EFEITO DA INCLUSÃO DE FARINHA DE *BUTIA* SPP. NA DIETA DE VACAS HOLANDESAS EM LACTAÇÃO SOBRE A MICROBIOTA FECAL

Isabel Munaro, Emily Vidor, Aleksandro Schafer Da Silva, Miklos Maximiliano Bajay

INTRODUÇÃO

A nutrição de vacas leiteiras tem papel determinante no desempenho produtivo, na saúde animal e na composição da microbiota gastrointestinal (XU et al., 2021). A utilização de ingredientes alternativos oriundos de recursos vegetais tem sido estudada como estratégia para aumentar a sustentabilidade dos sistemas de produção e melhorar o aproveitamento dos nutrientes pelos animais através da estrutura das comunidades microbianas presentes no trato gastrointestinal, refletindo no desempenho produtivo dos animais (LIN et al., 2023). A utilização de ingredientes com maior concentração de compostos lipídicos tem despertado interesse devido ao seu alto potencial de modular a microbiota e os processos fermentativos dos ruminantes. Nesse contexto, a farinha de *Butia*, derivada dos frutos da palmeira *Butia* spp., espécie nativa da região Sul do Brasil, surge como uma alternativa promissora para alimentação de vacas leiteiras, em razão de sua composição nutricional caracterizada por teores relevantes de fibras, lipídios e compostos bioativos (LIMA et al., 2025). Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da inclusão de farinha de *Butia* na dieta de vacas Holandesas em lactação sobre a microbiota fecal, por meio de sequenciamento do gene 16S rRNA.

DESENVOLVIMENTO

O estudo foi conduzido na Fazenda Experimental da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), localizada no município de Guatambu, Santa Catarina. Foram utilizadas 14 vacas da raça Holandesa, com média de 209 dias em lactação (DEL), mantidas em sistema de confinamento do tipo Compost Barn. Todos os animais eram multíparos e foram distribuídos em dois tratamentos experimentais, contendo sete vacas cada. O experimento teve duração de 21 dias. Os animais receberam uma dieta total misturada (TMR, *Total Mixed Ration*) composta por 36 kg de silagem de milho, 1,5 kg de feno e 12 kg de concentrado, fornecida ao longo do período experimental. Foram formuladas duas dietas experimentais isoproteicas e isoenergéticas, de forma a garantir que os tratamentos apresentassem níveis equivalentes de proteína e energia, diferindo apenas pela inclusão da farinha de butiá. No dia 21 do experimento, as fezes foram coletadas diretamente na ampola retal das vacas para análise da microbiota fecal. O material foi colocado em kits 3M™ Quick Swabs (Neogen®, Lansing, MI, EUA) para detecção qualitativa e quantitativa de microrganismos por meio de metagenômica, através do sequenciamento do gene 16S rRNA, realizado pelo laboratório comercial. Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade do Estado de Santa Catarina (CEUA), sob o protocolo n° 9378270525. O DNA total foi obtido a partir de 200 mg de cada amostra utilizando o kit ZR Fungal/Bacterial DNA MiniPrep, de acordo com as orientações do fabricante. Para a caracterização da comunidade bacteriana, a região V3–V4 do gene que codifica o RNA ribossômico 16S foi amplificada por PCR empregando os primers 341F e 806R, conforme o protocolo proposto por Klindworth et al. (2013). Após a amplificação, as bibliotecas foram quantificadas por PCR quantitativa (qPCR) com o kit Kapa Library Quantification e posteriormente normalizadas para 2 nM. O sequenciamento foi realizado em plataforma Illumina MiSeq i100, utilizando 250 ciclos em

