

Atividade celulolíticas de fungos isolados de solo e de pastagens tropicais

Cellulolytic activity of fungi isolated from soil and tropical pasture

Actividad celulolítica de los hongos aislados del suelo y pastos tropicales

Jaqueline Maria Nascimento, Emanuely Gomes Alves Mariano, Brenda Karoline Alcantara Faria, Edvaldo Alves Vieira, Luciana Castro Geraseev e Eduardo Robson Duarte*

Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais. Montes Claros, Minas Gerais, Brasil.
*Correio eletrônico: duarvet@hotmail.com

RESUMO

Pastagens cultivadas representam a base da alimentação de ruminantes em regiões tropicais. No entanto, por falta de manejo adequado apresentam níveis elevados de carboidratos estruturais lignificados que reduzem a digestibilidade. Objetivou-se avaliar a atividade celulolítica de fungos micelianos isolados de solo e de pastagens, na estação de seca. Foram avaliados 14 isolados de fungos micelianos provenientes do solo e cinco isolados de pastagens. Fragmentos de colônia foram inoculados no centro de placas de Petri contendo meio C com celulose em triplicata. As leituras de halos de colônias e de halos de degradação foram realizadas após 24, 48 e 72 horas de incubação, utilizando-se vermelho congo. Com o microcultivo, verificou-se que todos os isolados apresentaram características compatíveis com as do gênero *Aspergillus*. Os índices de atividade celulolítica (IAC) foram similares entre isolados de fungos das pastagens e dos solos. Entretanto, constatou-se que esses índices foram significativamente maiores para o tempo de 72 horas de incubação em relação aos demais tempos testados. Nove isolados apresentaram IAC superior a dois, demonstrando maior habilidade de degradação desse carboidrato. Os fungos isolados do solo e das pastagens apresentaram resultados satisfatórios quanto à atividade de celulase, apresentando potencial para aditivos microbianos na alimentação de ruminantes e para a produção industrial dessa enzima.

Palavras-Chave: *Aspergillus* sp., celulases, *Brachiaria* spp., semiárido.

Recibido: 07/03/16 Aprobado: 22/11/17

ABSTRACT

Cultivated pastures represent the staple diet of ruminants in tropical regions. However, in inadequate managements has high levels of lignified structural carbohydrates, which reduce their digestibility. This study aimed to evaluate the cellulolytic activity of mycelial fungi isolated from soil or pastures during dry season. Fourteen isolates from soil and five of grass were evaluated and colony fragments were inoculated at center of Petri plates containing agar C with cellulose, in triplicate. The diameters of fungi colonies and degradation halos were verified after 24, 48 and 72 hours of incubation, using Congo red. After microculture tests, all the isolates were compatible with *Aspergillus* genus. The indices of cellulolytic activity (ICA) of fungi isolated from pasture and soil were similar. Nevertheless these indices were higher for the 72h of incubation than other evaluated periods. Nine isolates showed (ICA) ≥ 2 , indicating better ability to cellulose degradation. These fungi isolates from soil and pastures showed satisfactory results to cellulase activity, with potential for microbial additives in ruminant feed and for industrial production of this enzyme.

Keywords: *Aspergillus* sp., cellulases, *Brachiaria* spp., semiarid.

RESUMEN

Los pastos cultivados representan la dieta básica de los rumiantes en las regiones tropicales. Sin embargo, por manejo inadecuado muestran altos niveles de carbohidratos estructurales lignificados, que dificulta su digestibilidad. En esta investigación el objetivo fue evaluar la actividad celulolítica de hongos filamentosos aislados del suelo o pastos durante la estación seca. Catorce aislamientos de suelo y cinco de pastos fueron evaluados. Fragmentos de colonias fueron inoculados en el centro de las placas de Petri que contiene medio C con celulosa, en triplicado. Estos procedimientos fueron realizados con tres repeticiones. Las lecturas de los diámetros de las colonias y de los halos de degradación se realizaron después de 24, 48 y 72 horas de incubación, utilizando rojo Congo. Después de las pruebas de microcultivo, los aislados fueron compatibles con el género *Aspergillus*. Los índices de actividad celulolítica (IAC) de los hongos aislados de los pastos y del suelo no mostraron diferencias estadísticas. Sin embargo, los IAC fueron mayores para las 72h de incubación, en comparación con otros periodos evaluados. Nueve aislados mostraron (ICA) ≥ 2 , lo que indica mejor capacidad de degradación de la celulosa. Los hongos aislados del suelo y pastos mostraron resultados satisfactorios para los ICA(s), con potencial para aditivos microbianos en la alimentación de rumiantes y para la producción industrial de esta enzima.

