



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

IVA CARLA DE BARROS AYRES

**MODULAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL DE CODORNAS EUROPEIAS
POR MEIO DO USO DE ENZIMAS EXÓGENAS**

AREIA

2021

IVA CARLA DE BARROS AYRES

**MODULAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL DE CODORNAS EUROPEIAS
POR MEIO DO USO DE ENZIMAS EXÓGENAS**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia da
Universidade Federal da Paraíba, como
parte das exigências para obtenção do
título de Mestre em Zootecnia

Comitê de orientação:

Prof. Dr. Fernando Guilherme Perazzo Costa

Dra. Isabelle Naemi Kaneko

Prof. Dr. José Humberto Vilar da Silva

AREIA

2021

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

A985m Ayres, Iva Carla de Barros.

Modulação da microbiota intestinal de codornas europeias por meio do uso de enzimas exógenas / Iva Carla de Barros Ayres. - Areia, 2021.
62 f.

Orientação: Fernando Guilherme Perazzo Costa.

Coorientação: Isabelle Naemi Kaneko, José Humberto Vilar Silva.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCA- Areia.

1. enzimas. 2. firmicutes. 3. fitase. 4. lactobacillus.

5. xilanase. I. Costa, Fernando Guilherme Perazzo. II. Kaneko, Isabelle Naemi. III. Silva, José Humberto Vilar. IV. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 636 (043.2)



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

TÍTULO: “MODULAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL DE CODORNAS EUROPEIAS POR MEIO DO USO DE ENZIMAS EXOGENAS”

AUTORA: Iva Carla de Barros Ayres

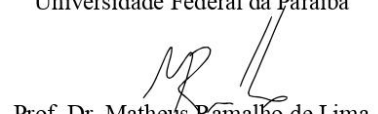
ORIENTADOR: Fernando Guilherme Perazzo Costa

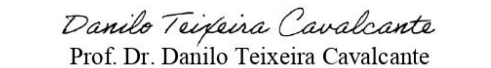
J U L G A M E N T O

CONCEITO: APROVADO

EXAMINADORES:


Prof. Dr. Fernando Guilherme Perazzo Costa
Presidente
Universidade Federal da Paraíba


Prof. Dr. Matheus Ramalho de Lima
Examinador
Universidade Federal do Sul da Bahia


Prof. Dr. Danilo Teixeira Cavalcante
Examinador
Universidade Federal do Agreste de Pernambuco

Areia, 25 de fevereiro de 2021.

Crux Sacra Sit Mihi Lux

Non Draco Sit Mihi Dux.

Oração de São Bento.

À minha amada mãe, Ivanilda de
Barros Ayres, minha maior
incentivadora nos estudos. Minha
inspiração, meu exemplo de
mulher, mãe e amiga.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus e à minha Mãe Maria, por terem me guiado durante essa jornada. Por terem me amparado nos momentos de tristeza e me dado forças para continuar. Agradeço por terem me dado força, paciência, sabedoria e coragem para seguir meus sonhos. Até aqui nos ajudou o Senhor (1 Samuel 7:12).

Aos meus pais, Ivanilda de Barros Ayres e Carlos Francisco Araújo Ayres, por todo esforço dedicado para me tornar a pessoa que sou hoje. Agradeço por todo amor, paciência, carinho, ensinamentos e por acreditarem sempre em mim. De um modo especial à minha mãe por ser minha maior fã, sempre acreditando em mim quando nem eu mesma acredito, estando sempre ao meu lado com todo seu amor e carinho. A vocês todo o meu amor e gratidão.

À minha madrinha, Etelvina Lindinalva de Oliveira, um anjo enviado de Deus para minha vida e de minha família, agradeço por sempre estar ao meu lado, me apoiando nos melhores e piores momentos. Obrigado por todo amor, carinho, paciência, por sempre acreditar e torcer por mim. A você todo meu amor e gratidão.

Ao meu orientador professor Dr. Fernando Guilherme Perazzo Costa, por todo apoio, orientação e incentivo.

Ao prof. Dr. José Humberto Vilar da Silva pela sua contribuição dada a minha dissertação, por todos os ensinamentos, paciência e dedicação. A Dra. Isabelle Naemi Kaneko, por sua inestimável contribuição, por sua paciência, ajuda e ensinamentos. A vocês minha gratidão.

Ao prof. Dr. Matheus Ramalho de Lima por ter aceito me receber em seu grupo de pesquisa, por toda ajuda, paciência, conversas, orientação e incentivo, à sua esposa, Josy, e seu filho, Matheus Filho, por serem pessoas abençoadas que me receberam e ajudaram. Ao senhor e sua família minha eterna gratidão.

Ao grupo de pesquisa em Produção e Nutrição animal (UFSB), em especial à Mirian Lima Fernandes uma pessoa abençoada por Deus, agradeço por todas as conversas, risadas, choros, apoio e incentivo durante essa jornada, ao Daniel Sales do Nascimento por ter me ajudado para realização dessa dissertação, obrigado por todo apoio e incentivo e aos membros desse grupo Wagner Macena, Julia Gabriela e Anilma Cardoso.

Aos meus grandes amigos de longas datas, Gilberto Lucas, Lilianny Querino, Yasmin Montenegro e Kamila Sofia, por todos esses longos anos de amizade, que apesar da distância, nossa amizade sempre continua firme. Obrigado pelo apoio, conversas, risadas, carinho e amor.

Aos amigos, Alany Felix, Luiz Arthur, Luís Carlos e Daniela Mendonça por sempre estarem do meu lado independente de qualquer distância, obrigado por pelo apoio, incentivo, conversas e risadas. Agradeço ao meu grande amigo, Manoel Gustavo Paranhos, que está ao meu lado em todos os momentos. Obrigado por todo apoio e incentivo.

Aos amigos que se tornaram minha família em Areia- PB, Liliane Santana e Romilton Barros, agradeço a vocês por sempre estarem ao meu lado nos momentos bons e ruins que passamos juntos, pelo apoio, incentivo, conversas, ajuda e por tudo que fizeram por mim. Agradeço ainda aos amigos que levarei sempre em meu coração, Alice Rocha, Guilherme Medeiros, Francisco Naysson, Jakeline Florêncio e Wilson Silva.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (PPGZ) por todo o conhecimento repassado.

A todos que me ajudaram dedicando uma palavra amiga, força, energia positiva no decorrer desse percurso.

MUITO OBRIGADO!

RESUMO GERAL

Modificações na microbiota intestinal das aves podem ser promovidas por meio da dieta, portanto os constituintes da dieta merecem atenção sobre seus efeitos no ecossistema intestinal, dentre eles a fibra e o uso de enzimas possuem capacidade de modular a microbiota. Com isso, objetivou-se avaliar a modulação da microbiota de codornas europeias alimentadas com dietas à base de milho, farelo de soja e farelo de trigo com a utilização ou não de xilanase e fitase. Foram utilizadas 224 codornas europeias distribuídas a partir de um delineamento inteiramente casualizado em oito tratamentos, sete repetições de quatro aves por unidade experimental. Os tratamentos consistiam em: Dieta 1 à base de milho + F. de soja (T1); Dieta 1+ xilanase (T2); Dieta 1 + fitase (T3); Dieta 1 + fitase + xilanase (T4); Dieta 2 à base de trigo+ F. de soja (T5); Dieta 2 + xilanase (T6); Dieta 2+ fitase (T7); Dieta 2+ fitase+ xilanase (T8). Aos 42 dias dez aves de cada tratamento foram abatidas para coleta do conteúdo intestinal, após a coleta foi realizado um *pool*, onde as amostras foram identificadas, congeladas e armazenadas em tubo falcon e encaminhada ao laboratório *Neoprosecta Microbiome Technologies* para a análise da microbiota. A análise estatística da microbiota foi realizada através da análise de permanova baseada no índice de similaridade de Bray-Curtis. O perfil microbiano foi influenciado com as alterações da dieta e com a suplementação das enzimas. Em ambas as dietas sem suplementação das enzimas houve maior predominância dos gêneros *Streptococcus* e *Lactobacillus* e das espécies *Streptococcus macedonicus*, *Lactobacillus agilis* e *Lactobacillus salivarius*, porém, o uso de xilanase na dieta com milho obteve predominância de *S. macedonicus* seguido de *L. agilis* e *L. salivarius*; na dieta com trigo ocorreu predominância das espécies *L. agilis* e *L. salivarius*, a utilização de fitase na dieta com milho apresentou maior domínio de *L. agilis*, ao substituir o milho pelo trigo o houve domínio de *S. macedonicus*, entretanto, a associação das duas enzimas proporcionou uma maior quantidade de *L. salivarius* e *L. agilis* com diferentes proporções entre as dietas à base de milho ou trigo. A utilização de farelo de trigo com o uso de fitase e xilanase modula a microbiota de codornas europeias, havendo abundância de bactérias específicas (*L. agilis*, *L. salivarius* e *S. macedonicus*) e dominância de bactérias ácido lácticas.

Palavras-chave: enzimas; *firmicutes*; fitase; *lactobacillus*; xilanase

ABSTRACT

Changes in intestinal microbiome of birds can be promoted through the diet, so the constituents of the diet deserve attention about their effects on the intestinal ecosystem, among them fiber and the use of enzymes have a capacity to modulate the microbiota. The objective of this study is to analyze the modulation of the microbiota of European quails diets based on corn, soybean meal and wheat bran with or without the use of xylanase and phytase. 224 European quails were used, distributed in a completely randomized design with eight treatments, seven replications with four birds per experimental unit. The treatments consisted of: Diet 1 based on corn + soybean F. (T1); Diet 1+ xylanase (T2); Diet 1 + phytase (T3); Diet 1 + phytase + xylanase (T4); Diet 2 based on wheat+ soybean F. (T5); Diet 2 + xylanase (T6); Diet 2+ phytase (T7); Diet 2+ phytase+ xylanase (T8). At 42 days, ten birds from each treatment were slaughtered to collect the intestinal contents after collection, a pool was performed, where the samples were identified, frozen and stored in a falcon tube and sent to the Neoprosperta Microbiome Technologies laboratory for analysis of the microbiota. The microbial profile was affected by dietary changes and enzyme supplementation, in both diets without enzyme supplementation there was a greater predominance of the genera *Streptococcus* and *Lactobacillus* and the species *Lactobacillus agilis*, *Streptococcus macedonicus* and *Lactobacillus salivarius*, however, the use of xylanase in the maize diet had a predominance of *S. macedonicus* followed by *L. agilis* and *L. salivarius*, however in the wheat bran diet there was a predominance of *L. agilis* and *L. salivarius* species, the use of phytase in the Maize diet showed greater dominance of *L. agilis*, when replacing corn with wheat bran, there was dominance of *S. macedonicus*, however, the association of the two enzymes provided a greater amount of *L. salivarius* and *L. agilis* with different proportions between the Maize or Wheat bran based diets. The use of wheat bran with the use of phytase and xylanase modulates the European quail microbiota, with an abundance of specific bacteria (*L. agilis*, *L. salivarius* and *S. macedonicus*) and dominance of lactic acid bacterias.