cada extremidade das moléculas, gerando leituras paired-end. O processamento bioinformático das sequências obtidas foi conduzido no QIIME 2 (Bolyen et al., 2019), versão 2026.1. Inicialmente, os primers foram removidos com o plugin cutadapt, seguido pelas etapas de controle de qualidade, denoising e desreplicação realizadas com DADA2. Esse procedimento resultou na obtenção de Variantes de Sequência de Amplicons (ASVs), utilizadas como unidades taxonômicas para as análises posteriores. A classificação taxonômica das sequências foi realizada utilizando um classificador baseado no algoritmo Naïve Bayes, treinado com a base de dados SILVA (Quast et al., 2013), versão 132, previamente restringida à região V3–V4 do gene 16S rRNA. As análises estatísticas e ecológicas foram conduzidas no ambiente R (R Core Team, 2026), versão 4.5.2. Para o gerenciamento dos dados de microbiota e a realização das análises ecológicas, foram empregados os pacotes phyloseq (McMurdie et al., 2013), versão 1.52, e microeco (Liu et al., 2025), versão 1.15.0. A identificação de grupos taxonômicos diferencialmente abundantes entre os tratamentos foi realizada por meio do método DESeq2 (Segata et al., 2011). A diversidade dentro das amostras (diversidade alfa) foi estimada pelo índice de Shannon. Para investigar diferenças na composição das comunidades microbianas entre os grupos, a diversidade beta foi avaliada a partir das dissimilaridades de Bray–Curtis e representada graficamente por Análise de Coordenadas Principais (PCoA). As comparações da diversidade alfa entre os grupos foram realizadas pelo teste não paramétrico de Wilcoxon, enquanto as diferenças na estrutura das comunidades microbianas foram testadas por Análise de Variância Multivariada Permutacional (PERMANOVA), incluindo comparações aos pares entre os grupos experimentais.

RESULTADOS

A análise da diversidade microbiana demonstrou que a intervenção não promoveu alterações globais estatisticamente significativas na estrutura da comunidade. O teste de diversidade beta (PCoA) não revelou uma separação clara e significativa entre as comunidades dos grupos Controle e Tratamento (p=0,256), indicando que a composição geral permaneceu relativamente estável. Da mesma forma, a diversidade alfa, avaliada pelo índice de Shannon, não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (p=0,097), embora os dados sugiram uma tendência de maior diversidade no grupo Tratamento. Apesar da estabilidade na diversidade global, a análise de abundância diferencial e a composição relativa identificaram mudanças significativas e pontuais em táxons específicos. O grupo Tratamento apresentou um enriquecimento significativo na abundância relativa de gêneros como *Desemzia*, *Anaerocella*, *Acholeplasma*, *Sphaerochaeta* e *Proteocatella*, enquanto o grupo Controle manteve uma abundância significativamente maior de *Bacillus* (Figura 1).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados indicam que o tratamento não alterou a diversidade global, o que sugere uma considerável resiliência da comunidade microbiana frente à intervenção. No entanto, a indução de mudanças significativas na abundância de bactérias específicas (como a redução de *Bacillus* e o aumento de *Acholeplasma* e *Sphaerochaeta*) demonstra que o tratamento exerce pressão seletiva sobre nichos ecológicos particulares, favorecendo microrganismos capazes de explorar os substratos modificados pela inclusão da farinha de butiá na dieta.

Palavras-chave: farinha de butiá; vacas leiteiras; microbiota fecal; nutrição animal; metagenômica.

