



## Fungos do trato digestório de ovinos melhoram a digestibilidade *in vitro* da torta de macaúba

Valdo Soares Martins Júnior<sup>1\*</sup>, Lavínia Francine Xavier Santos<sup>1</sup>, Neyller Lima Figueiredo<sup>1</sup>, Júlia Crawford Fernandes Lucas<sup>1</sup>, Camille de Souza Veloso<sup>2</sup>, Julia de Melo Viana<sup>2</sup> e Eduardo Robson Duarte<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Discente no Programa de Pós-Graduação em Produção Animal – Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG – Montes Claros/MG – Brasil – \*Contato: valdo-soares1@hotmail.com

<sup>2</sup>Discente do Curso de Graduação em Zootecnia – Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG – Montes Claros/MG – Brasil

<sup>3</sup>Docente do Curso de Zootecnia – Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG – Montes Claros/MG – Brasil

### INTRODUÇÃO

Com o constante aumento dos preços dos ingredientes que compõem a formulação concentrada da dieta de ruminantes, a procura por ingredientes alternativos, que mantenham o desempenho dos animais associado à redução do custo, tem se intensificado<sup>1,2</sup>. Coprodutos podem ser empregados como alternativa na substituição dos ingredientes nas dietas para animais de produção e podem ser empregados como substitutos de forma total ou parcial dos ingredientes comumente utilizados<sup>3,4</sup>.

A torta de macaúba (TM), resíduo da extração do óleo da casca e polpa do fruto da palmeira (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. Ex Mart.), é um coproduto encontrado em regiões semiáridas do território brasileiro. Análises preliminares demonstram que esse coproduto pode ser utilizado na alimentação de ruminantes devido ao seu alto teor de fibra em detergente neutro e extrato etéreo; entretanto um dos entraves para a utilização está relacionado ao elevado teor de lignina, que pode chegar a valores superiores a 10% da matéria seca<sup>5,6</sup>.

Os fungos que colonizam o rúmen possuem papel substancial na digestão de materiais fibrosos, degradando os polissacarídeos mais complexos<sup>7</sup>. Estudos comprovam que dietas contendo altas proporções de fibras estimulam o desenvolvimento de populações fúngicas no ambiente ruminal, uma vez que a degradação dos componentes lignocelulolíticos da dieta dos ruminantes se dá pela atividade mecânica e enzimática desempenhada pelos fungos desse ecossistema<sup>7,8</sup>. Neste estudo, o objetivo foi avaliar a digestibilidade *in vitro* desse coproduto inoculado com isolados de fungos celulolíticos provenientes do trato digestório de ovinos.

### METODOLOGIA

Os fungos selecionados para serem utilizados nesta etapa foram da espécie *P. lilacinus*, *T. longibrachiatum*, ambos isolados do rúmen de ovinos criado em pastagens tropicais e foram escolhidos pois apresentaram melhores índices de degradação da torta de macaúba e elevada produção de biomassa fúngica em teste anteriores, além de serem isolados que não produzem micotoxinas.

Para o ensaio de digestibilidade *in vitro* foram coletados o conteúdo ruminal de cinco carneiros ¾ Dorper x Santa Inês, com aproximadamente 5,5 meses de idade e 35 kg de peso corporal. Esses animais foram alimentados com uma dieta formulada para atender o requerimento de nutrientes para animais jovens com um ganho médio diário de 350 gramas/dia<sup>9</sup>, contendo 40% de volumoso e 60% de concentrado e mistura mineral.

Os animais foram abatidos no frigorífico com inspeção nacional seguindo todos os protocolos de bem-estar animal exigidos pela legislação vigente. Após a coleta, e antes de iniciar o processo de digestibilidade *in vitro*, foram realizadas análises físico-químicas do líquido ruminal<sup>10</sup>, sendo obtidos como resultado tempo de redução de azul de metileno, média de 1 minuto, coloração castanho oliva, valor médio de pH correspondente a 6,2, odor aromático e viscosidade espessa resultando em um diagnóstico de um suco ruminal muito ativo.