Palabras clave: *Aspergillus* spp., celulosas, *Brachiaria* spp., semiárido.

INTRODUÇÃO

A pecuária é atualmente uma das principais atividades econômicas de países tropicais, com a maior parte do rebanho criado a pasto (Soares *et al.*, 2010). As plantas que constituem as pastagens tropicais são exóticas e pertencem principalmente aos gêneros *Brachiaria*, *Panicum*, *Pennisetum*, por apresentarem maior capacidade de suporte e rápida rebrota nos períodos chuvosos, características imprescindíveis para eficiência nos sistemas de produção a pasto (Do Valle *et al.*, 2009). Essas pastagens produzem grande quantidade de massa seca. Entretanto, um dos problemas que interferem negativamente é sazonalidade,

devido a condições de baixa umidade durante a estação seca do ano (Barbosa e Santos, 2008).

O diferimento de pastagens é uma alternativa de manejo para minimizar a estacionalidade de pastagens, auxiliando na manutenção da alimentação dos animais na época da seca com baixos custos (Santos *et al.*, 2009). Contudo, a maior limitação das forragens nesse período é o baixo valor nutritivo e a baixa digestibilidade devido ao elevado teor de lignina, celulose e hemicelulose, além de outras frações indigestíveis, como cutícula e sílica, que reduzem o desempenho animal (Santos *et al.*, 2008; Silva *et al.*, 2015).

Pesquisas têm indicado que o tratamento com aditivos microbianos na alimentação de bovinos poderia favorecer a degradação de paredes celulares vegetais lignificadas promovendo melhor aproveitamento desses alimentos, reduzindo os custos de produção nesse período (Facchini *et al.*, 2011; Almeida *et al.*, 2014). Alguns fungos com a capacidade de hidrolisar a celulose promovem a desestruturação da parede celular vegetal e dessa forma os polissacarídeos são convertidos em açúcares, que são mais fáceis de serem digeridos, melhorando a absorção de nutrientes (Aguar e Ferraz, 2011; Auer *et al.*, 2014).

Pouco se conhece sobre a caracterização e o potencial de fungos de áreas de pastagens tropicais com potencial de degradação da parede celular vegetal. Fungos com elevada capacidade de degradação de celulose poderiam contribuir para elaboração de produtos que poderiam melhorar a digestibilidade de pastagens lignificadas. Nesta pesquisa, avaliou-se a atividade celulolítica de fungos micelianos provenientes de solo e de pastagens tropicais no período de seca de região semiárida.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado na região de Montes Claros, Norte de Minas Gerais (longitude de 43°53'W, latitude de 16°43'S e 650m de altitude). O clima do local, pela classificação de *Koppen*, é do tipo tropical de Savana (Aw), sendo o verão curto chuvoso e um longo período seco com média anual de 24,2°C e precipitação média anual de 1029 mm.

As amostras de solo e de pastagens compostas pelas espécies, *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, *Panicum maximum* cv. Tanzania e *Brachiaria mutica* foram coletadas na estação de seca entre os meses de agosto a novembro dos anos de 2012 e 2013. Em cada piquete, subamostras foram obtidas em locais aleatórios e equidistantes, coletando-se 10 subamostras com aproximadamente 10 gramas. Essas amostras foram homogeneizadas e retirou-se uma amostra composta de 30 gramas para representar cada piquete das quatro fazendas avaliadas (Tabela 1). Amostras de solo foram coletadas com o auxílio de uma espátula estéril, sendo compostas por material retirados na camada superficial do solo, a aproximadamente 5cm de profundidade. As amostras de capim foram retiradas das touceiras que continham folhas secas e as folhas foram coletadas com o auxílio de uma tesoura estéril. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e transportadas para análises micológicas.