Key words: enzyme; *firmicutes*; phytase; *lactobacillus*; xylanase

LISTAS DE TABELAS

Capítulo II

Tabela 1. Composição centesimal e nutricional das dietas experimentais para codornas europeias alimentadas com farelo de trigo associada a enzimas.....	39
Tabela 2. Composição química analisada das dietas experimentais.....	40
Tabela 3. Diversidade de filo e classe presentes na microbiota duodenal de codornas de corte aos 42 dias alimentadas com farelo de trigo e xilanase e fitase.....	43
Tabela 4. Diversidade de ordem e família presentes na microbiota duodenal de codornas de corte aos 42 dias alimentadas com farelo de trigo com o uso de enzimas.....	44
Tabela 5. pH e concentração de isômeros de fitato na digesta de codornas europeias alimentadas com farelo de trigo com o uso de enzimas.....	48
Tabela 6. Desempenho de codornas de corte de 7 a 42 dias de idade alimentadas com farelo de trigo com o uso de enzimas.....	49
Tabela 7. Rendimento de carcaça e pesos das vísceras comestíveis (coração, fígado e moela) relativos a carcaça de codornas de corte aos 42 dias de idade alimentadas com farelo de trigo com o uso de enzimas.....	50

LISTA DE FIGURAS

Capítulo II

- Figura 1.** Gêneros de bactérias presentes na microbiota duodenal de codornas de corte aos 42 dias alimentadas com farelo de trigo com o uso de enzimas.....45
- Figura 2.** Espécies de bactérias presentes na microbiota duodenal de codornas de corte aos 42 dias alimentadas com farelo de trigo com o uso de enzimas.....46
- Figura 3.** Análise de similaridade entre a microbiota nos diferentes tratamentos.....47

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	13
2.	CAPÍTULO I - REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	Trato gastrointestinal das aves.....	14
2.2	Microrganismos presentes no trato gastrointestinal das aves	15
2.3	Fibra na dieta de aves e seu papel sobre a microbiota.....	19
2.4	Suplementação enzimática na dieta de aves e seu papel sobre a microbiota.....	23
2.5	Modulação da microbiota	25
	REFERÊNCIAS	28
	CAPÍTULO II - MICROBIOTA DUODENAL DE CODORNAS EUROPEIAS É MODULADO POR DIETAS A BASE DE FARELO DE TRIGO ASSOCIADAS À ENZIMAS	34
1.	INTRODUÇÃO.....	37
2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	38
2.1	Aves, dietas experimentais e desenho experimental	38
2.2	Coleta de amostra e análise da microbiota do intestino delgado	40
2.3	Isômeros de fitato e pH.....	41
2.4	Desempenho e rendimento de carcaça.....	41
2.5	Análise estatística	41
3.	RESULTADOS	43
3.1	Microbiota intestinal.....	43
3.2	Análise de Similaridade.....	47
3.3	Isômeros de fitato e pH.....	48
3.4	Desempenho e características de carcaça	49
4.	DISCUSSÃO	51
5.	CONCLUSÃO	55
	REFERÊNCIAS	56

1. INTRODUÇÃO

O trato gastrointestinal das aves é povoado por comunidades microbianas como bactérias, fungos, arqueias, protozoários e vírus. O hospedeiro forma uma relação simbiótica com a microbiota residente (SHANG et al., 2018; MAHMOOD E GUO, 2019). Esses microrganismos têm influência na troca de nutrientes, modulação do sistema imunológico, fisiologia do sistema digestivo e exclusão de patógenos (CLAVIJOE E FLÓREZ, 2017).

No entanto, os nutrientes presentes nas dietas das aves modulam o crescimento e estabelecimento da microbiota (CLAVIJOE E FLÓREZ, 2017). Entre os constituintes da dieta, a fibra e o uso de enzimas possuem uma capacidade significativa de modular a microbiota (MAHMOOD E GUO, 2019; KOGUT, 2019).

A fibra alimentar modula o desenvolvimento intestinal, metabolismo de nutrientes, auxila na integridade intestinal, imunidade e modulação do microbiota das aves. A fibra aumenta a viscosidade da digesta aumentando o tempo de trânsito fazendo com que a digesta fique retida por mais tempo, consequentemente favorece ao estabelecimento de uma microbiota seletiva (JHA et al., 2019; JHA E MISHRA, 2021; TEJEDA E KIM, 2021).

A inclusão de enzimas tem a finalidade de degradar compostos antinutricionais, seu uso aumenta a disponibilidade de nutrientes fornecendo substrato para utilização dos microrganismos, causando modificações na microbiota (BEDFORD E APAJALAHTI, 2001).

A xilanase degrada os arabinoxilanos liberando xilo-oligossacarídeos que possuem um efeito positivo na composição e atividade microbiana (AACHARY E PRAPULLA, 2010; MORGAN et al., 2017). O uso da fitase causa a liberação de fósforo e cálcio, entretanto a fitase libera mais fósforo do que cálcio promovendo alterações nas propriedades físico-química da digesta no TGI, resultando em mudanças no perfil do microbiota (PTAK et al., 2015).

Estudos com frangos de corte demonstram que o uso de fibra e enzimas promovem modificações na microbiota, aumentando a população de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Enterococcus*, além de aumentarem as concentrações de ácidos orgânicos de cadeia curta, que por sua vez será utilizado como fonte de energia para o hospedeiro e diminuição da população de bactérias patogênicas (PTAK et al., 2015; WITZIG et al., 2015; GIANNENAS et al., 2017; RIBEIRO et al., 2018; DALE et al., 2020).

Desse modo o uso de fibra e enzimas na dieta das aves podem impactar na composição da microbiota intestinal das aves, porém escassas são as informações sobre como a modificação da dieta e uso enzimas influenciam a microbiota de codornas de corte. Com isso, objetivou-se avaliar a modulação da microbiota de codornas europeias alimentadas com dietas à base de milho, farelo de soja e farelo de trigo com a utilização ou não de xilanase e fitase.

2. CAPÍTULO I - REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Trato gastrointestinal das aves

O trato gastrointestinal (TGI) é responsável por reduzir os nutrientes dos alimentos a compostos moleculares menores, por meio da fragmentação mecânica e digestão para que em seguida, possam ou não, ser absorvidos e utilizados. O trato digestório das aves é composto por bico, cavidade oral, orofaringe, esôfago (com dilatação em determinado ponto, a qual se chama de papo), proventrículo, moela, intestino delgado e intestino grosso (ceco, cólon e cloaca) (ARTONI et al., 2014; PAN E YU, 2014; FEYE et al., 2020).

As glândulas anexas também fazem parte do TGI das aves, as glândulas salivares que lubrificam o alimento ingerido além de ocorrer a secreção de enzimas como a ptialina que realiza uma pré digestão do amido, o pâncreas secreta o suco pancreático que é enriquecido com amilases, tripsina, lipases e carboxipeptidases, o fígado secreta a bile que auxilia a digestão de gorduras e essa secreção é armazenada na vesícula biliar (CLAVIJO E FLÓREZ, 2018).

Anatomicamente, o intestino delgado é dividido em três seções distintas: duodeno, jejuno e íleo (FEYE et al., 2020). O duodeno é diferenciado das demais seções pelo posicionamento do pâncreas e é formado por duas alças, sendo uma ascendente e outra descendente (RUTZ et al., 2015; FEITOSA et al., 2020). O jejuno apresenta pregas jejunais e possui um maior comprimento. O íleo é uma seção contínua ao jejuno e delimitada pelo ponto de ligação com o ceco e cólon (BOLELI et al., 2002).

O intestino delgado tem a função de promover a digestão e absorção dos nutrientes; é um local onde ocorre a mistura do quimo com as secreções digestivas. Sua capacidade é conferida devido a presença de enterócitos, células caliciformes e células enteroendócrinas, sendo estas responsáveis por digerir e absorver, produzir muco (mucina) e secreções endócrinas, respectivamente (VIEIRA, 2002; SVIHUS, 2014; FEITOSA et al., 2020).

O duodeno possui um curto tempo de trânsito com baixo pH sendo este um fator que atua ativando as enzimas (FEYE et al., 2020). As secreções pancreáticas e biliares auxiliam na digestão diluindo o quimo. O pâncreas participa da digestão secretando tripsina, amilase, lipases e carboxipeptidases; o fígado produz a bile, que quando secretada no duodeno, emulsifica a gordura vinda da dieta facilitando o processo de digestão (FEITOSA et al., 2020).

Após o início da digestão e absorção duodenal, o quimo segue para o jejuno onde ocorre a maior digestão e absorção de carboidratos, proteínas e lipídeos e logo após segue para o íleo ainda ocorre digestão de nutrientes e absorção de água, minerais e aminoácidos (RUTZ, 2002; BAVARESCO et al., 2019; FEITOSA et al., 2020).

Logo após o intestino delgado se tem início o intestino grosso onde é composto pelos cecos, cólon e cloaca, nesta região é onde ocorre maior parte da fermentação microbiana (SVIHUS et al., 2013). Nos cecos ocorre a digestão da celulose pelas bactérias, no cólon há reabsorção de água e eletrólitos e a cloaca que é uma região comum aos sistemas urinário, reprodutor e digestório, com função de reabsorção de água e eletrólitos (ARTONI, et al., 2014).

O TGI também é composto por uma microbiota complexa e diversa nas aves, incluindo bactérias, vírus, arqueias e fungos, entre esses as bactérias são as mais abundantes e possuem uma interação simbiótica benéfica com o hospedeiro influenciando na nutrição e saúde intestinal das aves (MADLALA et al., 2021).

2.2 Microrganismos presentes no trato gastrointestinal das aves

Mais de 900 espécies bacterianas que estão envolvidas na digestão dos alimentos, degradação de toxinas, estimulação do sistema imunológico, exclusão de patógenos e atividade endócrina (BORDA-MOLINA, et al., 2018). A interação entre os microrganismos e o TGI influenciam o equilíbrio das comunidades microbiana, a saúde das aves, o crescimento e a conversão alimentar (APAJALAHTI, et al., 2004).

As seções do TGI são divididas e cada uma apresenta uma microbiota diversa e única que desempenha funções metabólicas diferentes, dessa maneira a medida que o alimento é digerido diferentes grupos de microrganismos iniciam a digestão (MADLALA et al., 2021). Essas seções possuem diversas comunidades de microrganismos comensais, simbióticos e patogênicos, desse modo a composição e a diversidade bacteriana do TGI influenciam as funções intestinais como digestão e absorção (GONG, et al., 2019).

No intestino delgado proximal o número de bactérias é menor quando comparado com o intestino delgado distal, em razão da fisiologia digestiva e química do trato gastrointestinal. Isso se deve ao fato de ao passar pela moela, a digesta e os microrganismos são submetidos a um baixo pH e trituração mecânica, afetando os microrganismos presentes, além disso os sais biliares secretados no duodeno faz com que algumas bactérias são que sensíveis tenham sua atividade metabólica diminuída. Esses mecanismos, juntamente com a rápida passagem da digesta, mantem a densidade de microrganismos reduzida (APAJALAHTI E VIENOLA, 2016).

O intestino delgado é colonizado principalmente (95%) por bactérias produtoras de ácido láctico, principalmente *Lactobacillus spp*, *Enterococcus spp*. e *Streptococcus spp.*, essas bactérias possuem um metabolismo exclusivamente fermentativo, não necessitando de oxigênio, mas a maioria das espécies não são prejudicados pela sua presença (APAJALAHTI E VIENOLA, 2016).

O ceco é dominado por bactérias estritamente anaeróbicas e mais diversa, incluindo a ordem Clostridiales (família *Lachnospiraceae* e *Ruminococcaceae*), os filos Bacteroides, Proteobacteria, Actinobacteria e Firmicutes, entretanto muitas há bactérias que não possuem um gênero conhecido, uma das características dessas famílias de bactérias é sua capacidade de utilizar carboidratos complexos e produção de butirato (APAJALAHTI E VIENOLA, 2016; MADLALA et al., 2021).

Taxonomicamente o TGI de frangos é composto de filos Firmicutes, Proteobacteria, Actinobacteria e Bacteroidetes (mais presente nos cecos) alguns representantes de alguns filos podem ser encontrados como os Verrucomicrobia, Spirochetes, Fusobacteria, Elusimicrobia ou Synergistetes (KUBASOVA, et al., 2021).

O filo Firmicutes apresenta envolvimento na decomposição de polissacarídeos indigestíveis, as principais famílias desse filo são Lactobacillaceae, Streptococcaceae, Ruminococcaceae e Lachnospiraceae (RYCHLIK, 2020).

O gênero *Lactobacillus* pertencente a família Lactobacillaceae são bactérias fermentadoras eficientes de carboidratos, seu metabolismo resulta em uma diminuição do pH com isso restringe o crescimento de outras espécies bacterianas (CRHANNOVA et al., 2019).

Os *Lactobacillus* possuem uma capacidade de induzir a expressão de citocinas em células T de galinhas, participar da regulação e manutenção da homeostase intestinal, (BRISBIN et al., 2012; PARKER et al., 2018). As bactérias do ácido láctico são consideradas seguras para os animais e possuem ação probiótica pelo papel que desempenham no trato gastrointestinal, foi demonstrado que alguns *Lactobacillus* podem aliviar efetivamente a diarreia, regulando a microflora intestinal e melhorando o sistema imunológico (GIRAFFA, 2014; BIAN et al., 2016).

Streptococcus pertencentes a família Streptococcaceae, constituem uma parte significativa da microbiota comensal animal e humana, com algumas espécies com potenciais patogênicos (GOBBETTI E CALASSO, 2014). Li et al., (2019) relata que esse gênero pode ter uma atividade na degradação de polissacarídeos não amiláceos encontrados nos grãos.

As actinobactérias são bactérias gram-positivas não formadoras de esporos, não móveis e estritamente anaeróbicas, seus colonizadores mais comuns pertencem à família Coriobacteriaceae com os gêneros *Olsenella* e *Collinsella* e à família Bifidobacteriaceae com o gênero *Bifidobacterium* (RYCHLIK, 2020). As funções das bactérias do gênero *Acinetobacter* variam, algumas espécies são mais comuns em condições patogênicas, é um microrganismo presente em todo meio ambiente, foi isolado do solo, água, esgoto e alimentos, em animais diversos *Acinetobacter sp.* foram isolados, porém ocasionalmente alguns foram encontrados

como agentes de infecção em animais (PODUCH E KOTRA, 2009; BERGOGNE-BÉRÉZIN, 2014).