Para preparação dos inóculos, os fungos foram cultivados em caldo Sabouraud Dextrose (KASVI®, Terámo, Itália) a 39°C durante 48h

e padronizados na concentração aproximada de 10<sup>7</sup> unidades formadoras de colônias UFC/mL.

Foram avaliados os coeficientes de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e da fibra em detergente neutro (DIVFDN) da torta de macaúba, segundo a metodologia relatada por Tilley e Terry<sup>11</sup> e as modificações descritas por Holden<sup>12</sup>, utilizando simulador ruminal (TE-150, TECNAL Equipamentos Científicos, São Paulo, Brasil).

Esse aparelho é composto por quatro câmaras de vidro (2,500 mL) para incubação a 39°C e rotação constante. Cada câmara recebeu um dos tratamentos, contendo dez saquinhos Ankon F-57 com 0,5 gramas da torta de macaúba moída e padronizada a 1mm de diâmetro<sup>13</sup>. Em cada câmara fermentativa foi inoculado 100 mL de caldo Sabouraud estéril (controle) ou contendo inóculos com a concentração de 10<sup>7</sup> UFC/mL do *Trichoderma longibrachiatum*, *Paecilomyces lilacinus* ou a mistura dos fungos (MIX) contendo 50 mL de cada um dos isolados.

As amostras foram incubadas com cada inóculo e o líquido ruminal acrescido de solução tampão de McDougall por 48 horas (proporção 1:3). Após esse período, foram adicionados pepsina e ácido clorídrico, para simulação da digestão química e incubou-se por mais 24 horas. Ao final desse processo os saquinhos foram lavados com água destilada, secos em estufa de circulação forçada a 55° C por 24 horas, posteriormente em estufa de 105° C por duas horas e pesados.

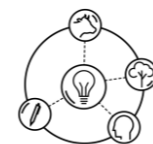
Para determinação da DIVFDN, os saquinhos lavados foram encaminhados ao digestor para fibras em sacos de extração (MA 444/CI, Marconi Equipamentos para Laboratório LTDA, São Paulo, Brasil) em solução de FDN durante uma hora a 90°C, seguida de duas lavagens com água destilada por 10 minutos e acetona por 15 minutos (AOAC, 1997, método 973.18). Posteriormente foram desidratados em estufa de circulação forçada de ar a 55°C por 24 horas e 2 horas em estufa a 105°C, para obter o peso seco. A fórmula utilizada para se obter a %DIVFDN foi a mesma para se determinar a %DIVMS, fazendo as substituições dos valores<sup>14</sup>.

Para o ensaio de digestibilidade *in vitro*, após teste de normalidade e homogeneidade, os dados dos coeficientes de digestibilidades foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Skott – Knott. As diferenças foram consideradas significativas quando p<0,05. Os dados foram analisados utilizando o Sistema para Análises Estatísticas, SAEG, Versão 9.1.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A DIVMS da TM variou de 44,70 a 53,53%. Entretanto, a inoculação do fluido ruminal com a mistura dos isolados de *T. longibrachiatum* e *P. lilacinus* proporcionou maior DIVMS deste coproduto. A DIVFDN foi influenciada pela utilização dos inoculantes, que proporcionaram maiores médias quando comparado a fermentação sem o uso desses fungos (**Tabela 1**, p <0,01).

# XI Colóquio Técnico Científico de Saúde Única, Ciências Agrárias e Meio Ambiente



**Tabela 1:** Digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e da fibra em detergente neutro (DIVFDN) da TM inoculada com fungos micelianos provenientes do trato digestório de ovinos (Fonte autoral)

Inóculos	DIVMS (%)	dp	DIVFDN (%)	dp
Controle sem Fungo	44,70 c	3,20	32,22 b	6,32
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	50,21 b	2,52	43,55 a	2,97
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	49,67 b	3,10	41,26 a	2,37
MIX de fungos	53,53 a	2,64	44,63 a	2,02

Médias seguidas por diferentes letras indicam diferença significativa pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. dp= Desvio padrão.