As diluições decimais seriadas de dez amostras de solo e dez de pastagens foram realizadas em tubos que continham 9 mL de solução salina estéril. As amostras diluídas foram

homogeneizadas durante 3 minutos em vortex e inoculou-se 100 µL em placas de Petri estéreis contendo 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%) e distribuídos de forma homogênea com o auxílio de *swab* (Almeida *et al.*, 2012). As placas foram incubadas na posição invertida em estufa BOD a 37 °C e monitoradas, observando crescimento de colônias fúngicas por até 21 dias (Lacaz *et al.*, 2002).

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

Foram avaliados 14 isolados de fungos micelianos provenientes do solo e cinco isolados de pastagens. Após crescimento exponencial, fragmentos de colônia foram inoculados no centro de placas de Petri (90 x 90 mm) contendo 15 mL de meio C, em triplicata. As placas foram incubadas em estufa BOD a 37 °C. As leituras de halos de colônias e de halos de degradação foram realizadas após 24, 48 e 72 horas

Tabela 1. Caracterização dos piquetes de pastagens em fazendas do Norte de Minas Gerais, avaliadas nesta pesquisa.

| Fazendas | Piquete | Pastagens | | Solo | |
|----------|----------------------------|-------------|----------|-------------|----------|
| | | Subamostras | Amostras | Subamostras | Amostras |
| 1 | Vacas | 10 | 1 | 10 | 1 |
| | Ovinos | 10 | 1 | 10 | 1 |
| | Vacas secas | 10 | 1 | 10 | 1 |
| 2 | Vacas leiteiras c/ bezerro | 10 | 1 | 10 | 1 |
| | Vacas leiteiras c/ bezerro | 10 | 1 | 10 | 1 |
| 3 | Vacas leiteiras 1 | 10 | 1 | 10 | 1 |
| | Vacas leiteiras 2 | 10 | 1 | 10 | 1 |
| | Vacas de corte c/ bezerras | 10 | 1 | 10 | 1 |
| 4 | Vacas de corte c/ bezerras | 10 | 1 | 10 | 1 |
| | Vacas de corte Solteiras | 10 | 1 | 10 | 1 |
| Total | | | 10 | | 10 |

conforme metodologia adaptada de Teather e Wood (1982).

Ao final de cada tempo foi adicionado às placas 10 mL de solução de vermelho congo (1 mg mL^{-1}), durante 15 minutos. Em seguida, as placas foram lavadas com solução 1M de NaCl, por três vezes, logo após foram mensurados os halos claros que se formaram no meio, indicando a degradação de celulose e o diâmetro das colônias com o auxílio de paquímetro (Mitutoyo®). Os índices de atividade celulolítica (IAC) foram calculados pela razão entre diâmetro de halo de hidrólise da celulose e diâmetro de halo da colônia que foram avaliados em cada tempo (Silva *et al.*, 2007).

Para comparar o IAC nos diferentes tempos de incubação dos microrganismos avaliados utilizou-se os testes não paramétrico de Kruskal–Wallis e de Wilcoxon. Para realização de ambos os testes foi utilizado o pacote estatístico SAEG – Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (2007), considerando-se 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de dez amostras do solo e dez amostras das folhas das pastagens, verificou-se o crescimento de fungos micelianos para 50% e 25% delas, respectivamente. Os 14 isolados do solo e os cinco da pastagem apresentaram características micromorfológicas compatíveis com o gênero *Aspergillus*.

