

ANÁLISE ALFA E BETA DIVERSIDADE DA MICROBIOTA INTESTINAL EM GALINHAS TRATADAS COM FITOBIÓTICO¹

Stephane Hoff Medeiros², Miklos Maximiliano Bajay³, Alessandra da Silva Santos⁴

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

² Acadêmico (a) do Curso de Ciências Biológicas – Opção Biodiversidade e Conservação – CERES – Bolsista PROBIC/UDESC

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

⁴ Acadêmico do Curso de Mestrado em Bioquímica e Biologia Molecular - CAV

A microbiota consiste em uma diversidade de microrganismos vivos no trato gastrointestinal do animal, que desempenham funções importantes como auxiliar na digestão, manter um equilíbrio intestinal e consequentemente controlar doenças, garantindo um sistema imunológico mais eficiente e saudável. Quando as galinhas analisadas são tratadas através de fitobióticos (que normalmente são utilizados como alternativas de antibióticos), sendo produtos de origem natural normalmente produzidos a partir de plantas, tendo como uso a melhora do equilíbrio na microbiota intestinal e consequentemente a melhora da qualidade de produtos de origem animal, como o frango e os ovos que consumimos. A alfa e a beta diversidade estão relacionadas com a ecologia da população local, nesse caso a microbiota intestinal, onde a alfa diversidade trata a quantidade média e a abundância de espécies de uma única comunidade em um determinado local, enquanto a diversidade beta analisa locais diferentes e a sua variação na composição de espécies da comunidade, focando em comparar a diversidade entre diferentes comunidades. Esta pesquisa tem o objetivo de caracterizar a microbiota intestinal de galinhas poedeiras, avaliar os efeitos de melhoradores de desempenho convencional (Enramicina) e não convencionais (dois produtos comerciais a base de compostos naturais) frente ao estresse calórico natural na modulação desta microbiota. O experimento foi realizado entre os meses de julho a dezembro de 2022, no galpão experimental da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, em Chapecó/SC. Foram utilizadas 140 aves Hy-Line Brown de 15 semanas, alojadas em gaiolas metabólicas (5 aves/gaiola) feitas de aço galvanizado, com comedouros tipo calha e bebedouros tipo nipple. A dieta utilizada foi formulada à base de milho e farelo de soja, de acordo com as exigências nutricionais das galinhas poedeiras, a partir da composição química e dos valores energéticos dos alimentos. Os animais foram divididos ao acaso, em 4 tratamentos com 7 repetições, 5 aves/ gaiola, sendo: 1. Controle (sem antibiótico, C); 2. Enramicina (E); 3. Tratamento alternativo 1 (250 g/ ton de ração, T1); 4. Tratamento alternativo 2 (500 g/ ton, T2), sendo T1 formado por extratos vegetais (7% de timol, carvacrol e cinamaldeído), também OE de canela e orégano, parede de levedura, pool de bactérias benéficas (probióticos) e minerais orgânicos. Já o composto T2, é formado por OE orégano, canela, cúrcuma, e ácidos orgânicos. A Enramicina e os tratamentos alternativos foram incorporados na ração basal dos grupos tratamentos. A escolha da Enramicina ocorreu por ser o agente antimicrobiano mais frequentemente utilizado na produção animal no Brasil, possuindo

registro ativo como promotor de crescimento, pela IN nº 44, 2015, do MAPA (BRASIL, 2015). Foram coletados 112 swabs de cloaca ao total (1 swab por gaiola, coletado nas 5 aves), utilizando swab tipo cotonete, como ilustra a figura 1, em diferentes tempos: T0/Controle: início da postura; T1: pico de postura/ início do segundo ciclo; T2: início do terceiro ciclo; T3: final do terceiro ciclo), onde T0/Controle - coletado antes do início dos tratamentos, aves com 18 semanas; T1 - representando o pico de postura e início do segundo ciclo, aves com 25 semanas; T2 - aves com 31 semanas; T3: final do terceiro ciclo e final do experimento, aves com 34 semanas. Este estudo foi aprovado pelas normas do Comitê de Ética para Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), com o número de protocolo 9641230522. As amostras de swab das fezes de cada repetição (gaiola) foram mantidas congeladas a -20°C e posteriormente foram enviadas à facilitate BPI Biotecnologia, para extração de DNA e sequenciamento. A classificação do nível taxonômico das reads, foi realizada com o banco de dados SILVA. Somente as sequências com no mínimo 99% de identidade com o banco de dados, foram utilizadas para a classificação. Análises estatística foram realizadas dentro do ambiente de software estatístico R (versão R 3.6.0). A diversidade do microbioma intestinal foi estimada através da alfa diversidade usando a função `plot_richness`, do pacote `Phyloseq`, representada através do índice de inverso de Simpson, utilizando análise de variância (ANOVA) e Tukey para os testes estatísticos. Em relação a beta diversidade nos diferentes grupos, foi utilizado o escalonamento multidimensional não métrico (nMDS). Após o sequenciamento foram obtidos aproximadamente 3.202.309 reads de sequências do fragmento amplificado. De acordo com a Figura 1, no período de pico de postura, o Tratamento alternativo 1 apresentou maior diversidade microbiológica em relação ao melhorador de desempenho Enramicina ($P \leq 0,0023$). Na coleta com 31 semanas (T2), o Tratamento alternativo 1 apresentou maior diversidade microbiológica em relação ao controle ($P \leq 0,0304$), no entanto, sem diferenciar do tratamento com Enramicina ($P \geq 0,05$). Na coleta com 34 semanas, não houve diferença entre os tratamentos ($P \geq 0,05$). A beta diversidade mostra que os dados se agruparam tanto por tempo de coleta, quanto por tratamento, e sugere que os tempos de coleta T3 e T2, tiveram maior dissimilaridade que os demais tempos. Portanto, os efeitos da utilização de melhoradores de desempenho não convencionais sugerem ser positivos, observado através da caracterização da microbiota intestinal.

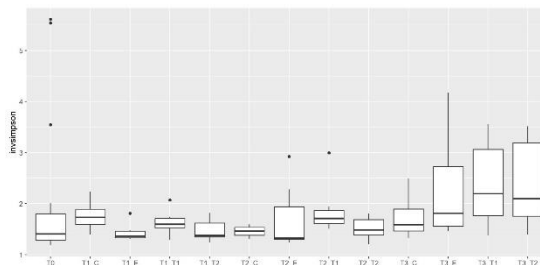


Figura 1. Índice Inverso de Simpson, estimando a alfa diversidade encontrada, de acordo com tempo e tratamento.

Palavras-chave: Metagenômica. Avicultura. Enramicina.