

EFEITOS DA BETA-MANANASE SOBRE METABÓLITOS DE FERMENTAÇÃO E MICROBIOTA INTESTINAL DE CÃES CONSUMINDO DIETAS CONTENDO DIFERENTES FONTES PROTEÍCAS

JULIA S. RODRIGUES¹, RENATA B. M. S. SOUZA¹, HELOÍSA L. SILVA¹, LAIANE S. LIMA¹, LILIAN D. SANTOS¹, KARLA S. FELSSNER¹, VANESSA R. OLSZEWSKI¹, SIMONE G. OLIVEIRA¹, ANANDA P. FÉLIX¹

Universidade Federal do Paraná, UFPR, Campus Ciências Agrárias, Curitiba, PR, Brasil.

Contato: julia895santosrodrigues@gmail.com / Apresentador: JULIA SANTOS RODRIGUES

Resumo: Objetivou-se avaliar os efeitos da beta-mananase (BM) em dietas com diferentes fontes proteicas sobre os produtos de fermentação e microbiota intestinal de cães. Utilizou-se 16 cães adultos distribuídos em blocos ao acaso em esquema fatorial 2 x 2 (n=8/tratamento). Foram avaliadas quatro dietas contendo farinha de vísceras de aves (FV) ou farelo de soja (FS), com adição de 0 (FSSE e FVSE) ou 0,1 g/kg (FSCE e FVCE) de BM por recobrimento. Os cães foram alimentados com as dietas por 2 períodos de 15 dias cada. Ao final do 15º dia de cada período, fezes frescas foram coletadas para análise de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e ramificada (AGCR) e microbiota. As dietas FSSE e FSCE resultaram em maior concentração fecal de acetato e propionato, em relação a FVSE (P<0,05). Semelhantemente, houve aumento da diversidade bacteriana nas fezes dos cães alimentados com FSSE e FSCE, em comparação com a FVSE (P<0,05). A BM favoreceu o aumento de *Faecalibacterium* (FSCE), *Turicibacter* e *Blautia* (FVCE), enquanto dietas sem BM aumentaram *Streptococcus* (FSSE) e *Clostridium* (FVSE) nas fezes (P<0,05). Conclui-se que o FS pode aumentar a produção de AGCC e que a adição de BM na dieta pode contribuir com a modulação benéfica da microbiota fecal dos cães, independentemente da fonte proteica.

PalavrasChaves: Enzima; Farelo de soja; Farinha de vísceras de aves.

EFFECTS OF BETA-MANNANASE ON FERMENTATION METABOLITES AND GUT MICROBIOTA OF DOGS FED DIETS CONTAINING DIFFERENT PROTEIN SOURCES

Abstract: The objective was to evaluate the effects of beta-mannanase (BM) in diets with different protein sources on the fermentation products and intestinal microbiota of dogs. Sixteen adult dogs were used in a randomized block design with a 2 x 2 factorial arrangement (n=8/treatment). Four diets containing poultry by-products meal (PM) or soybean meal (SB) were evaluated, with the addition of 0 (SBNE and PMNE) and 0.1 g/kg (SBWE and PMWE) of BM. The animals were fed the diets for two periods of 15 days each. At the end of the 15th day of each period, fresh feces were collected for analysis of short-chain (SCFA) and branched-chain fatty acids (BCFA) and intestinal microbiota. The SBNE and SBWE diets increased the fecal concentrations of acetate and propionate compared to the PMNE diet (P<0.05). Similarly, there was an increase in bacterial diversity in feces from the SBNE and SBWE diets compared to the PMNE (P<0.05). BM promoted an increase in fecal *Faecalibacterium* (SBWE), *Turicibacter*, and *Blautia* (PMWE), while diets without BM increased *Streptococcus* (SBNE) and *Clostridium* (PMNE) (P<0.05). It is concluded that SB can increase the production of SCFA and that the addition of BM is capable of beneficially modulating the microbiota, regardless of the protein source.

Keywords: Enzyme; Poultry by-product meal; Soybean meal.