As *Bifidobacterium* são habitantes comuns do trato gastrointestinal de mamíferos, aves e alguns animais de sangue frio, compreendem aproximadamente 3% da microbiota total do ecossistema intestinal, existem relações patogênicas oportunistas, por exemplo, *B. dentium* e uma relação comensal ou até mesmo promotora de saúde como *B. bifidum* e *B. breve* entre as *Bifidobacterium* e o hospedeiro, além disso entre os microrganismos probióticos as *Bifidobacterium* são as mais dominantes (JIA, et al., 2010; TURRONI et al., 2011).

Proteobacterias são bactérias gram-negativas, não formadoras de esporos, aqueles que comumente colonizam o ceco de frangos incluem tanto anaeróbios facultativos (*E. coli*) quanto estritos (*Desulfovibrio*, *Sutterella*, *Parasutterella*, *Anaerobiospirillum* e *Succinatomonas*), além desses também são membros comuns da microbiota de frangos *Helicobacter* e *Campylobacter* (RYCHLIK, 2020).

Embora a presença de *E. coli* e *Salmonella* seja comum, ela compõe no máximo 0,1% da microbiota total de frangos adultos saudáveis (RYCHLIK, 2020). A *E. coli* pertence ao gênero *Clostridium* que contém mais de cem espécies comensais, mas apenas algumas delas, por exemplo *C. perfringens* e *C. tetani*, são patogênicas e produzem toxinas, a maioria dos *Clostridium* tem uma relação comensal com seu hospedeiro, desempenhando papéis na fisiologia e imunidade (LOPETUSO et al., 2013; LIU et al., 2015; ZHONG et al., 2015).

Com alta taxa de crescimento de *C. perfringens* qualquer problema que afete a homeostase intestinal, particularmente aqueles que causam danos celular, irá desencadear o seu crescimento, como essa cepa produz toxinas que se estabelecem em níveis notáveis no intestino acaba acarretando diarreia, hemorragia e conseqüentemente perda no desempenho (SHOJADOOST et al., 2012; MOORE, 2016; SANDVANG et al., 2021).

Além desses existem diferentes gêneros de bactérias residentes no trato gastrointestinal, compreendendo diversas espécies individuais, essas bactérias podem ser divididas em espécies que causam danos prejudiciais ou benefícios para o hospedeiro (GIBSON, 1998).

Os *Enterococcus* têm a capacidade de tolerar mudanças no pH, temperatura e concentrações de sal, tornando eles altamente adaptáveis (HANCHI et al., 2018; RASHID, Z. et al., 2020). Algumas cepas do gênero *Enterococcus* são probióticas, tendo um papel na regulação do metabolismo, função de barreira intestinal e função imunológica, além disso produzem bacteriocinas que são utilizadas para preservação de produtos alimentícios e podem combater a resistência bacteriana, porém, nesse gênero estão incluídas algumas espécies oportunistas de bactérias patogênicas, onde geralmente induzem infecções em indivíduos

imunodeficientes (MORRISON et al., 1997; HAMMAMI et al., 2013; GUPTA E TIWARI, 2015; HENNING et al., 2015).

Lactococcus pertencem ao grupo de bactérias lácticas que são cepas bacterianas ideais para a expressão de moléculas terapêuticas, como antígenos, citocinas e enzimas, pois podem sobreviver à degradação enzimática durante o processo digestivo do trato gastrointestinal enquanto regulam a resposta imune do hospedeiro como um componente intestinal, algumas cepas de *Lactococcus* produzem nisina sendo esta uma bacteriocina capaz de inibir o crescimento de alguns microrganismos (LIU et al., 2018; DYGICO et al., 2019).

Os *Staphylococcus* são habitantes comuns do trato gastrointestinal das aves, sua presença no intestino pode ter consequências, pois os *Staphylococcus* podem ter papéis duplos como comensais e patógenos (SALANITRO et al., 1978; ROSENSTEIN E GOTZ, 2013). Apesar de algumas espécies isoladas do intestino não serem conhecidas por causar doenças em aves e humanos, outras bactérias patogênicas são conhecidas, como *S. simulans*, *S. warneri* e *S. cohnii* subespécie *urealyticus* (SYED et al., 2020).

O gênero *Ochrobactrum* tem a capacidade distinta de persistir nos intestinos sob condições estressantes (DHARNE et al., 2008; DIRKSEN et al., 2016; KULKARNI et al., 2017). Alguns autores relatam a influência de *Ochrobactrum* no metabolismo energético, metabolismo de vitaminas, aminoácidos específicos e ácidos graxos (YANG et al., 2018; AKINYEMI, et al., 2020).

Huang et al. (2012), relatam que as *Pseudomonas* estão envolvidas nas vias celulolíticas, sendo úteis principalmente para quebra da celulose. Possuem a capacidade de hidrolisar o fitato, degradar o amido e, em solos, são conhecidas por melhorar a disponibilidade de fósforo nas plantas (MAOUGAL, et al., 2014). Algumas espécies são patogênicas, como *P. aeruginosa*, capaz de infectar as aves essa infecção costuma ser secundária a outras doenças e pode apresentar uma infecção mista aliada a outros patógenos, como *E. coli* e *Salmonella* (GONG et al., 2018).

Weissella são bactérias heterofermentativas (Björkroth et al., 2009), frequentemente associadas a alimentos frescos e fermentados, são membros normais da microbiota gastrointestinal de animais saudáveis, normalmente membros desse gênero não causam infecções, porém algumas espécies podem causar patogenicidade quando o hospedeiro está imunocomprometido (STURINO, 2018).

Os *Bacillus* influenciam na saúde intestinal, estimulando a produção de citocinas, quimiocinas e proteínas de junção, sendo benéficas para o desenvolvimento das aves (LA RAGIONE E WOODWARD, 2003; LEE et al., 2010a; SEN et al., 2012; LEE et al., 2014;

PARK E KIM, 2014). Além disso, elas possuem a capacidade de produzir peptídeos antimicrobianos, que podem reduzir a ocorrência de doenças entéricas, como enterite necrótica, salmonelose e infecção por *Eimeria maxima* em aves (KNAP et al., 2011; LA RAGIONE e WOODWARD, 2003; LEE et al., 2010b; SUMI et al., 2014).

Entretanto essas bactérias presentes no TGI podem sofrer modificações devido a composição e a digestibilidade da dieta (APAJALAHTI E VIENOLA, 2016). Kogut (2019) relata que as modificações na dieta podem induzir uma mudança significativa na composição microbiana dentro de 24 horas, pois o alimento ingerido tem uma alta concentração de substratos prontamente disponíveis que podem ser utilizados por uma ampla variedade de bactérias.

2.3 Fibra na dieta de aves e seu papel sobre a microbiota

O termo fibra em nutrição é utilizado para definir um grupo diverso de frações de carboidratos complexos de polissacarídeos não amiláceos (PNAs), oligossacarídeos e amido resistente e o composto polifenólico lignina (SINGH E KIM, 2021). De acordo com Mertens (1997), a fibra é formada por um conjunto de compostos, e não um grupo químico isolado. Assim, a composição química da fibra depende da sua origem, bem como da metodologia aplicada na sua determinação em laboratório.

Os polissacarídeos da parede celular dos vegetais são compostos por polímeros de pentoses (arabinose e xilose) e hexoses (glicose, frutose e galactose), formando assim dois grupos: β -glicanos e heteroglicanos; no primeiro grupo, se encontra a celulose e, no segundo, as pectinas e as hemiceluloses, caracterizando os polissacarídeos não-amiláceos (RUFINO et al., 2017). Em conjunto com a lignina (polímero aromático de ésteres fenólicos), este composto representa a principal fração da fibra, sendo uma parte do alimento que não pode ser digerida pelas enzimas dos animais, mas são digeridas por microrganismos simbióticos (DE ARRUDA et al., 2003).

A fibra pode ser classificada, segundo Van Soest (1963), em fibra em detergente neutro (FDN) que é composta por celulose, hemicelulose e lignina e fibra em detergente ácido (FDA) composta por celulose e lignina. Esta ainda pode ser fracionada conforme sua solubilidade em água, sendo classificada em duas partes fibra solúvel e insolúvel, a porção solúvel inclui os PNAs, hemicelulose e substâncias pécticas, já a fração insolúvel inclui lignina, celulose, hemiceluloses insolúveis, taninos, cutinas, entre outros (RUFINO et al., 2017).

A fibra insolúvel e solúvel presente nos diferentes cereais, como trigo, centeio, cevada, etc, pode exercer um efeito antinutricional nas aves, reduzindo a energia metabolizável aparente, digestibilidade do amido e utilização de outros nutrientes tendo assim uma influência

no desempenho das aves (CHOCT E ANNISON, 1992; SINGH E KIM, 2021). A viscosidade da digesta é um dos principais fatores que afetam a digestibilidade, uma maior viscosidade tem influência na difusão eficiente dos nutrientes, reduzindo sua degradação por enzimas endógenas na superfície da mucosa (MONTAGNE et al., 2003; BEDERSKA-LOJEWSKA et al., 2017).

As fibras solúveis, como β -glucanos da cevada e aveia, arabinoxilanos do trigo e centeio, têm sido associadas ao aumento a viscosidade intestinal e reduzem a taxa de passagem do quimo, causando uma redução no consumo de ração e na taxa de absorção dos nutrientes, influenciando assim no desempenho das aves (TEJEDA E KIM, 2021). Diferentemente, a fibra insolúvel, rico na casca de aveia e casca de girassol, possui um efeito diferente no TGI do que a fibra solúvel, quantidades moderadas de fibra insolúvel na dieta das aves podem aumentar o tempo de retenção do quimo na parte superior do TGI, estimulando o desenvolvimento da moela e produção de enzimas endógenas, melhorando a digestibilidade do amido, lipídios e outros componentes da dieta (JHA E MISHRA, 2021).

A fibra insolúvel presente na dieta das aves causa uma menor viscosidade quando comparado com a fibra solúvel, possui uma menor fermentabilidade devido ao limitado acesso das enzimas do hospedeiro ou microbianas (SINGH E KIM, 2021). Segundo Thebaudin et al. (1997) a fibra insolúvel se liga a água por meio de tensão superficial ou ligações de hidrogênio nos poros de sua matriz, e a quantidade de água que ela pode se ligar depende de suas características de intumescência ou capacidade de retenção de água. Dessa maneira, uma dieta contendo uma quantidade maior de fibra insolúvel pode afetar a taxa de trânsito da digesta e passagem de nutrientes no trato gastrointestinal devido a essa capacidade de retenção de água (MUDGIL E BARAK, 2013).

A fibra também pode afetar a biodisponibilidade de minerais e vitaminas, a propriedade de adsorção da fibra reduz a utilização desses nutrientes pelo hospedeiro (SINGH E KIM, 2021). De acordo com Cowieson et al. (2004), a presença de fitato associado a fibra aumenta a excreção de minerais endógenos em frangos. O fitato é capaz de quelatar nutrientes positivamente carregados, comprometendo a utilização de proteínas, energia e minerais. Uma vez ligados à molécula de ácido fítico, esses nutrientes não são solubilizados, tornando-os indisponíveis ao animal (LIMA et al. 2007; FERREIRA et al., 2015).

Entretanto, a inclusão da fibra possui impactos benéficos no desenvolvimento do TGI, fisiologia digestiva ao estimular o desenvolvimento do trato e produção de enzimas, a digestão dos nutrientes, fermentação e processos de absorção das aves. Auxilia na integridade intestinal, melhorando a estrutura e funções da mucosa, aumentando a população e diversidade

bacteriana do TGI, promovendo assim uma melhora na saúde intestinal e funções imunológicas (JHA E MISHRA, 2021).

As fibras também podem ser usadas como uma alternativa ao uso de antibióticos, que foram amplamente utilizados na avicultura para prevenir, controlar e tratar doenças, porém seu uso pode causar resíduo na carne e espécies bacterianas resistentes que podem afetar a saúde animal e humana. Devido às restrições do uso de antibióticos como promotores de crescimento, observa-se um aumento da incidência de doenças durante a produção de frangos de corte (YANG et al., 2019; EMAMI et al., 2021).