O diâmetro das colônias de fungos isolados de solo ou de pastagens apresentou diferença significativa para os tempos testados. Não se verificou diferença entre IAC dos fungos avaliados nos períodos de 24 e 48 horas de incubação. Entretanto, para 72 horas de incubação, a média de IAC foi significativamente maior (Tabela 2). *Aspergillus* spp. isolados de pastagens e de solo não apresentaram diferenças estatísticas entre os IAC para os diferentes períodos avaliados (teste de Wilcoxon $P > 0,05$).

As atividades celulolíticas observadas nesta pesquisa para *Aspergillus* spp. foram próximas daquelas observadas para fungos isolados do rúmen de bovinos leiteiros, alimentados com forrageiras tropicais. Entretanto os autores verificaram que valores de IAC com 24 horas de

incubação foram inferiores aos demais tempos avaliados (Almeida *et al.*, 2014)

O fungo ICA 006 proveniente de pastagens apresentou, para o tempo de 48 horas, IAC igual a 3,31. Os isolados ICA 002, ICA 007 e ICA 019 provenientes do solo das pastagens apresentaram os maiores IAC observados para o tempo de 72 horas (Tabela 2). Esses fungos seriam selecionados, uma vez que indicaram bom potencial para degradação de celulose microcristalina. A utilização do teste de vermelho congo para análise de atividade celulolítica se mostra eficiente para indicação de halo de degradação, tendo em vista que alguns fungos, embora apresentem menor produção de biomassa, podem apresentar elevado potencial de produção enzimática (Silva *et al.*, 2015).

Segundo Carvalho e Pires (2008) a digestibilidade das forrageiras está diretamente relacionada com sua composição bromatológica e histológica, ou seja, a composição nutricional bem como estrutural e de formação dos tecidos da planta. A qualidade da forrageira reduz à medida que a planta se desenvolve, e essa etapa frequentemente coincide com o início do período da seca em regiões tropicais (Hoffmann *et al.* 2014).

Brito *et al.* (2003) ressalta ainda que essa digestibilidade está relacionada também com diferentes porcentagens e tipos de tecido da planta, com seus órgãos já formados e idade que se encontra, justamente pelo aumento de teores dos carboidratos estruturais a medida que ela cresce e se desenvolve, dessa forma é possível uma classificação de acordo com o nível nutricional entre espécies e cultivares de diferentes tipos de forrageiras para uso na alimentação animal.

O aumento da população no rúmen de microrganismos decompositores de celulose em outros carboidratos mais facilmente digestíveis pelos animais auxiliaria no maior aproveitamento dos alimentos ofertados no período de seca, mantendo a produtividade dos animais sem grandes elevações nos custos, procurando dessa forma manter a produção viável economicamente.

Em outra pesquisa, foram avaliados isolados de fungos celulolíticos de acículas de *Pinus taeda* em decomposição, da região de Três Barras,

Tabela 2. Medianas do índice de atividade celulolítica (IAC) de fungos do gênero *Aspergillus* provenientes de solo e de pastagens 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 |
| Isolados de solo de pastagem | | | | | | |
| <i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 001 | 11,0 | 1,95* | 15,5 | 1,74* | 15,0 | 1,97* |
| <i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 002 | 13,5 | 1,33* | 17,5 | 1,48* | 15,5 | 2,48* |
| <i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 003 | 14,0 | 1,75* | 16,0 | 2,19* | 16,0 | 1,00 |
| <i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 004 | 12,5 | 1,52* | 12,5 | 1,00 | 12,5 | 1,00 |
| <i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 005 | 8,5 | 1,94* | 12,5 | 2,12* | 15,0 | 2,3* |
| <i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 007 | 18,0 | 1,05* | 18,0 | 1,61* | 19,5 | 2,23* |
| <i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 009 | 15,5 | 1,16* | 18,0 | 1,03* | 18,0 | 1,00 |
| <i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 012 | 23,0 | 1,00 | 23,0 | 1,43* | 23,0 | 1,89* |
| <i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 015 | 14,0 | 1,39* | 16,0 | 1,43* | 16,0 | 1,00 |
| <i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 016 | 17,5 | 1,26* | 17,5 | 1,86* | 20,5 | 2,12* |
| <i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 018 | 14,0 | 1,57* | 14,0 | 1,00 | 15,5 | 1,00 |
| <i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 019 | 22,5 | 1,29* | 22,5 | 1,2* | 34,5 | 3,71* |
| <i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 020 | 13,0 | 2,23* | 13,0 | 1,00 | 13,0 | 1,00 |
| <i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 021 | 15,0 | 1,37* | 19,5 | 1,41* | 19,5 | 2,15* |
| Medianas | 15,3 | 1,46 ^b | 17,8 | 1,59 ^b | 17,7 | 2,36 ^a |
| Isolados de pastagens tropicais | | | | | | |
| <i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 006 | 9,5 | 1,21* | 9,5 | 3,31* | 15,5 | 2,64* |
| <i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 010 | 17,0 | 1,35* | 17,0 | 1,61* | 17,5 | 2,11* |
| <i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 011 | 14,0 | 1,75* | 14,0 | 1,00 | 14,0 | 1,00 |
| <i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 013 | 0,0 | 0,00 | 13,0 | 2,08* | 20,0 | 2,10* |
| <i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 014 | 15,5 | 1,45* | 16,5 | 1,67* | 16,5 | 1,00 |
| Medianas | 11,2 | 1,15 ^b | 13,17 | 1,17 ^b | 17,7 | 2,28 ^a |