Introdução: Os polissacarídeos não amiláceos (PNA's), incluindo as beta-mananas, estão presentes na fração de hemicelulose de ingredientes vegetais, podendo dificultar a ação das enzimas digestivas sobre o substrato (Choct, 2001). Nesse sentido, a adição de enzimas na formulação da dieta, como a beta-mananase (BM), pode contribuir para a melhora da biodisponibilidade dos nutrientes. A BM atua hidrolisando as beta-mananas da parede celular da soja, podendo gerar oligossacarídeos e aumentar a digestibilidade dos nutrientes (Adeola et al., 2011). Diante disso, a inclusão de BM na dieta pode influenciar o tipo de substrato que chega ao cólon, e, portanto, afetar os metabólitos de fermentação produzidos e a microbiota intestinal dos cães. Assim, este estudo teve como objetivo analisar os efeitos da BM sobre os produtos da fermentação intestinal e a microbiota fecal de cães alimentados com dietas contendo diferentes fontes proteicas.

Material e Métodos: O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais. Foram utilizados 16 cães adultos da raça Beagle com idade de 2 anos e peso de 10,14 ± 0,86 kg. Os cães foram distribuídos em delineamento em blocos casualizados, seguindo esquema fatorial 2 x 2, sendo duas fontes proteicas: farinha de vísceras de aves (FV, 27%) e farelo de soja (FS, 20%) x dois níveis de suplementação de BM: 0 (FSSE e FVSE) e 0,1 g/kg (FSCE e FVCE), totalizando 4 tratamentos com 8 repetições cada. As dietas foram formuladas para apresentar composição química semelhante. Os animais foram alimentados com as dietas por 2 períodos de 15 dias cada. Ao final do 15º dia experimental de cada período, foi feita a coleta de fezes frescas para análise de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e ramificada (AGCR), além da microbiota intestinal por sequenciamento do gene 16S rRNA. Os dados foram analisados quanto à normalidade pelo teste Shapiro-Wilk (P<0,05). Após, foram submetidos à ANOVA, considerando efeitos de fontes proteicas, enzima e blocos (períodos). Quando houve interação enzima x fontes proteicas (P<0,05), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. A alfa-diversidade (Shannon, Chao1, ASVs) foi avaliada por Kruskal-Wallis (P<0,05) e a beta-diversidade por Bray-Curtis (PERMANOVA, P<0,05). Ainda, foi aplicada a análise discriminante linear (LDA) do tamanho do efeito (LEfSe) para verificar os gêneros bacterianos com maior poder discriminatório entre os tratamentos (P ajustado <0,05)

Resultado e Discussão: As concentrações fecais de acetato e propionato foram maiores nas fezes dos grupos FSCE (acetato = 172,47 µmol e propionato = 67,47 µmol) e FSSE (acetato = 162,88 µmol e propionato = 59,34 µmol), em comparação ao grupo FVSE (acetato = 112,86 µmol e propionato = 38,03 µmol) (P<0,05), sugerindo que o FS promove maior produção de

AGCC, metabólitos associados à eubiose intestinal (Félix et al., 2022). A concentração fecal de butirato e de AGCR não diferiu entre os tratamentos ($P > 0,05$, dados não apresentados). Os cães alimentados com as dietas com FS, com e sem BM, apresentaram maior índice de Chao1 (FSCE = 198 e FSSE = 209) e maior número de ASVs (FSCE = 190 e FSSE = 202), em comparação ao grupo FVSE (Chao1 = 160 e ASVs = 157) ($P < 0,05$). O grupo FVCE apresentou valores intermediários de AGCC e dos índices de alfa-diversidade (não apresentado). Por outro lado, na análise de beta-diversidade, os tratamentos FSCE e FVCE apresentaram as maiores diferenças entre grupos ($P < 0,05$; Figura 1). Em relação aos gêneros bacterianos (Figura 2), observou-se aumento de *Faecalibacterium* nos cães alimentados com FSCE ($P < 0,05$) e de *Blautia* e *Turicibacter* nos alimentados com FVCE ($P < 0,05$), gêneros associados à eubiose (Alshawaqfeh et al., 2017). Já a dieta FSSE favoreceu o aumento de *Streptococcus* e a FVSE, de *Clostridium*, ambos associados à disbiose intestinal em cães (Alshawaqfeh et al., 2017). Esses resultados sugerem que, independentemente da fonte proteica, a adição de BM pode modular a microbiota intestinal dos cães, provavelmente por também atuar nas beta-mananas presentes no milho das dietas.

