaerobic fungi observed by scanning electron microscopy. Asian- Australian, **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 2, n. 1, p. 456-457. 1989.

- GUARRO, J.. *et al.* A case of colonization of a prosthetic mitral valve by *Acremonium strictum*. **Revista Iberoamericana de Micologia**, Barcelona, v. 26, p. 146-148, 2009.
- HIERMANN, A.; KARTNIG, T. H.; AZZAM, S. Ein Beitrag zur quantitativen Bestimmung der Procyanidine in *Crataegus*. **Scientia Pharm**, Wien, v. 54, p. 331-337, 1986.
- KAVANAGH, K. **Fungi: biology and applications**. Chichester: John Wiley and Sons Editors, 2005. 267 p.
- KANIFE, U. C.; ODESANMI, O. S.; DOHERTY, V. F. Phytochemical Composition and Antifungal properties of Leaf, Stem and Florets of *Panicum maximum* Jacq. (Poaceae). **International Journal of Biology**. Toronto, v. 4, n. 2, p. 64-69, 201
- KURTZMAN, C. P; FELL, J. W. **The yeasts: a taxonomic study**. 4. ed. Amsterdam: Elsevier, 1998. 1055 p.
- LACAZ, C. S. *et al.* **Guia para identificação de fungos actinomicetos e algas de interesse médico**. 8. ed. São Paulo: Sarvier, 1998. 320 p.
- LACAZ, C. S. *et al.* **Tratado de micologia médica Lacaz**. 9. ed. São Paulo: Sarvier, 2002. 1104 p.
- LOPES, V. R. O. *et al.* Análise enzimática de fungos isolados de solo de manguezal. In: ENCONTRO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO, 9., Fortaleza, 2009. **Anais...** Fortaleza: CONPEDI, 2009. 1 CD-ROM.
- MARIE-MAGDELEINE, C. *et al.* In vitro effects of *Musa x paradisiaca* extracts on four developmental stages of *Haemonchus contortus*. **Research in Veterinary Science**, London, v. 96, p. 127-132, 2014.
- MCALLISTER, T. A. *et al.* Enzymes in ruminant diets. In: BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. (Eds.). **Enzymes in farm animal nutrition**. Oxon: Cab International, 2001. p. 273-298.
- MCSWEENEY, C. S. *et al.* Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 91, p. 83-93, 2001.
- MOUNTFORT, D. O.; RHODES, L. L. Anaerobic growth and fermentation characteristics of *Paecilomyces lilacinus* isolated from mullet gut. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 57, p. 1963-1968, 1991.

NAGARAJA, T. G.; NEWBOLD, C. J.; VAN NEVEL, C. J. Manipulation of ruminal fermentation. In: HOBSON, P. N.; STEWART, C. S. (Eds.). **The Rumen Microbial Ecosystem**. London: Chapman and Hall, 1997. p. 523-632.

NOORAE, S. E. *et al.* Characterization of *Kluyveromyces marxianus* as a potential feed additive for ruminants. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 50, p. 578-584, 2010.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. NRC. **Nutrient requirements of small ruminants**. Washington, D. C.: National Academy Press, 2007. 362 p.

OLIVEIRA, J. S.; ZANINE, A. M.; SANTOS, E. M. Diversidade microbiana no ecossistema ruminal. **Revista Eletrônica de Veterinária**, Andaluçia, v. 8, n. 6, jun. 2007.

OYELEKE, S. B.; OKUSANMI, T. A. Isolation and characterization of cellulose hydrolyzing microorganism from the rumen of ruminants. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 7, p. 1530-1504, 2008.

PATRA, A. K.; SAXENA, J. Dietary phytochemicals as rumen modifiers: a review of the effects on microbial populations. **Antonie Van Leeuwenhoek**, Amsterdam, v. 96, p. 363-375, 2009.

PINTO, G. A. S. *et al.* Selection of Tannase-Producing *Aspergillus Niger* Strains. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 32, p. 24-26, 2001.

REMBRANDT, D. *et al.* Degradation of Structural Polysaccharides by the Plant Cell-Wall Degrading Enzyme System from Anaerobic Fungi. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 2, p. 130-136, 1997.

RUEGGER, M. J. S.; TAU-K-TORNISIELO, S. M. Atividade da celulase de fungos isolados do solo da Estação Ecológica de Juréia-Itatins, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 27, p. 205-211, 2004.

SAEG. **Sistema para análises estatísticas**: versão 9.1.: Fundação Arthur Bernardes. Viçosa: UFV, 2007.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 2. ed. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 263 p.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análises de alimentos**: métodos químicos e biológicos. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 2002. 235 p.

STEWART, C. S. Plant-Animal and Microbial Interactions in Ruminant Fibre Degradation. In: PRINS, R. A., STEWART, C. S. (Eds.). **Micro-organisms in ruminant nutrition**. Dalfsen: Nottingham University Press, 1994. cap. 2, p.13-28.

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**, Washington, v. 43, p. 777-780, 1982.

TRICARICO, J. M.; JOHNSTON, J. D.; DAWSON, K. A. Dietary supplementation of ruminant diets with an *Aspergillus oryzae* α -amylase. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 145, p. 136-150, 2008.

XIMENES, E. Fungos anaeróbios. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Rio Grande, v. 2, n. 2, p. 269-275, 2003.