Medianas seguidas de letras minúsculas diferentes na linha diferem estatisticamente pelo teste de *Kruskal-Wallis* ($P < 0,05$). *Indica índice de atividade celulolítica maior que um. IAC = ϕ do halo de hidrólise de celulose / ϕ da colônia (Silva *et al.*, 2007).

Santa Catarina, Brasil. Isolados de *Aspergillus* sp. e *Cladosporium* sp. produziram maior atividade em meio contendo carboxmetilcelulose, com médias de IAC de 1,7 e 1,4, respectivamente, indicando potencial para degradação desse substrato (Auer *et al.*, 2014).

Okeke *et al.* (2015) avaliou fungos provenientes da biomassa microbiana da superfície do solo

no Alabama, USA. Os isolados foram avaliados quanto à coprodução de enzimas celulolíticas e xilanolíticas importantes para degradação de massa lignocelulósica. Os estudos indicaram que as duas cepas que mais se destacaram para produção dessas enzimas foram identificadas como *Penicillium janthinellum* e *Trichoderma virens*.

Santos *et al.* (2013) avaliaram o potencial de *Aspergillus niger* quanto a produção de enzimas celulolíticas, utilizando farelo de cacau como fonte de carbono. Observaram que o uso desse substrato foi promissor para a produção dessas enzimas, destacando a síntese de carboximetilcelulase, em atividade de água de 0,972 e período de incubação de 70 horas.

Outros estudos também têm demonstrado atividade celulolíticas de bactérias isoladas do solo. Silva *et al.* (2015) ao avaliarem atividade celulolíticas de cepas de actinobactérias provenientes do solo de região semiárida do Estado do Ceará, Brasil. Constataram que 75 das cepas apresentaram atividade celulolítica e 36% mostraram índice enzimático superior a dois.

Em estudo realizado por Carneiro (2009) constatou-se que a disponibilidade de material orgânico e carbono presentes em ambiente com palhadas ou capins secos são maiores, tendo em vista o comportamento dos microrganismos no solo, principalmente os fungos micelianos. Observou-se maior quantidade de fungos celulolíticos em sistema de plantio direto quando comparado ao solo descoberto em sistema convencional.

Devido à presença da palha sobre o solo a velocidade de decomposição desse material é mais lenta por estar na superfície, mantendo o substrato de carbono por um período mais longo, justificando a presença desses microrganismos no material. Bernardes *et al.* (2006) estudaram diferentes manejos de solo de Cerrado com cultivo de soja não observaram diferença estatística no crescimento da população de microrganismos celulolíticos durante a semeadura a fase vegetativa e colheita, porém foi observada uma maior população em valores absolutos na época de colheita. Fato que foi atribuído ao maior teor de matéria seca nessa época, resultando em maior quantidade de celulose disponível para esses microrganismos.