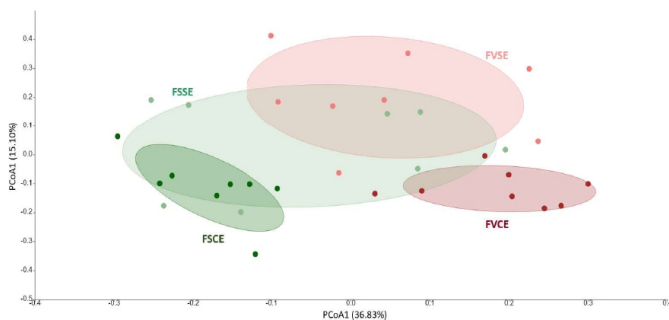


Figura 1. Beta-diversidade por dissimilaridade de Bray-Curtis dos gêneros da microbiota fecal de cães alimentados com as dietas FSSE, FSCE, FVSE e FVCE. $P < 0,05$ por PERMANOVA entre os grupos FSCE e FVCE ($P < 0,05$).

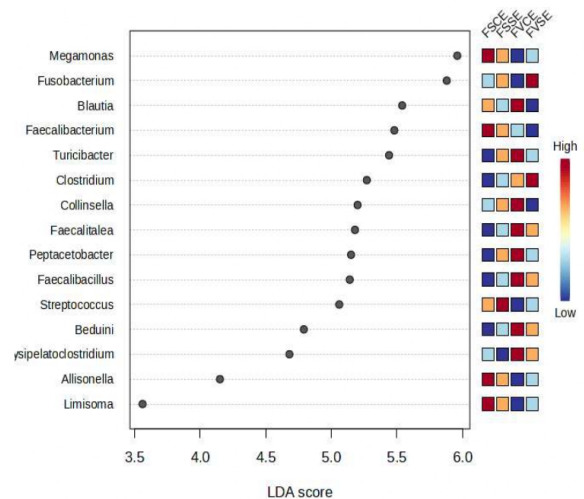


Figura 2. Análise LefSe das bactérias das fezes de cães alimentados com as dietas FSSE, FSCE, FVSE e FVCE. $P < 0,05$ corrigido para *false discovery rate*.

Conclusão: Dietas à base de FS resultam em maior concentração fecal de acetato e propionato, independentemente da adição de BM. Em contrapartida, a inclusão de BM, independentemente da fonte proteica, pode favorecer o crescimento de gêneros bacterianos associados à eubiose, como *Faecalibacterium*, *Turicibacter* e *Blautia* em cães.

Agradecimentos: Agradecemos a VB alimentos pelo suporte ao laboratório.

Referências Bibliográficas: ADEOLA, O.; COWIESON, A. J. Board-Invited Review: Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve non ruminant animal production. *Journal of Animal Science*, Champaign, v.89, n. 10, p.3189-3218, 2011. ALSHAWAQFEH, M. et al. A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic inflammatory enteropathy. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 93, n. 11, 11 out. 2017. BRITO, C. B. M. et al. Digestibility and palatability of dog foods containing different moisture levels, and the inclusion of a mould inhibitor. CHOCT M. Enzyme supplementation of poultry diets based on viscous cereals. In: Bedford, M.R. & Partridge, G.G. (ed.) *Enzymes in farm animal nutrition*. Oxford, CAB Publishing, 2001. FÉLIX, A. P.; SOUZA, C. M. M.; OLIVEIRA, S. G. Biomarkers of gastrointestinal functionality in dogs: A systematic review and meta-analysis. *Animal Feed Science and Technology*, v. 283, p. 115183, 2022.