Nesta pesquisa, a maior taxa de DIVMS e DIVFDN observada com a inoculação dos isolados de *T. longibrachiatum* e *P. lilacinus* em relação àquela encontrada para o grupo que não recebeu os inoculantes (Tabela 1), corrobora com os estudos realizados por Schons<sup>15</sup> que ao inocular farelo de sorgo com *P. variotii* constatou produção 1,87 U/mL de tanase, o que pode proporcionar uma melhoria no valor nutritivo deste material, aumentando seu aproveitamento pelos animais. Nurudeen<sup>16</sup> avaliaram produção de carboximetilcelulase por *T. longibrachiatum* utilizando a biomassa de sorgo forrageiro, e verificaram produção de 1,82 U/mL dessa enzima. Desta forma, neste presente estudo, a maior produção dessas enzimas poderia ter contribuído para a melhor degradação da TM. O incremento na digestibilidade da torta de macaúba em 19,75% com a inclusão do MIX dos fungos *T. longibrachiatum* e *P. lilacinus* estaria atribuído à melhor degradação da fração fibrosa e proteína bruta desse coproduto pela ação de hidrólise das enzimas dos dois fungos, disponibilizando para os microrganismos do fluido ruminal os nutrientes prontamente digestíveis presentes no coproduto.

Os resultados observados evidenciam o potencial da utilização desses isolados fúngicos como aditivo microbiano em dieta de ruminantes alimentados com coprodutos e corrobora com outros estudos que avaliaram a inclusão de extratos enzimáticos fúngicos na digestibilidade de ingredientes fibrosos. Morgavi<sup>17</sup> ao analisar as interações entre enzimas ruminais e os complexos enzimáticos sintetizados pelo *T. longibrachiatum* em dieta de bovinos, constataram sinergismo entre as enzimas, sendo possível observar aumento da hidrólise da celulose, xilana e da silagem de milho em 35, 100 e 40%, respectivamente.

A suplementação de enzimas fúngicas também tem favorecido a digestibilidade *in vivo* de dietas com alto teores de fibra na sua composição. A suplementação exógena de xilanase e glucanase produzidas por fungos do gênero *Trichoderma* spp. em dietas de caprinos promoveu o incremento de 10% da DIVMS de dietas formuladas com 30% de palha de arroz<sup>18</sup>. Resultados semelhantes foram reportados para búfalos alimentados com silagem *Avena sativa* e suplementados com celulasas e xilanasas secretadas por *Trichoderma reesei*, constatando aumento de digestibilidade *in vivo* em 17,5%<sup>19</sup>.

Estudos que avaliaram a utilização de fungos do gênero *Paecilomyces* como aditivo microbiano melhorador da digestibilidade de ingredientes que compõe a dieta de ruminantes não são encontrados na literatura. O uso desse fungo ou suas enzimas é comumente empregado para controle biológico de nematódeos e como componentes do processo de compostagem e degradação de componentes orgânicos<sup>20</sup>.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A adição do MIX de isolados de *T. longibrachiatum* e *P. lilacinus* eleva a DIVMS da TM. Dessa forma, a inclusão desses fungos