Portanto, há necessidade de se estabelecer alternativas aos antibióticos que possam melhorar a saúde intestinal e o desempenho das aves, nesse sentido a fibra vem se destacando devido aos seus vários efeitos benéficos, especialmente na manutenção da saúde intestinal, sendo esse um fator essencial para melhorar o desempenho e a saúde das aves, tornando assim a fibra uma alternativa potencial aos antibióticos na dieta (SHANG et al., 2020).

Os carboidratos complexos e polissacarídeos indigestíveis presentes na fibra fornecem um substrato fermentativo essencial para o microbiota intestinal e causam um impacto na composição bacteriana, diversidade e capacidade metabólica (SONNENBURG E SONNENBURG, 2014).

O processo de fermentação microbiana da fibra é considerado mais variável do que a digestão dos macronutrientes devido à variedade de fontes de fibra e às propriedades físico-químicas dessa fibra (solubilidade, viscosidade e capacidade de retenção de água). A fibra solúvel tem a capacidade de aumentar a viscosidade da digesta e o tempo de trânsito, dessa forma a digesta retida por mais tempo oferece uma oportunidade para a proliferação da microbiota seletiva (JHA et al., 2019).

Os níveis de fibras nas dietas podem modificar a composição da microbiota, muitas fibras solúveis funcionam como prebióticos, promovendo diretamente o crescimento de bactérias intestinais benéficas e a produção de ácidos orgânicos de cadeia curta (AOCC), da mesma forma as fibras insolúveis podem impactar a colonização de microrganismos benéficos intestinais (JIMÉNEZ-MORENO et al., 2016; JHA et al., 2019).

Mahmood e Guo (2019) relatam que as bactérias comensais benéficas colonizam a fração indigestível da dieta, em particular os PNAs, produzindo metabólitos, como as bacteriocinas, que fornecem atividade protetora contra bactérias patogênicas, além de que produzem produtos de fermentação nos quais outros membros do ecossistema intestinal irão utilizar para a produção de ácidos orgânicos de cadeia curta em especial propionato, butirato e acetato, que por sua vez será utilizado como fonte de energia para o hospedeiro. O butirato

recebe uma atenção especial devido as suas propriedades anti-inflamatórias e por ser fonte de energia para os enterócitos (MAHMOOD E GUO, 2019).

Além dos ácidos orgânicos de cadeia curta, o ácido láctico também é produzido em quantidades significativas no intestino delgado (JÓZEFIAK et al., 2005). Segundo De Maesschalck et al. (2015), bactérias *Lactobacillus* estimulam a produção de butirato, isso ocorre por meio de uma alimentação cruzada entre lactato e as bactérias produtoras de butirato.

Em estudo com frangos de corte alimentados com frutooligossacarídeo, Xu et al. (2003) observaram um aumento significativo de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, enquanto houve uma diminuição no número de *Escherichia coli*. Além disso, a suplementação de frutooligossacarídeo melhorou a atividade da amilase e protease no intestino delgado, demonstrando que uma microbiota benéfica estimula as atividades de enzimas digestivas intestinais.

Wu et al. (2011), demonstram que a inclusão de alta fibra solúvel (7% de casca de soja) nas dietas de frangos de corte aumentou significativamente os ácidos acético, propiônico, isobutírico e butírico, láctico e succínico no conteúdo cecal e diminuiu a produção de ácido fórmico em comparação com a baixa fibra dietética quando desafiado com *Clostridium perfringens*.

Segundo Abazari et al. (2016), a utilização de casca de arroz como fonte de lignocelulose promove o crescimento de bactérias *Lactobacillus* benéficas e reduz a população de bactérias patogênicas, como algumas *Escherichia coli* no íleo e ceco de frangos de corte.

Shang et al. (2020), estudando os efeitos do farelo de trigo em comparação aos antibióticos em frangos de corte, observaram que a suplementação de farelo de trigo aumentou a diversidade α da microbiota cecal, a nível de gênero de *Lachnoclostridium* e *Butyricicoccus*. Houve um aumento nas concentrações de ácidos graxos de cadeia curta (dias 21 e 42) e nas concentrações de ácido butírico (dia 42) em comparação ao tratamento controle. A utilização de 3% de farelo de trigo promoveu uma melhora na imunidade intestinal, função de barreira e composição microbiana, tendo um papel na substituição de antibióticos.

Entretanto, a utilização de fibras na ração possui alguns entraves devido a suas propriedades antinutricionais e baixa digestibilidade, desse modo a adição de enzimas exógenas podem minimizar os efeitos antinutritivos e maximizar os benefícios da fibra, fornecendo produtos degradados, como oligômeros de substratos polissacarídicos, para utilização pelos microrganismos intestinais (BEDFORD E APAJALAHTI, 2001; SINGH E KIM, 2021).

2.4 Suplementação enzimática na dieta de aves e seu papel sobre a microbiota

As dietas fornecidas as aves são compostas principalmente por ingredientes alimentares de origem vegetal, esses ingredientes possuem fatores antinutricionais presentes em sua composição (fitato, PNAs e inibidores de protease) limitando a utilização dos nutrientes (ADEOLA E COWIESON, 2011).

Com isso, a suplementação de enzimas exógenas tem sido utilizada devido a sua capacidade de melhorar a eficiência produtiva. As enzimas são proteínas especializadas com função de controlar a velocidade e regular as reações químicas do organismo, possuem a capacidade de se ligar ao substrato permanecendo ativa por longos períodos (BARBOSA et al., 2014).

Diversos efeitos benéficos são associados ao seu uso, incluindo o aumento na digestão de produtos de baixa qualidade, redução da perda de nutrientes e contaminação ambiental, remoção de fatores antinutricionais e possível redução dos níveis nutricionais da dieta (CASTRO E KIM, 2021).

A utilização de enzimas exógenas em dietas contendo uma alta proporção de PNA solúveis reduzem a alta viscosidade da digesta promovendo uma melhoria na digestibilidade dos nutrientes. Em dietas com baixa viscosidade, a ação enzimática tem sido atribuída à sua capacidade de degradar as paredes celulares dos cereais, permitindo assim um maior acesso ao conteúdo celular pelas enzimas digestivas (RIBEIRO et al., 2018).

O uso de carboidrases exógenas, como a fitase e a xilanase pode aumentar a disponibilidade de nutrientes afetados pelo alto teor de fibra na ração e ao mesmo tempo fornecer fragmentos de fibra degradados e oligossacarídeos para utilização dos microrganismos (BEDFORD E APAJALAHTI, 2001). Essas enzimas diminuem a viscosidade da digesta e minimizam o efeito deletério da fibra viscosa na mucosa intestinal das aves (CHOCT E KOCHER, 2000).

Em dietas à base de trigo ricas em arabinoxilanos, a utilização de β -1,4-xilanases exógena promove a liberação de xilo-oligossacarídeos (XOS) tendo esses efeitos benéficos sobre a população microbiana que coloniza a porção distal do TGI. Deste modo, a inclusão de β -1,4-xilanases exógena além de sua atividade direta sobre os arabinoxilanos viscosos solúveis ainda resulta na produção de XOS, que podem melhorar a saúde intestinal e estimular a resposta imune das aves devido a sua atividade prebiótica (DE MAESSCHALCK et al., 2015; RIBEIRO et al., 2018).

Ribeiro et al. (2018), observaram que a suplementação de xilanase exógena em dietas à base de trigo e milho para frangos de corte diminui a viscosidade da digesta ao degradar os

arabinosilanos solúveis em água, gerando arabinosilo-oligossacarídeos (AXOS) e XOS, tendo esses efeitos prebióticos para as aves. Além de aumentarem a população dos gêneros *Bifidobacterium* e *Solirubrobacter*.

Dale et al. (2020), estudando os efeitos da suplementação de xilanase exógena em frangos de corte relatam que a degradação do arabinosilano do trigo foi aumentada pela suplementação de xilanase, o que pode ter aumentado a produção de AOCC (acetato) no ceco e, portanto, potencialmente modulado o microbiota cecal, mas sem afetar o desempenho das aves.

A fitase tem efeitos significativos na digestibilidade de Ca, P e minerais, bem como na produção de mucina intestinal e nas perdas endógenas, todos influenciando o suprimento de nutrientes e o ambiente intestinal, o que altera as pressões de seleção sobre as espécies bacterianas (BEDFORD E COWIENSON, 2012).

A incorporação de fitase na matriz das dietas avícolas ocasiona mudanças significativas na utilização de calcário e fosfatos na dieta, por meio da liberação de fósforo e cálcio dos complexos de fitato, porém a fitase libera mais fósforo do que cálcio promovendo alterações nas propriedades físico-química da digesta no TGI (PTAK et al., 2015).

Modificações no pH da digesta pode resultar em mudanças nos perfis da microbiota endógena e em sua atividade. É considerado que um baixo pH no intestino delgado possui um efeito bacteriostático sendo isso um fator positivo para a microbiota e integridade intestinal, reduzindo a ocorrência de *Enterobacteriaceae* potencialmente patogênicas e aumentando as populações de bactérias lácticas (BAL) favoráveis. Portanto, o efeito da fitase pode estar relacionado a uma redução na capacidade tampão de uma dieta com efeitos subsequentes nos perfis da microbiota (PAN E YU, 2014; PTAK et al., 2015).

A suplementação de fitase na dieta de frangos de corte levou ao aumento do número total de contagens microbianas no intestino delgado e uma maior abundância relativa de bactérias como *Lactobacillus* e *Enterococcus* (PTAK et al., 2015; WITZIG et al., 2015).

Além da fitase e xilanase, a suplementação com outras enzimas podem influenciar a composição do microbiota intestinal. Giannenas et al. (2017), relatam que a utilização de protease na dieta de frangos de corte aumentou a presença de *Lactobacillus spp.* e levou a uma diminuição na população de *Clostridium perfringens*.

Em outro estudo com frangos de corte a combinação de protease com α -amilase e glucoamilase aumentou a abundância relativa de *Bifidobacterium*, *Staphylococcus*, *Bacteroides* e *Megamonas*, que são geralmente consideradas bactérias benéficas (YIN et al., 2018).

Os efeitos da suplementação de protease e fitase para frangos de corte foram observados por Borda-Molina et al. (2019), onde o filo firmicutes foi o mais abundante para ambas enzimas, mudanças significativas na composição da microbiota foram observadas nos gêneros *Streptococcus*, *Lactobacillus* e *Clostridiaceae*.

2.5 Modulação da microbiota

As aves possuem uma microbiota complexa, cuja composição e metabolismo variam conforme os compartimentos intestinais com microambientes físico-químicos altamente diferentes (APAJALAHTI E VIENOLA, 2016). A microbiota é considerada uma parte essencial do ecossistema do trato gastrointestinal, funcionando como um órgão adicional e contribuindo para utilização de nutrientes, melhoria do estado da saúde e modulação imunológica do hospedeiro (STANLEY et al., 2014; SÁNCHEZ et al., 2017; JHA et al., 2019).

A microbiota intestinal forma uma barreira protetora ao se associar com o epitélio do enterócito; esse epitélio é coberto por uma camada de mucosa que quando bem estruturada e intacta é um componente para defesa do organismo contra a colonização de bactérias patogênicas (SHANG et al., 2018; MAHMOOD E GUO, 2019). Segundo Jha et al. (2019) a microbiota intestinal é de suma importância para manter uma estrutura e produção normal do muco intestinal.

O sistema imunológico tem influência da microbiota e as comunidades microbianas excluem através de competição as bactérias patogênicas que se aderem a superfície do epitélio, e acabam estimulando e regulando o sistema imunológico do hospedeiro. Um sistema imunológico mais saudável é devido a presença de bactérias benéficas, sendo, portanto, capaz de secretar imunoglobulinas A (IgA) que irá se ligar aos epítomos bacterianos e ajudam-no na regulação da composição microbiana (MITCHELL E MOTETO, 2006; SUZUKI E NAKAJIMA, 2014).

Além disso as bactérias benéficas colonizam a fração indigestível da dieta produzindo produtos de fermentação nos quais os outros microrganismos se multiplicam e produzem ácidos orgânicos de cadeia curta que, por sua vez, serão utilizados pelo hospedeiro como fonte de energia (BORDA-MOLINA et al., 2018).

Entretanto, a composição e a digestibilidade da dieta possui um grande impacto na microbiota intestinal, uma vez que os compostos de origem alimentar são os substratos de crescimento mais importantes para os microrganismos diferentes. As dietas são formuladas a fim de atender as exigências nutricionais das aves, porém o manejo da microbiota por meio da

dieta também pode desempenhar um papel importante na saúde e no desempenho da ave (APAJALAHTI E VIENOLA, 2016).