Os resultados verificados nesta pesquisa corroboram com as pesquisas desses autores, visto que no solo onde foram coletadas as amostras havia cobertura de palhada proveniente das pastagens que estavam secas, em decorrência da falta de chuvas no período. O que comprova a existência de fungos

produtores de celulasas que se mantiveram devida à presença de material não incorporado, apresentando dessa forma decomposição mais lenta.

Ruegger e Tauk-Tornisielo (2004) ressaltam que os fungos produtores de celulasas apresentam comportamento diferente quando avaliados em meio de cultura, porque nesse ambiente ocorre competição. Existem interações que ocorrem entre os microrganismos em seu nicho ecológico natural que devem ser consideradas. Neste contexto é importante salientar que essa associação é responsável pela degradação completa dos substratos celulósicos no ambiente em que estão inseridos, facilitando a absorção de compostos pelo rúmen e intestino nos animais.

CONCLUSÃO

Os exemplares de fungos isolados de solo e de pastagens tropicais avaliados apresentaram resultados satisfatórios quanto à produção de celulase, apresentando potencial para aditivos microbianos na alimentação de ruminantes. Os maiores valores de IAC foram observados no tempo de 72 horas, não apresentando diferença entre os tempos de 24 e 48 horas. Futuros estudos devem elucidar a capacidade de degradação de xilana e lignina destes fungos.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brasil) e PRPq / UFMG

LITERATURA CITADA

- Aguiar, A. e A. Ferraz, 2011. Mecanismos envolvidos na biodegradação de materiais lignocelulósicos e Aplicações tecnológicas correlatas. *Quím. Nova*, 34(10):1729-1738.
- Almeida, P. N. M., E. R Duarte, F. O. Abrão, C. E. S. Freitas, L. C. Geraseev e C. A. Rosa, 2012. Aerobic fungi in the rumen fluid from dairy cattle fed with different sources of