apresenta potencial para elaboração de probiótico ou aditivo microbiano para ovinos alimentados com ingredientes com alto teor de fibras e extrato etéreo. Futuros estudos devem avaliar o desempenho de borregos alimentados com torta de Macaúba e suplementados com o MIX de fungos isolados do ambiente ruminal.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- PIMENTEL, P. G., *et al.*, 2012. Parâmetros da fermentação ruminal e concentração de derivados de purina de vacas em lactação alimentadas com castanha de caju. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 64, 959-966.
- SILVA, R. V. M. M., *et al.*, 2016. Cottonseed cake in substitution of soybean meal in diets for finishing lambs. Small Rumin. Res., 137, 183-188.
- AZEVEDO, R. A., *et al.*, 2014. Desempenho de vacas em lactação alimentadas com dietas contendo torta de macaúba. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 66, 211-218.
- NICORY, I. M. C., *et al.*, 2015. Productive and metabolic parameters in lambs fed diets with castor seed meal. Livest. Sci., 181, 171-178.
- AZEVEDO, R. A. D., *et al.*, 2012. Desempenho de cordeiros alimentados com inclusão de torta de macaúba na dieta. Pesqui. Agropecu. Bras., 47, 1663-1668.
- RIGUEIRA, J. P. S., *et al.*, 2017. Composição química e digestibilidade *in vitro* de tortas da macaúba. RUC., 19, 62-72.
- WEI, Y. Q., *et al.*, 2016. Isolation, identification and fibrolytic characteristics of rumen fungi grown with indigenous methanogen from yaks (*Bos grunniens*) grazing on the Qinghai-Tibetan Plateau. J. Appl. Microbiol., 120, 571-587.
- ABRÃO, F. O.; *et al.*, 2014. Characterization of fungi from ruminal fluid of beef cattle with different ages and raised in tropical lignified pastures. Curr. Microbiol. 69, 649-659.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. NRC. 2007 Nutrient requirements of small ruminants. Washington, D. C.: National Academy Press, 2007. 362.
- DIRKSEN, G., 1993. Sistema digestivo. In: Dirksen, G., Gründer, H.D., Stöber, M. (Eds.), Rosenberger: Exame Clínico Dos Bovinos. Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, 167-169.
- TILLEY, J. M. A., e TERRY, D. R., 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. Grass Forage Sci, 18, 104-111.
- HOLDEN, L. A., 1999. Comparison of methods of *in vitro* dry matter digestibility for ten feeds. J. Dairy Sci., 82, 1791-1794.
- NOCEK, J. E., e RUSSELL, J., 1988. Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. J. Dairy Sci., 71, 2070-2107.
- ANKOM, TECHNOLOGY. Method 3: *In vitro* true digestibility using the DAISYII Incubator., 2014.
- SCHONS, P. F., *et al.*, 2012. Fermentation and enzyme treatments for sorghum. Braz. J. Microbiol., 43, 89-97.
- NURUDEEN, O. O., *et al.*, 2015. Cellulase and Biomass Production from Sorghum (*Sorghum guineense*) Waste by *Trichoderma longibrachiatum* and *Aspergillus terreus*. J. Microbiol. Res., 5, 169-174.
- MORGAVI, D. P., *et al.*, 2000. Synergy between ruminal fibrolytic enzymes and enzymes from *Trichoderma longibrachiatum*. J. Dairy Sci., 83, 1310-1321.
- YUANGKLANG, C., *et al.*, 2017. Growth performance and macronutrient digestion in goats fed a rice straw based ration supplemented with fibrolytic enzymes. Small Rumin. Res., 154, 20-22.
- NAWAZ, H., *et al.*, 2016. Effect of feeding xylanase and cellulase treated oat silage on nutrient digestibility, growth performance and blood metabolites of Nili Ravi buffalo calves. Pak. J. Agric. Sci., 53, 999-1004.
- HUSSAIN, A., *et al.*, 2012. Cellulolytic Enzymatic Activity of Soft Rot Filamentous Fungi *Paecilomyces variotii*. Adv. Biores., 3, 10-17.

## APOIO:

Este projeto foi apoiado por bolsas da Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais do Brasil (FAPEMIG) (projeto APQ-03221-21).

**XI Colóquio Técnico Científico de Saúde Única,  
Ciências Agrárias e Meio Ambiente**