A interação entre a microbiota intestinal e a dieta das aves são bem estabelecidas, visto que os fatores dietéticos são conhecidos por modificar a microbiota intestinal. A dieta tem um impacto na microbiota intestinal das aves, pois os componentes da dieta que escapam da digestão e absorção do hospedeiro servem como substrato para o crescimento das bactérias (PAN E YU, 2014).

No geral a fibra dietética altera o ambiente intestinal, fornecendo substratos e plataformas de ligação para o crescimento microbiano, permitindo assim que as espécies microbianas que são capazes de utilizar esses substratos prosperem (DEEHAN et al., 2018).

A fibra presente nos alimentos tem um impacto na composição da microbiota, a microbiota como um todo contribui para degradação da fibra, no entanto, apenas as bactérias desempenham esse papel mais eficiente (JHA et al., 2019). A variação na estrutura química da fibra tende a afetar sua utilização pelas bactérias presentes, pois são necessárias enzimas específicas, implicando que a microbiota tenha uma ampla capacidade de quebrar e utilizar essas moléculas complexas (MAHMOOD E GUO, 2019).

A fibra solúvel tem a capacidade de aumentar a viscosidade da digesta intestinal e o tempo de trânsito, aumentando o bolo alimentar fazendo com que a digesta fique retida no lúmen intestinal por mais tempo oferece oportunidade para a proliferação da microbiota seletiva (JHA et al., 2019). Essas bactérias são capazes de hidrolisar carboidratos e polissacarídeos indigestíveis, permitindo a fermentação posterior por outros membros do ecossistema intestinal que produzem ácidos orgânicos de cadeia curta que, por sua vez, ficam disponíveis para o hospedeiro (APAJALAHTI E VIENOLA, 2016).

Além da fibra diversos aditivos utilizados na dieta das aves podem afetar a microbiota intestinal por estimular o crescimento de bactérias benéficas e consequentemente reduzir a quantidade de patógenos (BORDA-MOLINA et al., 2018). As enzimas exógenas além de influenciar na participação de nutrientes para o hospedeiro, auxiliam por meio de sua ação a produzirem nutrientes para as populações bacterianas específicas (BEDFORD E COWIENSON, 2012).

A utilização de enzimas, como a xilanase e a β - glucanase, são conhecidas por estimular o crescimento de bactérias do ácido láctico, essas se aderem ao epitélio intestinal diminuindo assim a população de bactérias patogênicas (RODRÍGUEZ et al., 2011; PAN E YU, 2014).

O ácido fítico presente nas dietas das aves e a pouca capacidade das aves em produzir fitase endógena na mucosa do trato gastrointestinal leva a necessidade de suplementação com

fitases microbianas que são benéficas pois catalisam a hidrólise de grupos fosfato (RODEHUTSCORD e ROSENFELDER, 2016), além disso a suplementação de fitase aumenta a abundância de *Lactobacillus sp.*, *Enterococcus sp.* e *Clostridium leptum* (PTAK et al., 2015).

Gonzalez-Ortiz, et al. (2020), analisando a resposta de frangos de corte e perus suplementadas com fitase em diferentes doses com ou sem xilanase, observaram que a xilanase em frangos resultou em uma menor população de *Lactobacillus*, mas aumentou *Mollicutes*, *Ruminococcus*, *Clostridiales* e *Bifidobacterium*, entretanto em perus houve um aumento de *Lachnospiraceae*, *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. A suplementação da dieta de perus com doses crescentes de fitase não afetou a microbiota cecal ao contrário do que foi observado em frangos de corte.

O efeito da suplementação de xilanase e probiótico em frangos de corte foi observado por Machado et al. (2020), onde houve efeitos benéficos da suplementação, como a modulação da microbiota ileal com maior frequência de bactérias *Lactobacillales* e uma menor viscosidade intestinal, tendo um efeito positivo no ganho de peso.

REFERÊNCIAS

- AACHARY, A. A.; PRAPULLA, S. G. Xylooligosaccharides (XOS) as an emerging prebiotic: microbial synthesis, utilization, structural characterization, bioactive properties, and applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 10, n. 1, p. 2-16, 2011.
- ABAZARI, Ali et al. The effect of rice husk as an insoluble dietary fiber source on intestinal morphology and Lactobacilli and Escherichia coli populations in broilers. **Iranian Journal of Veterinary Medicine**, v. 10, n. 3, p. 217-224, 2016.
- ADEOLA, O.; COWIESON, A. J. Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. **Journal of animal science**, v. 89, n. 10, p. 3189-3218, 2011.
- APAJALAHTI, J.; KETTUNEN, A.; GRAHAM, H. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. **World's Poultry Science Journal**, v. 60, n. 2, p. 223-232, 2004.
- APAJALAHTI, J.; VIENOLA, K. Interaction between chicken intestinal microbiota and protein digestion. **Animal Feed Science and Technology**, v. 221, p. 323-330, 2016.
- ARTONI et al. Sistema digestório das aves. In: SAKOMURA., et al. **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal, Funep, 2014.
- BARBOSA, N. A. A. et al. Digestibilidade ileal de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com enzimas exógenas. **Comunicata Scientiae**, v. 5, n. 4, p. 361-369, 2014.
- BAVARESCO, C. et al. Morfometria intestinal e qualidade óssea de codornas japonesas alimentadas por um período prolongado com coprodutos do óleo de soja. **Archives of Veterinary Science**, v. 24, n. 1, 2019.
- BEDERSKA-ŁOJEWSKA, D. et al. Rye non-starch polysaccharides: their impact on poultry intestinal physiology, nutrients digestibility and performance indices—a review. **Annals of Animal Science**, v. 17, n. 2, p. 351-369, 2017.
- BEDFORD, M.R.; APAJALAHTI, J. Microbial interactions in response to Exogenous enzyme utilization. In: BEDFORD, M.R., PARTRIGE, G.G., **Enzymes in Farm Animal Nutrition**; CAB International: Wallingford, UK, 2001; pp. 299–314.
- BEDFORD, M. R.; COWIESON, A. J. Exogenous enzymes and their effects on intestinal microbiology. **Animal Feed Science and Technology**, v. 173, n. 1-2, p. 76-85, 2012.
- BOLELI, I.C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: Funep, cap. 5, p. 75-95, 2002.

BORDA-MOLINA, D.; SEIFERT, J.; CAMARINHA-SILVA, A. Current perspectives of the chicken gastrointestinal tract and its microbiome. **Computational and structural biotechnology journal**, v. 16, p. 131-139, 2018.

BORDA-MOLINA, D. et al. Effects of protease and phytase supplements on small intestinal microbiota and amino acid digestibility in broiler chickens. **Poultry science**, v. 98, n. 7, p. 2906-2918, 2019.

CASTRO, F. L. S.; KIM, W. K. Applied Research Note: Exogenous lipase supplementation to low-energy, low-protein, and low-amino acid diets for broiler chickens from one to 42 d. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 30, n. 1, p. 100117, 2021.

CHOCT, M.; ANNISON, G. Anti-nutritive effect of wheat pentosans in broiler chickens: Roles of viscosity and gut microflora. **British poultry science**, v. 33, n. 4, p. 821-834, 1992.

CHOCT, M.; KOCHER, A. Non-starch carbohydrates: Digestion and its secondary effects in monogastrics. In: **Proceedings-Nutrition Society of Australia. Nutrition Society of Australia**; 1998, 2000. p. 31-38.

CLAVIJO, V.; FLÓREZ, M. J. V. The gastrointestinal microbiome and its association with the control of pathogens in broiler chicken production: a review. **Poultry science**, v. 97, n. 3, p. 1006-1021, 2018.

COWIESON, A. J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R. The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. **British poultry science**, v. 45, n. 1, p. 101-108, 2004.

CRHANOVA, M. et al. Systematic culturomics shows that half of chicken caecal microbiota members can be grown in vitro except for two lineages of Clostridiales and a single lineage of Bacteroidetes. **Microorganisms**, v. 7, n. 11, p. 496, 2019.

DALE, T. et al. The effects of exogenous xylanase supplementation on the in vivo generation of xylooligosaccharides and monosaccharides in broilers fed a wheat-based diet. **British Poultry Science**, v. 61, n. 4, p. 471-481, 2020.

DE ARRUDA, Alex Martins Varela et al. Importance of fiber in rabbit nutrition/Importância da fibra na nutrição de coelhos. **Semina: Ciências Agrárias**, 2003.

DE MAESSCHALCK, C.; EECKHAUT, V.; MAERTENS, L., et al. The effects of xylo-oligosaccharides on performance and microbiota in broiler chickens. **Applied and environmental microbiology**, 2015.

DE OLIVEIRA FEITOSA, T. J. et al. Microbiota intestinal das aves de produção: revisão bibliográfica. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 5, p. e42952779-e42952779, 2020.

DEEHAN, E. C. et al. Modulation of the gastrointestinal microbiome with nondigestible fermentable carbohydrates to improve human health. **Bugs as Drugs: Therapeutic Microbes for the Prevention and Treatment of Disease**, p. 453-483, 2018.

EMAMI, N. K. et al. Managing broilers gut health with antibiotic-free diets during subclinical necrotic enteritis. **Poultry Science**, v. 100, n. 5, p. 101055, 2021.

FERREIRA, C. B.; GERALDO, A.; VIEIRA FILHO, J. A. et al. Associação de carboidrases e fitase em dietas valorizadas e seus efeitos sobre desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras leves. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, p. 249-254, 2015.

FEYE, K. M. et al. Influential factors on the composition of the conventionally raised broiler gastrointestinal microbiomes. **Poultry science**, v. 99, n. 2, p. 653-659, 2020.

GIANNENAS, Ilias et al. Effects of protease addition and replacement of soybean meal by corn gluten meal on the growth of broilers and on the environmental performances of a broiler production system in Greece. **PloS one**, v. 12, n. 1, p. e0169511, 2017.

GONG, Y. et al. Early intervention with cecal fermentation broth regulates the colonization and development of gut microbiota in broiler chickens. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 1422, 2019.

GONZALEZ-ORTIZ, G. et al. Short-chain fatty acids and ceca microbiota profiles in broilers and turkeys in response to diets supplemented with phytase at varying concentrations, with or without xylanase. **Poultry science**, v. 99, n. 4, p. 2068-2077, 2020.

JIMÉNEZ-MORENO, E. et al. Inclusion of insoluble fiber sources in mash or pellet diets for young broilers. 1. Effects on growth performance and water intake. **Poultry science**, v. 95, n. 1, p. 41-52, 2016.

JHA, R. et al. Dietary Fiber and Intestinal Health of Monogastric Animals. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, p. 48, 2019.

JHA, R.; MISHRA, P. Dietary fiber in poultry nutrition and their effects on nutrient utilization, performance, gut health, and on the environment: a review. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 12, n. 1, p. 1-16, 2021.

JÓZEFIK, D. et al. Fermentation in broiler chicken gastrointestinal tract as affected by high dietary inclusion of barley and beta-glucanase supplementation. **Journal of animal and Feed Sciences**, v. 14, n. 4, p. 695, 2005.

KOGUT, M. H. The effect of microbiome modulation on the intestinal health of poultry. **Animal Feed Science and Technology**, v. 250, p. 32-40, 2019.

LIMA, R. L. et al. Enzimas exógenas na alimentação de aves. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 1, n. 4, p. 99-110, 2007.

MACHADO, N. J. B. et al. Effects of xylanase and probiotic supplementation on broiler chicken diets. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 49, 2020.

MADLALA, T.; OKPEKU, M.; ADELEKE, M. A. Understanding the interactions between *Eimeria* infection and gut microbiota, towards the control of chicken coccidiosis: a review. **Parasite**, v. 28, 2021.

MAHMOOD, T.; GUO, Y. Dietary fiber and chicken microbiome interaction: Where will it lead to? **Animal Nutrition**, v. 6, n. 1, p. 1-8, 2020.

MERTENS, D. R. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 80, n. 7, p. 1463-1481, 1997.

MITCHELL, M. A.; MORETÓ, M.; PERRY, G. C. Absorptive function of the small intestine: adaptations meeting demand. **Avian gut function in health and disease**, p. 43-63, 2006.

MONTAGNE, L.; PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. **Animal feed science and technology**, v. 108, n. 1-4, p. 95-117, 2003.

MORGAN, N. K.; WALLACE, A.; BEDFORD, M. R.; CHOCT, M. Efficiency of xylanases from families 10 and 11 in production of xylo-oligosaccharides from wheat arabinoxylans. **Carbohydrate Polymers**, v. 167, p. 290-296, 2017.