ANEXOS

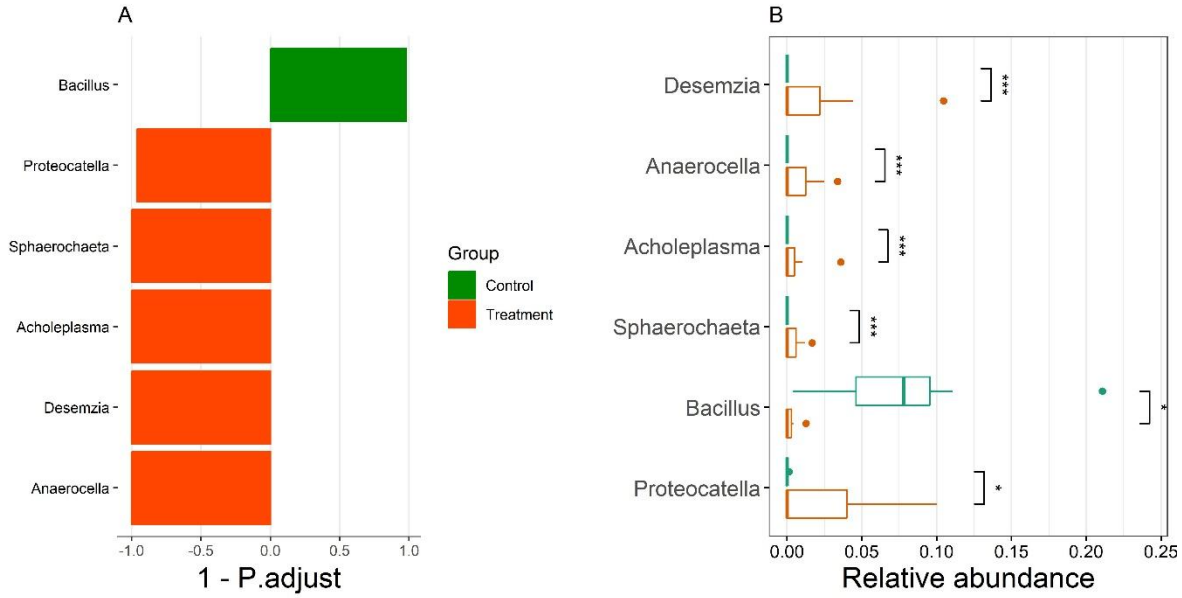


Figura 1: Gêneros bacterianos associados aos grupos Controle e Tratamento pelas barras que indicam significância estatística (A) e os bloxplots de abundância relativa (B). *=p<0,05; ***=p<0,001.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOLYEN, E. et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. **Nature Biotechnology**, v. 37, n. 8, p. 852–857, 2019.

ENJALBERT, F. et al. Rumen microbiota and dietary fat: a mutual shaping. **Journal of Applied Microbiology**, v. 123, n. 4, p. 782–797, 2017.

GAO, Q. et al. Effects of dietary D-lactate levels on rumen fermentation, microflora and metabolomics of beef cattle. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, p. 1348729, 2024.

JOBIM, S. J. M.; CUNHA DUARTE, L. da. Caracterização dos resíduos dos frutos de butiá (Butia (Becc.) Becc (Arecaceae)): análise termogravimétrica, teor de umidade, composição química e FTIR. **Revista Poliedro**, v. 7, n. 9, p. 049-065, 2023.

KLINDWORTH, A. et al. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. **Nucleic Acids Research**, v. 41, n. 1, p. e1, 2013.

LIMA, C. F. M. de et al. Sweet, nutritious, and diverse fruits: the genetic heritage of Butia odorata palm groves in southern Brazil. **Food Science and Technology**, v. 45, 2025. DOI: 10.5327/fst.514.

LIN, L. et al. The gastrointestinal microbiome in dairy cattle is shaped by management and diet. **Microbiome**, v. 11, 2023. DOI: 10.1186/S40168-022-01453-2.

LIU, C. et al. A workflow for statistical analysis and visualization of microbiome omics data using the R microeco package. **Nature Protocols**, v. 20, n. 4, p. 1300–1324, 2025.

MCMURDIE, P. J.; HOLMES, S. Phyloseq: An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. **PLOS ONE**, v. 8, n. 4, p. e61217, 2013.

XU, Q. et al. Gut microbiota and their role in health and metabolic disease of dairy cow. Frontiers in Nutrition, v. 8, art. 701511, 2021. DOI: 10.3389/FNUT.2021.701511.