

DIVERSIDADE DA MICROBIOTA INTESTINAL EM GALINHAS TRATADAS COM FITOBIÓTICOS¹

Renan Reis Ribeiro², Miklos Maximiliano Bajay³, Alessandra da Silva Santos⁴

¹ Vinculado ao projeto “ANÁLISE METAGENÔMICA DA MICROBIOTA INTESTINAL EM GALINHAS TRATADAS COM FITOBIÓTICOS”

² Acadêmico do Curso de Ciências Biológicas – Opção Biodiversidade – CERES – Bolsista PROBIC/UDESC.

³ Orientador, Departamento de Engenharia de Pesca e Ciências Biológicas – CERES – miklos.bajay@udesc.br

⁴ Acadêmica do Curso de Mestrado em Bioquímica e Biologia Molecular – CAV.

Introdução: Antibióticos são utilizados como aditivos em rações de frangos de corte e galinhas poedeiras desde a década de 50 e têm como finalidade assegurar a saúde do trato gastrointestinal desses animais. Porém, devido ao surgimento de organismos resistentes a essas substâncias, muitos países estabeleceram restrições e até mesmo proibições ao uso de antibióticos como aditivos melhoradores de desempenho na produção animal. No Brasil, por exemplo, apesar de não serem totalmente proibidos, os antibióticos utilizados no melhoramento do desempenho animal sofreram restrições, sendo cada vez menor a lista de antibióticos usados para esse fim permitidos no país. Devido à resistência e às restrições a essas substâncias, outros aditivos devem ser estudados como alternativas a elas.

Possíveis substitutos aos antibióticos são os aditivos fitogênicos, dentre os quais pode-se destacar os óleos essenciais, que são complexas misturas de substâncias que apresentam um composto farmacologicamente ativo majoritário. Esses óleos, extraídos de plantas aromáticas, são uma opção promissora na produção avícola por seus efeitos benéficos sobre o controle da microbiota intestinal, composição natural e impactos não residuais.

Tendo em vista o cenário atual dos aditivos melhoradores de desempenho, o presente trabalho tem como objetivo caracterizar a microbiota intestinal de frangos de corte tratados de quatro maneiras diferentes, sendo três delas com compostos fitogênicos e a outra com o antibiótico Enramicina[®].

Metodologia: Foram analisados um total de 20 frangos submetidos a um desafio por *Escherichia coli* e separados igualmente em 4 grupos, sendo um tratado com o antibiótico Enramicina[®], enquanto os outros grupos foram tratados com os fitobióticos Enterosan[®], Acidosan[®] e Enterobiosan[®] respectivamente. Cada grupo foi submetido a 4 coletas de material genético, as quais foram realizadas no 7º, 21º, 35º e 42º dia de vida dos frangos. As sequências, obtidas a partir do sequenciamento de alto desempenho das regiões V3/V4 do gene 16S rRNA, foram então analisadas no pacote de software mothur, através da plataforma de bioinformática Galaxy, seguindo o Procedimento Operacional Padrão para dados MiSeq (com alguns ajustes pontuais). Inicialmente foram criados contigs e eliminados aqueles com bases ambíguas ou muito compridos em relação à maioria. Foram identificadas as sequências que se repetiam, representando-as por uma sequência única, as quais foram alinhadas a um arquivo de referência

SILVA. As sequências alinhadas foram então filtradas, excluindo-se aquelas que se alinharam fora da região de interesse ou que fossem constituídas por mais homopolímeros que a maioria, e trimadas. Dentre as sequências restantes, reuniu-se aquelas muito semelhantes (diferença entorno de 1%) em pré-clusters e excluíram-se as quimeras. Então, foram atribuídas classificações taxonômicas às sequências, com base na referência taxonômica do Ribosomal Database Project, e removidas aquelas não bacterianas. Em seguida, as sequências foram unidas em unidades taxonômicas operacionais (OTUs), que foram então classificadas taxonomicamente. Por fim, as amostras foram subdivididas, a fim de obter-se sub-amostras com o mesmo número de sequências, foram calculados valores de alfa e beta diversidade e gerados dendogramas baseados nos valores de beta diversidade obtidos.

Resultados e discussão: Nas amostras obtidas foram identificados os filos apresentados na Tabela 1, na qual também está presente a quantidade de grupos taxonômicos em cada filo. Com relação à alfa diversidade, os maiores valores para o 7°, 21°, 35° e 42° dia foram atribuídos, respectivamente, às amostras oriundas dos tratamentos com Enterobiosan[®], Acidosan[®], Enramicina[®] e Acidosan[®]. Já os menores valores, nos respectivos dias, foram obtidos nos tratamentos com Enramicina[®], Enterobiosan[®] e Enterosan[®] (esse último no 35° e 42° dia). Quanto aos dendogramas, cabe-se citar que, nos dois gerados, há uma considerável proximidade entre as amostras do 35° dia de todos os tratamentos (com exceção do com Enramicina[®]) e um distanciamento da amostra do 7° dia do tratamento com Enramicina[®] das demais.

Tabela 1. Quantidade de grupos taxonômicos por tratamento.

Filo	Enramicina [®] dia:				Enterosan [®] dia:				Acidosan [®] dia:				Enterobiosan [®] dia:			
	7	21	35	42	7	21	35	42	7	21	35	42	7	21	35	42
<i>Actinobacteria</i>	10	12	14	15	13	11	11	14	7	12	8	13	13	16	16	9
<i>Bacteroidetes</i>	6	8	12	14	4	5	10	10	2	9	13	13	3	11	12	13
<i>Fusobacteria</i>	1	0	0	1	0	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Proteobacteria</i>	11	33	24	22	21	28	37	21	16	28	29	20	11	33	40	22
<i>Firmicutes</i>	28	45	55	61	41	45	50	47	32	55	43	55	52	45	55	44
<i>Tenericutes</i>	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2	1	2	0	1	0	0
TM7	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
<i>Gemmatimonadetes</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chloroflexi</i>	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lentisphaerae</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Verrucomicrobia</i>	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Deinococcus-Thermus</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Acidobacteria</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

Palavras-chave: Frango. Fitobiótico. Aditivos melhoradores de desempenho.