MUDGIL, D.; BARAK, S. Composition, properties and health benefits of indigestible carbohydrate polymers as dietary fiber: A review. **International journal of biological macromolecules**, v. 61, p. 1-6, 2013.

PAN, D.; YU, Z. Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet. **Gut microbes**, v. 5, n. 1, p. 108-119, 2014.

PTAK, A.; BEDFORD, M. R.; ŚWIĄTKIEWICZ, S., et al. Phytase modulates ileal microbiota and enhances growth performance of the broiler chickens. **PloS one**, v. 10, n. 3, p. e0119770, 2015.

RIBEIRO, T. et al. Xylo-oligosaccharides display a prebiotic activity when used to supplement wheat or corn-based diets for broilers. **Poultry science**, v. 97, n. 12, p. 4330-4341, 2018.

RODEHUTSCORD, M. et al. Update on phytate degradation pattern in the gastrointestinal tract of pigs and broiler chickens. **Phytate destruction consequences for precision animal nutrition. Wageningen, The Netherlands: Wageningen Acad. Publishers**, p. 15-28, 2016.

RUFINO, J. P. F. et al. Fibra alimentar em dietas para aves—Uma revisão. **Revista Científica de Avicultura e Suinocultura**, v. 3, n. 2, 2017.

RUTZ, F. et al. Fisiologia da digestão e da absorção em aves. **Anais do XVI Simpósio Brasil Sul de Avicultura**, p. 58-71, 2015.

RUTZ, F. Proteínas: Digestão e Absorção. In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte**. 2. Ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, p.135-141, 2002.

RYCHLIK, Ivan. Composition and function of chicken gut microbiota. **Animals**, v. 10, n. 1, p. 103, 2020.

SÁNCHEZ, Borja et al. Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease. **Molecular nutrition & food research**, v. 61, n. 1, p. 1600240, 2017.

SHANG, Y., et al. Chicken gut microbiota: importance and detection technology. **Frontiers in veterinary science**, v. 5, p. 254, 2018.

SHANG, Q. H. et al. Effects of wheat bran in comparison to antibiotics on growth performance, intestinal immunity, barrier function, and microbial composition in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 99, n. 10, p. 4929-4938, 2020.

SINGH, A. K.; KIM, W. K. Effects of Dietary Fiber on Nutrients Utilization and Gut Health of Poultry: A Review of Challenges and Opportunities. **Animals**, v. 11, n. 1, p. 181, 2021.

SOEST, P.J V. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. I. Preparation of fiber residues of low nitrogen content. **Journal of the association of Official Agricultural Chemists**, v. 46, n. 5, p. 825-829, 1963.

SONNENBURG, E. D.; SONNENBURG, J. L. Starving our microbial self: the deleterious consequences of a diet deficient in microbiota-accessible carbohydrates. **Cell metabolism**, v. 20, n. 5, p. 779-786, 2014.

STANLEY, D.; HUGHES, R.t J.; MOORE, R. J. Microbiota of the chicken gastrointestinal tract: influence on health, productivity and disease. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 98, n. 10, p. 4301-4310, 2014.

SUZUKI, K.; NAKAJIMA, A. New aspects of IgA synthesis in the gut. **International immunology**, v. 26, n. 9, p. 489-494, 2014.

SVIHUS, B. Function of the digestive system. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 23, n. 2, p. 306-314, 2014.

SVIHUS, B.; CHOCT, M.; CLASSEN, H. L. Function and nutritional roles of the avian caeca: a review. **World's Poultry Science Journal**, v. 69, n. 2, p. 249-264, 2013.

TEJEDA, O. J.; KIM, W. K. Effects of fiber type, particle size, and inclusion level on the growth performance, digestive organ growth, intestinal morphology, intestinal viscosity, and gene expression of broilers. **Poultry Science**, p. 101397, 2021.

THEBAUDIN, J. Y. et al. Fibras dietéticas: interesse nutricional e tecnológico. **Trends in Food Science & Technology**, v. 8, n. 2, pág. 41-48, 1997.

VIEIRA, S. L. Carboidratos: Digestão e Absorção. In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte**. 2. Ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, p. 125-133, 2002.

WITZIG, M. et al. Spatial variation of the gut microbiota in broiler chickens as affected by dietary available phosphorus and assessed by T-RFLP analysis and 454 pyrosequencing. **PloS one**, v. 10, n. 11, p. e0143442, 2015.

WU S. B, et al. Role of dietary fibre and litter type on development of necrotic enteritis in broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*. Sydney, Australia. **In: Proceedings of the Australian Poultry Science Symposium**, 2011.

XU, Z. R. et al. Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. **Poultry science**, v. 82, n. 6, p. 1030-1036, 2003.

YANG, Xin et al. Effects of encapsulated organic acids and essential oils on intestinal barrier, microbial count, and bacterial metabolites in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 98, n. 7, p. 2858-2865, 2019.

YIN, Dafei et al. Supplementation of amylase combined with glucoamylase or protease changes intestinal microbiota diversity and benefits for broilers fed a diet of newly harvested corn. **Journal of animal science and biotechnology**, v. 9, n. 1, p. 1-13, 2018.

**CAPÍTULO II - MICROBIOTA DUODENAL DE CODORNAS EUROPEIAS É
MODULADO POR DIETAS A BASE DE FARELO DE TRIGO ASSOCIADAS À
ENZIMAS**

RESUMO

A fibra presente nos alimentos apresenta um impacto na composição da microbiota e o uso de aditivos na dieta das aves pode modular a microbiota intestinal das aves, entretanto ainda são escassas as informações sobre como a modificação da dieta e a utilização de enzimas influenciam o microbiota de codornas de corte com isso objetivou-se avaliar a modulação da microbiota duodenal de codornas de corte alimentadas com dietas à base milho, farelo de trigo e farelo de soja com a utilização ou não de xilanase e fitase. Foram utilizadas 224 codornas europeias distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado com oito tratamentos, sete repetições com quatro aves por unidade experimental. Os tratamentos consistiam em: Dieta 1 à base de milho + F. de soja (T1); Dieta 1+ xilanase (T2); Dieta 1 + fitase (T3); Dieta 1 + fitase + xilanase (T4); Dieta 2 à base de trigo+ F. de soja (T5); Dieta 2 + xilanase (T6); Dieta 2+ fitase (T7); Dieta 2+ fitase+ xilanase (T8). Aos 42 dias dez aves de cada tratamento foram abatidas para coleta do conteúdo intestinal, após a coleta foi realizado um *pool*, onde as amostras foram identificadas, congeladas e armazenadas em tubo falcon e encaminhada ao laboratório *Neoprosecta Microbiome Technologies* para a análise da microbiota. As alterações da dieta e o uso das enzimas afetaram a composição microbiana, houve maior predominância dos gêneros *Streptococcus* e *Lactobacillus* e das espécies *Lactobacillus agilis*, *Streptococcus macedonicus* e *Lactobacillus salivarius*, porém, o uso de xilanase na dieta com milho obteve predominância de *S. macedonicus* seguido de *L. agilis* e *L. salivarius*, entretanto na dieta com trigo ocorreu uma predominância das espécies *L. agilis* e *L. salivarius*, a utilização de fitase na dieta com milho apresentou maior domínio de *L. agilis*, ao substituir o milho pelo trigo o houve domínio de *S. macedonicus*, entretanto, a associação das duas enzimas proporcionou uma maior quantidade de *L. salivarius* e *L. agilis* com diferentes proporções entre as dietas a base de milho ou trigo. A utilização de farelo de trigo com o uso de fitase e xilanase modula a microbiota de codornas europeias, havendo abundância de bactérias específicas (*L. agilis*, *L. salivarius* e *S. macedonicus*) e dominância de bactérias do ácido láctico que podem ser um atributo para promoção de benefícios a saúde intestinal das aves.

Palavras-chave: enzimas exógenas; *lactobacillus*; *l. agilis*; *l.salivarius*.

ABSTRACT

The fiber present in food has an impact on the composition of the microbiota and the use of additives in the poultry diet can modulate the intestinal microbiome of the birds, however, there is still little information on how the modification of the diet and the use of enzymes influence the microbiome of broiler quails. The objective of this study was to evaluate the modulation of the duodenal microbiota of broiler quails fed with wheat-based diets associated with enzymes. 224 European quails were used, distributed in a completely randomized design with eight treatments, seven replications with four birds per experimental unit. The treatments consisted of: Diet 1 based on corn + soybean F. (T1); Diet 1+ xylanase (T2); Diet 1 + phytase (T3); Diet 1 + phytase + xylanase (T4); Diet 2 based on wheat+ soybean F. (T5); Diet 2 + xylanase (T6); Diet 2+ phytase (T7); Diet 2+ phytase+ xylanase (T8). At 42 days, ten birds from each treatment were slaughtered to collect the intestinal contents after collection, a pool was performed, where the samples were identified, frozen and stored in a falcon tube and sent to the Neoprosperta Microbiome Technologies laboratory for analysis of the microbiota. Changes in the diet and the use of enzymes affected the microbial composition, there was a greater predominance of the genera *Streptococcus* and *Lactobacillus* and the species *Lactobacillus agilis*, *Streptococcus macedonicus* and *Lactobacillus salivarius*, however, the use of xylanase in the corn diet obtained a predominance of *S. macedonicus* followed by *L. agilis* and *L. salivarius*, however in the wheat diet there was a predominance of *L. agilis* and *L. salivarius* species, the use of phytase in the corn diet showed a greater domain of *L. agilis*, when replacing corn with wheat there was dominance of *S. macedonicus*, however, the association of the two enzymes provided a greater amount of *L. salivarius* and *L. agilis* with different proportions between corn or wheat diets. The use of wheat bran with the use of phytase and xylanase modulates the European quail microbiota, with an abundance of specific bacteria (*L. agilis*, *L. salivarius* and *S. macedonicus*) and dominance of bacteria from the lactic acid that can be an attribute to promote the intestinal health benefits of birds.

Key words: exogenous enzymes; *lactobacillus*; *l. agilis*; *l. salivarius*.

1. INTRODUÇÃO

Muitas estratégias são utilizadas a fim de manter a eubiose intestinal, entre elas está a modificação da dieta com o uso de fontes de fibras, favorecendo a multiplicação de bactérias benéficas (SHANG et al., 2018). A fibra influencia a modificação da microbiota através do tempo de trânsito, pois uma digesta retida no lúmen intestinal por mais tempo oferece oportunidade para a proliferação da microbiota seletiva (JHA et al., 2019).

O uso de enzimas exógenas é realizado na nutrição animal com o intuito de reduzir os efeitos antinutricionais, porém suas ações também podem afetar a microbiota das aves, a xilanase por exemplo, degrada os arabinosilanos presentes na parede celular dos vegetais, ocorrendo a liberação dos xilo-oligosacarídeos (XOS), onde a fermentação desses mostrou um efeito positivo sobre a composição e atividade microbiana, sugerindo um efeito prebiótico (AACHARY E PRAPULLA, 2010; MORGAN et al., 2017), e servindo como moléculas sinalizadoras de grupos específicos de bactérias benéficas resultando na produção de ácidos orgânicos de cadeia curta (SAMANTA et al., 2015). Já o uso da fitase também ocasiona a modulação da microbiota intestinal de frango estando relacionado com os níveis de fósforo e cálcio na dieta (PTAK et al., 2015).

O uso da fibra e de enzimas como xilanase e fitase para frangos e perus demonstraram efeitos na modificação do ecossistema intestinal (PTAK et al., 2015; VERMEULEN et al., 2018; RIBEIRO, et al., 2018; GONZALEZ-ORTIZ, G. et al., 2020; MACHADO et al., 2020), mas comparativamente pouco se sabe sobre os efeitos da modulação da microbiota de codornas por meio da dieta.

Diante do exposto, o uso de fibra e aditivos nas dietas pode ser interessante na alteração da microbiota intestinal de codornas de corte, desse modo, objetivou-se avaliar a modulação da microbiota de codornas de corte alimentadas com dietas à base de milho, farelo de soja e farelo de trigo com a utilização ou não de xilanase e fitase.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos desta pesquisa foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Santa Cruz (CEUA/UESC), sob protocolo de número 038/18.

2.1 Aves, dietas experimentais e desenho experimental

O experimento foi conduzido no setor de pesquisa com aves, localizado na Comissão Executiva de Planejamento da Lavoura Cacaueira (CEPLAC), situada na rodovia Ilhéus-Itabuna.

Foram adquiridas 300 codornas, não sexadas, com um dia de idade da linhagem europeia (*Coturnix coturnix*), provenientes da granja Fujikura, localizada no estado de São Paulo. Essas aves foram alojadas no piso, em círculo de proteção, recebendo ração à base de milho e farelo de soja e água à vontade.