- forage. Rev. Bras de Zoot, 41(11):2336-2342.
- Almeida P. N. M., C. E. S. Freitas, A. F. Oliveira, I. C. Oliveira, E. A. Vieira, L. C. Geraseev e E. R. Duarte, 2014. Atividade celulolítica de fungos aeróbios isolados do rúmen de bovinos leiteiros alimentados com forragens tropicais. Rev Caatinga, 27(14):202-207.
- Auer C. G., T. Amaro, I. C. Pimentel, P. R Dalzoto. 2014. Atividades degradativas de celulose e de fenóis por fungos isolados de acículas de *Pinus taeda*. Floresta, 44(2):179-184.
- Barbosa, R. Z. e F. A. Dos Santos, 2008. O uso de irrigação em pastagens em diferentes regiões do país. Rev. Cien. Elet. Agron, 14. Disponível em: http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/zbfB9bJWXQ9FsA0_2013-5-10-12-0-29.pdf [Out. 25, 2015].
- Bernardes, C. M. e M. A. Santos, 2006. População microbiana como indicadora de interferência de diferentes manejos de solos de cerrado com cultivo de soja. Biosc. J, 22(2):7-16.
- Brito, C. J. F. A., R. A. Rodella, e F. C. Deschamps, 2003. Perfil químico da parede celular e suas implicações na digestibilidade de *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria humidicola*. Re. Brás. Zootec, 32(6):1835-1834.
- Carneiro, M. A. C., E. D. Souza, E. F. Reis e H. S. Pereira, 2009. Atributos físicos, químicos e biológicos de solo de cerrado sob diferentes sistemas de uso e manejo. R. Brás. Ci. Solo, 33: 47-157.
- Carvalho, G. G. P. e A. J. V. Pires, 2008. Organização dos tecidos de plantas forrageiras e suas implicações para os ruminantes. Arch. de Zoot, 57:13-28.
- Do Valle, C. B., L. Jank, e R. M. S. Resende, 2009. O melhoramento de forrageiras tropicais no Brasil. Rev. Ceres, 56(4): 460-472.
- Euclides, R. 1999. Sistema de análises estatísticas e genéticas. Scienceopen. Facchini, F. D., A. C. Vici, V. R. Reis, J. A. Jorge, H. F. Terenzi, R. A. Reis, M. de L. Polizeli, 2011. Production of fibrolytic enzymes by *Aspergillus japonicus* C03 using agro-industrial residues with potential application as additives in animal feed. Bioprocess Biosyst. Eng. 34(3):347-355.
- Hoffmann A., E. H. B. K. Moraes, C. J. Mousquer, T. A. Simioi, F. Junior Gomer, V. B. Ferreira, H. M. Silva 2014. Produção de bovinos de corte no sistema de pasto-suplemento no período da seca. Nativa, 2:119-130.
- Lacaz, C. S., E. Porto, J. E. C. Martins, E. M. Heins-Vaccari e N. Takahashi De Melo, 2002. Tratado de micologia médica 9. Ed. São Paulo: Sarvier, 1104 p.
- Lacaz, C. S., E. Porto, J. E. C. Martins, E. M. Heins-Vaccari e N. Takahashi De Melo, 1998. Guia Para Identificação de Fungos Actinomicetos e Algas de Interesse Médico, 8. Ed. São Paulo: Sarvier, 446 p.
- Okeke, B. C., R. W. Hall, A. Nanjundaswamy, M. S. Thomson, Y. Deravi, L. S. Prescott, 2015. Selection and molecular characterization of cellulolytic–xylanolytic fungi from surface soil-biomass mixtures from Black Belt sites. Microbiol Res, 175:24-33.
- Ruegger, M. J. S. e S. M. Tauk-Tornisielo, 2004. Atividade da celulase de fungos isolados do solo da Estação Ecológica de Juréia-Itatins, São Paulo, Brasil. Rev Brasa Bot, 27(2):205-211.
- Santos, M. E. R., D. M. Fonseca, E. M. Balbino, J. P. I. S. Monnerat, e S. P. Silva, 2009. Capim-braquiária diferido e adubado com nitrogênio: produção e características da forragem. Rev. Bras de Zoot, 38(4): 650-656,
- Santos, M. E. R., D. M. Fonseca, V. P. B. Euclides, J. I. Ribeiro Júnior, E. M. Balbino e D. R. Casagrande, 2008. Valor nutritivo da forragem e de seus componentes morfológicos em pastagens de *Brachiaria decumbens* diferida. Bol Ind Animal, 65(4): 303-311.
- Santos, T. C., T. J. O. Rocha, A. C. Oliveira, F. G. Abreu, M. Franco, 2013. *Aspergillus niger* como produtor de enzimas celulolíticas a

- partir farelo de cacau (*Theobroma cacao*).
Arq Inst Biol, 80(1):65-71.
- Silva, J. O., J. C. Ferreira e R. C. Candido, 2007.
Atividade enzimática, produção de slime e
sensibilidade a antifúngicos de *Candida* sp.
Ver. Socie Brás. *Med. Trop*, 40(3):354-355.
- Silva, V. M, C. M. Martins, S. C. Silveira, 2015.
Atividade celulolítica de actinobactérias de
região semiárida do Ceará. *Encicl Biosfera*,
11:2026-2036.
- Soares, I. A., A. C. Flores, L. Zanettin, H. K.
Pin, M. M. Mendonça, R. P. Barcelos, L.
R. Trevisol, R. D. Carvalho, D. Shauren, C.
L. Mello, S. C. Rocha, e D. Baroni, 2010.
Identificação do potencial amilolítico de
linhagens mutantes do fungo filamentoso
Aspergillus nidulans. *Cienc. Technol.*
Aliment., campinas 30(03):700-705.
- Teather, R. M. and P. J. Wood, 1982. Use of
Congo redpolysaccharide interactions
in enumeration and characterization of
cellulolytic bacteria from the bovine rumen.
Appl Envir Microb, 43:777-780.