Aos sete dias de idade, com peso médio de 49.933 ± 0.641 g, 224 aves foram alojadas em gaiolas de arame galvanizado (40x30x20cm), possuindo comedouros de PVC, bebedouros automáticos e bandeja coletora de excreta. O fotoperíodo adotado foi de 24 horas luz (natural + artificial).

As codornas foram distribuídas em oito tratamentos, sete repetições de quatro aves, a dieta experimental a base de milho/farelo de soja, trigo/farelo de soja com o uso ou não de fitase e xilanase (Tabela 1), as rações foram formuladas para atender os requerimentos nutricionais para codornas europeias (SILVA et al., 2012). As enzimas foram introduzidas na formulação das dietas de forma *on top* em substituição percentual ao inerte de acordo com a recomendação do fabricante.

Os tratamentos foram distribuídos a partir de um delineamento inteiramente casualizado: Dieta 1 à base de milho + F. de soja (T1); Dieta 1+ xilanase (T2); Dieta 1 + fitase (T3); Dieta 1 + fitase + xilanase (T4); Dieta 2 à base de trigo+ F. de soja (T5); Dieta 2 + xilanase (T6); Dieta 2+ fitase (T7); Dieta 2+ fitase+ xilanase (T8). As dietas experimentais não continham nenhum coccidiostático, antibiótico ou qualquer outro promotor de crescimento.

A composição química de amostras de ração foi determinada de acordo a metodologia da Association of Official Analytical Chemist (AOAC, 1997) (Tabela 2).

Tabela 1. Composição centesimal e nutricional de dietas para codornas europeias à base de milho, farelo de soja e farelo de trigo com a utilização ou não de xilanase e fitase.

Ingredientes		Milho + Farelo de soja				Trigo + Farelo de soja			
		T1*	T2*	T3*	T4*	T5*	T6*	T7*	T8*
Milho		61,826	61,826	61,826	61,826	-	-	-	-
Farelo de soja		34,293	34,293	34,293	34,293	33,066	33,066	33,066	33,066
Farelo de Trigo		-	-	-	-	49,634	49,634	49,634	49,634
Óleo vegetal		0,738	0,738	0,738	0,738	14,570	14,570	14,570	14,570
Fosfato dicálcico		1,291	1,291	1,291	1,291	0,685	0,685	0,685	0,685
Calcário		0,867	0,867	0,867	0,867	1,129	1,129	1,129	1,129
DL-Metionina		0,309	0,309	0,309	0,309	0,308	0,308	0,308	0,308
L-Lisina		0,137	0,137	0,137	0,137	0,063	0,063	0,063	0,063
Sal		0,380	0,380	0,380	0,380	0,387	0,387	0,387	0,387
Premix vitamínico ¹		0,080	0,080	0,080	0,080	0,080	0,080	0,080	0,080
Premix mineral ²		0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Xilanase ³			0,010		0,010		0,010		0,010
Fitase ⁴				0,020	0,020			0,020	0,020
Areia lavada		0,030	0,020	0,010	-	0,030	0,020	0,010	-
Total		100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição Calculada		Milho + Farelo de soja				Trigo + Farelo de soja			
		T1*	T2*	T3*	T4*	T5*	T6*	T7*	T8*
Proteína Bruta	%	20,956	20,956	20,956	20,956	22,926	22,926	22,926	22,926
Fibra Bruta	%	2,925	2,925	2,925	2,925	6,584	6,584	6,584	6,584
Cálcio	%	0,750	0,750	0,750	0,750	0,750	0,750	0,750	0,750
Fósforo Disponível	%	0,350	0,350	0,350	0,350	0,350	0,350	0,350	0,350
E. Met. Aves	kcal/kg	2.950	2.950	2.950	2.950	2.950	2.950	2.950	2.950
Arg Dig. Aves	%	1,318	1,318	1,318	1,318	1,318	1,318	1,318	1,318
Ile Dig. Aves	%	0,820	0,820	0,820	0,820	0,820	0,820	0,820	0,820
Lys Dig. Aves	%	1,140	1,140	1,140	1,140	1,140	1,140	1,140	1,140
Met Dig. Aves	%	0,606	0,606	0,606	0,606	0,589	0,589	0,589	0,589
M+C Dig. Aves	%	0,890	0,890	0,890	0,890	0,890	0,890	0,890	0,890
Thr Dig. Aves	%	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707	0,707
Trp Dig. Aves	%	0,232	0,232	0,232	0,232	0,232	0,232	0,232	0,232
Val Dig. Aves	%	0,880	0,880	0,880	0,880	0,880	0,880	0,880	0,880
Sódio	%	0,170	0,170	0,170	0,170	0,170	0,170	0,170	0,170
Cloro	%	0,274	0,274	0,274	0,274	0,274	0,274	0,274	0,274
Potássio	%	0,801	0,801	0,801	0,801	1,116	1,116	1,116	1,116

*T1- Milho+F. de soja (dieta 1); T2- Dieta 1+ xilanase; T3- Dieta 1+fitase; T4-Dieta 1+ fitase+ xilanase; T5-F.de trigo+F. de soja (dieta 2); T6-Dieta 2+ xilanase; T7- Dieta 2+ fitase; T8- Dieta 2+ fitase+ xilanase;

¹Premix vitamínico (concentração/kg de produto): Vit. A - 15 mil UI, Vit. D3 - 1,500,000 UI. Vit. E - 15000; Vit.B1 - 2.0 g, Vit. B2- 4.0 g Vit. B6 - 3.0 g, Vit. B12 - 0015 g, ácido nicotínico - 25 g, ácido pantoténico - 10 g;

²Vit.K3 - 3.0 g, ácido fólico - 1.0 g. ³Premix Mineral (concentração/kg de produto): Mn - 60 g, Fe - 80 g, Zn - 50 g, Cu - 10 g, Co - 2 g, I - 1 g e Se - 250 mg. ⁴Econase XT® 9.600 BXU/kg de xilanase, AB Vista, Wiltshire, UK, derivada do fungo *Trichoderma reesei*; ⁴Quantum Blue, fitase de *E. coli* com contribuição da enzima de 500 FT, AB Vista.

Tabela 2. Composição química analisada dietas para codornas europeias à base de milho, farelo de soja e farelo de trigo com a utilização ou não de xilanase e fitase.

Composição química	T1*	T2*	T3*	T4*	T5*	T6*	T7*	T8*
Proteína Bruta	19,25	20,11	19,45	19,65	20,78	20,01	21,43	20,59
Fibra Bruta	3,02	2,98	3,34	3,07	7,03	7,39	7,12	7,05
Cálcio	0,73	0,75	0,76	0,77	0,76	0,75	0,76	0,73
Fósforo total	0,37	0,36	0,36	0,37	0,37	0,38	0,37	0,38
Energia bruta	2986,2	2897,4	2964,3	2970,4	2984,2	2895,7	2954,8	2949,5
Lisina	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
Metionina	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Treonina	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
Triptofano	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Valina	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9
Arginina	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
PNA's	967,8	964,9	970,3	962,1	1032,3	1048,5	1028,4	1042,9
Fitase, FTU/Kg	<50	<50	2481	2390	<50	<50	2417	2498
Xilanase, BXU/Kg	<50	16250	<50	16149	<50	16054	<50	16200

* T1- Milho+F. de soja (dieta 1); T2- Dieta 1+ xilanase; T3- Dieta 1+fitase; T4-Dieta 1+ fitase+ xilanase; T5-F.de trigo+F. de soja (dieta 2); T6-Dieta 2+ xilanase; T7- Dieta 2+ fitase; T8- Dieta 2+ fitase+ xilanase.

2.2 Coleta de amostra e análise da microbiota do intestino delgado

Foram selecionadas dez aves de cada tratamento, sacrificadas por deslocamento cervical para a coleta do conteúdo duodenal. Após a coleta da amostra foi realizado um *pool*, congelados e armazenado em tubo falcon. Os mesmos foram identificados conforme cada tratamento, armazenados sob refrigeração e enviados ao laboratório *Neopropecta Microbiome Technologies* (Florianópolis, Brasil).

As bactérias foram identificadas por meio de sequenciamento de alto rendimento da região 16S rRNA V3-V4 com um protocolo próprio (*Neopropecta Microbiome Technologies*, Brasil). A amplificação da região 16S rRNA V3-V4 foi realizada utilizando os primers 341F (CCTACGGGRSGCAGCAG) e 806R (GGACTACHVGGGTWTCTAAT). As bibliotecas de rRNA 16S foram sequenciadas usando o *MiSeq Sequencing System* (Illumina Inc., EUA) com o kit V2, 300 Cycles, sequenciamento de extremidade única. As sequências foram analisadas usando um *pipeline* próprio (*Neopropecta Microbiome Technologies*, Brasil).

Resumidamente, todas as leituras foram submetidas individualmente a um filtro de qualidade, baseado na soma dos erros de probabilidades das bases do DNA, permitindo no máximo 1% de erros acumulados. Posteriormente, as sequências de DNA correspondentes aos adaptadores Illumina foram removidas. As sequências resultantes que apresentaram 100% de identidade foram agrupadas e utilizadas para identificação taxonômica, usando um banco de dados de sequências de rRNA 16S da empresa (NeoRef, *Neopropecta Microbiome Technologies*, Brasil).

2.3 Isômeros de fitato e pH

Para determinação do pH da digesta presente no intestino delgado foi utilizado um pHmetro digital microprocessado Gehaka modelo PG 1800 (Brasil). Ligas foram colocadas nas extremidades do duodeno para que não houvesse a mistura do conteúdo com outras partes, o conteúdo da digesta foi homogeneizado para a mensuração do pH.

Para determinação do fosfato de inositol, as alíquotas de dois mililitros dos sobrenadantes foram diluídas com água para dar um volume final de 60 mL. Toda a solução foi aplicada a uma coluna ($0,7 \times 15$ cm) contendo 0,5 g de resina AG 1-X4 200-400 mesh. A coluna foi lavada com 25 mL de água e 25 mL de HCl 25 mM. Em seguida, os fosfatos de mio-inositol foram diluídos com 25 mL de HCl 2 M. Os exudatos obtidos foram concentrados em evaporador a vácuo e dissolvidos em 1 mL de água. Em seguida, 20 μ L das amostras foram cromatografadas em Ultrasep ES 100 RP18 (2×250 mm). A coluna foi executada a 45°C e 0,2 mL min⁻¹ de um eluente consistindo em ácido fórmico / metanol / água / hidróxido de tetrabutilamônio (44: 56: 5: 1,5 v / v), pH 4,25, conforme descrito por Sandberg e Ahderinne (1986).

2.4 Desempenho e rendimento de carcaça

O consumo de ração foi obtido pela diferença entre a ração fornecida de cada semana e as sobras das rações. Para determinação do ganho de peso, as aves foram pesadas semanalmente. A conversão alimentar foi obtida através da relação entre o consumo de ração e o ganho de peso das aves a cada semana.

Aos 42 dias de idade as aves foram pesadas e submetidas a um período de jejum de 8 horas, com exceção das aves que foram destinadas a coleta de conteúdo intestinal para análise de microbiota. Após o período de jejum, dez aves de cada tratamento foram selecionadas aleatoriamente, pesadas e abatidas. O rendimento de carcaça foi calculado em relação ao peso vivo das codornas e os rendimentos das vísceras comestíveis (coração, fígado e moela) em relação ao peso da carcaça.

2.5 Análise estatística

A análise estatística da microbiota foi realizada através da análise de permanova baseada no índice de similaridade de Bray-Curtis foi usada para comparar a composição de espécies entre os tratamentos. Para avaliar a similaridade entre os recifes e as subzonas intertidais, uma análise de agrupamento foi realizada usando o método de grupo de pares não ponderados com média aritmética (UPGMA), que é baseado no índice de dissimilaridade de Bray-Curtis (Bray e Curtis, 1957; Oksanen et al., 2016; Valentin, 1995). O ajuste entre a matriz de dissimilaridade

e o dendrograma foi avaliado por meio do coeficiente de correlação cofenética (r) (Sokal e Rohlf, 1962).

Todos os dados foram analisados usando a análise de variância (ANOVA) através do procedimento do modelo linear geral do software SAS 8 (SAS, 1999). As diferenças entre as médias foram determinadas pelo teste de SNK e foram consideradas estatisticamente significativas quando $P < 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1 Microbiota intestinal

A diversidade de filo, classe, ordem e família da microbiota duodenal de codornas de corte aos 42 dias de idade são apresentados, respectivamente, nas tabelas 3 e 4. Os filos que compuseram a comunidade microbiana duodenal foram: *Firmicutes*, *Proteobacteria* e *Actinobacteria*, sendo o filo *Firmicutes* o mais abundante compondo 99% dos filos, cujas classes que o constituiu foram *Bacilli* (99%) e *Clostridia*. *Proteobacteria* foi o segundo maior filo, representado pelas classes *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria* e *Gammaproteobacteria*,

Tabela 3. Diversidade de filo e classe presente na microbiota duodenal de codornas europeias aos 42 dias idade alimentadas com dietas à base de milho, farelo de soja e farelo de trigo com a utilização ou não de xilanase e fitase.

Identificação	Diversidade (%) ¹							
	T1*	T2*	T3*	T4*	T5*	T6*	T7*	T8*
Filo								
<i>Firmicutes</i>	99,88	99,96	99,96	99,98	99,73	99,64	93,40	99,68
<i>Proteobacteria</i>	0,08	0,03	0,01	0,012	0,24	0,29	6,29	0,24
<i>Actinobacteria</i>	0,04	0,02	0,03	0,005	0,03	0,07	0,19	0,07
Classe								
<i>Actinobacteria</i>	0,04	0,02	0,03	0,00	0,03	0,07	0,19	0,07
<i>Alphaproteobacteria</i>	0,04	0,01	0,01	0,01	0,07	0,10	0,06	0,13
<i>Bacilli</i>	99,88	99,95	99,95	99,98	99,57	99,60	93,14	99,68
<i>Betaproteobacteria</i>	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,02	0,19	0,00
<i>Clostridia</i>	0,00	0,01	0,02	0,0	0,15	0,04	0,25	0,00
<i>Gammaproteobacteria</i>	0,04	0,01	0,00	0,00	0,15	0,18	6,04	0,12

¹Valores 0,00 correspondem à valores inferiores a 0,01; * T1- Milho+F. de soja (dieta 1); T2- Dieta 1+ xilanase; T3- Dieta 1+fitase; T4-Dieta 1+ fitase+ xilanase; T5-F.de trigo+ F. de soja (dieta 2); T6-Dieta 2+ xilanase; T7- Dieta 2+ fitase; T8- Dieta 2+ fitase+ xilanase.

Em relação a diversidade de ordem e família houve uma predominância da ordem dos *Lactobacillales*, dominante em todos os tratamentos. As famílias mais abundantes encontradas foram: *Lactobacillaceae* (54,2%), *Streptococcaceae* (43,9%) e *Enterococcaceae* (0,86%).

Tabela 4. Diversidade de ordem e família presentes na microbiota duodenal de codornas europeias aos 42 dias idade alimentadas com dietas à base de milho, farelo de soja e farelo de trigo com a utilização ou não de xilanase e fitase.

Identificação		Diversidade (%) ¹						
Ordem	T1*	T2*	T3*	T4*	T5*	T6*	T7*	T8*
<i>Actinomycetales</i>	0,04	0,02	0,03	0,00	0,03	0,03	0,19	0,07
<i>Burkholderiales</i>	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,02	0,19	0,00
<i>Clostridiales</i>	0,00	0,01	0,02	0,00	0,15	0,04	0,25	0,00
<i>Enterobacteriales</i>	0,02	0,01	0,00	0,00	0,15	0,17	5,91	0,09
<i>Lactobacillales</i>	99,86	99,94	99,94	99,97	99,57	99,58	92,89	99,67
<i>Rhodobacterales</i>	0,00	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,06	0,04
<i>Rhodospirillales</i>	0,00	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,06	0,04
<i>Xanthomonadales</i>	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,02
Família								
<i>Acetobacteraceae</i>	0,00	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,06	0,04
<i>Burkholderiaceae</i>	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,02	0,19	0,00
<i>Corynebacteriaceae</i>	0,02	0,00	0,01	0,00	0,02	0,00	0,13	0,01
<i>Enterobacteriaceae</i>	0,02	0,01	0,00	0,00	0,15	0,17	5,91	0,09
<i>Enterococcaceae</i>	0,36	1,06	0,04	0,01	0,59	0,40	0,57	3,87
<i>Lactobacillaceae</i>	35,57	20,50	68,07	99,33	8,25	98,96	19,43	83,48
<i>Rhodobacteraceae</i>	0,03	0,00	0,01	0,00	0,02	0,00	0,00	0,02
<i>Ruminococcaceae</i>	0,00	0,01	0,02	0,00	0,01	0,04	0,25	0,00
<i>Streptococcaceae</i>	63,93	78,38	31,82	0,62	90,73	0,22	72,89	12,33
<i>Xanthomonadaceae</i>	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,02

¹Valores 0,00 corresponde a valores inferiores a 0,01; * T1- Milho+F. de soja (dieta 1); T2- Dieta 1+ xilanase; T3- Dieta 1+fitase; T4-Dieta 1+ fitase+ xilanase; T5-F.de trigo+ F. de soja (dieta 2); T6-Dieta 2+ xilanase; T7- Dieta 2+ fitase; T8- Dieta 2+ fitase+ xilanase.

Ao nível de gênero têm-se a presença de diversos gêneros de bactérias, com destaque para dois gêneros presentes, *Lactobacillus* e *Streptococcus*, conforme Figura 1. As enzimas xilanase e fitase, isoladas ou associadas, mostram influência importante na microbiota intestinal dessas aves.

A dieta de milho com xilanase (dieta 1 mostrou cerca de 80% de bactérias do gênero *Streptococcus* e em torno de 20% do gênero *Lactobacillus*. Ao substituir totalmente o milho por trigo na dieta, a xilanase promoveu uma redução acentuada de bactérias do gênero *Streptococcus*, permanecendo os *Lactobacillus* quase na sua totalidade da microbiota.

A fitase na dieta com milho apresentou uma proporção de 30% de *Streptococcus* e 70% de *Lactobacillus*. Em contrapartida, na dieta com trigo, a proporção mudou, com cerca de 70% de *Streptococcus* e 20% de *Lactobacillus*, com presença de outros gêneros de bactérias.

O uso associado de xilanase e fitase promoveu maior proporção de *Lactobacillus* nas dietas à base de trigo e especialmente na dieta de milho, sendo essa última com maior número de sequências observadas em relação a outra dieta. Na dieta à base de trigo o gênero *Enterococcus* teve quase 5% no perfil.

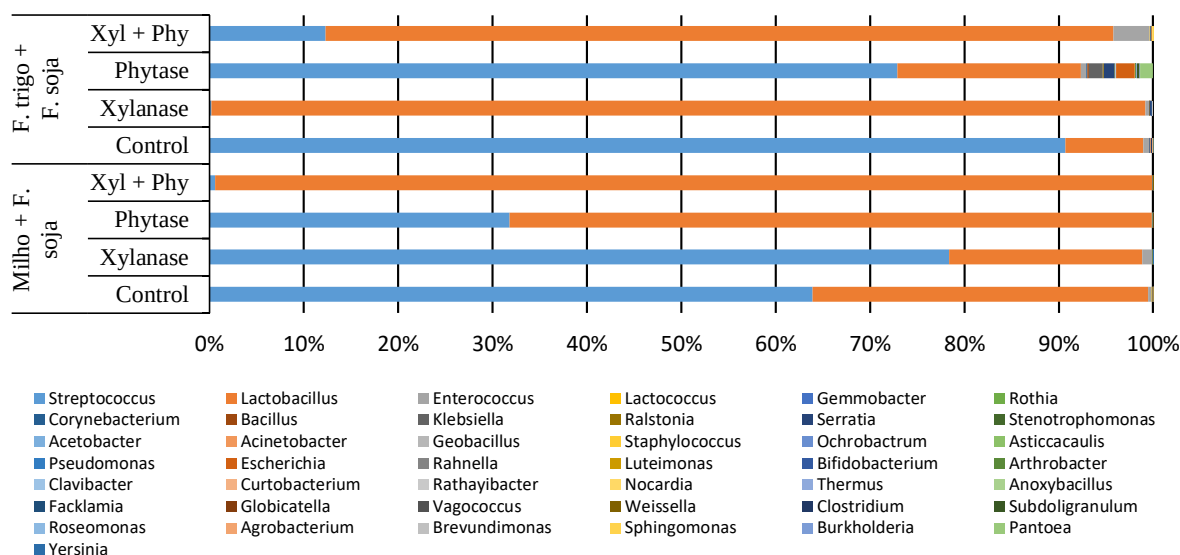


Figura 1. Gêneros de bactérias presentes na microbiota duodenal de codornas europeias aos 42 dias idade alimentadas com dietas à base de milho, farelo de soja e farelo de trigo com a utilização ou não de xilanase e fitase.

Embora tenha sido verificado a presença de diversas espécies de bactérias, três espécies se destacaram, *Lactobacillus agilis*, *Streptococcus macedonicus*, *Lactobacillus salivarius* (Figura 2). As modificações na dieta e a associação ou não das enzimas mostraram grande influência na proporção das espécies.

A associação das duas enzimas proporcionou uma maior quantidade de *Lactobacillus salivarius* e *Lactobacillus agilis* nas dietas à base de trigo (68% e 14%) e principalmente na dieta com milho (65% e 33%).

3.2 Análise de Similaridade

Na análise dos dados pela similaridade entre os tratamentos, observa-se diferenças entre os tratamentos ($p=0,026$). Conforme o dendograma apresentado (Figura 4), quando se compara dietas à base de milho e farelo de soja (tratamentos 1, 2, 3 e 4), dois clusters são formados, o primeiro com os tratamentos 1 e 2, e o outro com os tratamentos 3 e 4, diferindo entre si. A xilanase não alterou a microbiota quando em uso isolado (T2 vs T1), tampouco quando em uso associado com a fitase (T3 vs T4).

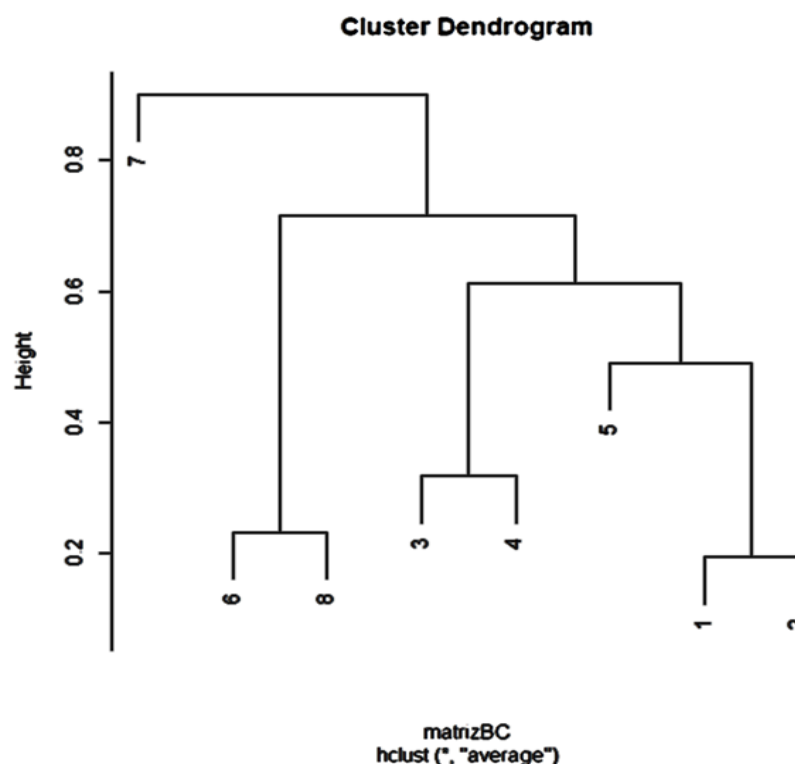


Figura 3. Análise de similaridade entre a microbiota duodenal de codornas europeias aos 42 dias idade alimentadas com dietas à base de milho, farelo de soja e farelo de trigo com a utilização ou não de xilanase e fitase. Coeficiente de correlação= 0.86.

Analisando as dietas com farelo de trigo e farelo de soja (tratamentos 5, 6, 7 e 8), percebe-se uma similaridade entre os tratamentos 6 e 8, ou seja, com uso isolado de xilanase e associado com fitase, o que mostra ausência de impacto da associação da fitase nessa base de

dieta em diferenciar a microbiota. Ao mesmo tempo, a dieta com uso isolado de fitase (T7) diferiu de todas as demais dietas avaliadas, e o com uso associado com xilanase teve similaridade próxima às dietas com milho e farelo de soja sem e com xilanase em uso isolado.

3.3 Isômeros de fitato e pH

A tabela 5 apresenta os dados de pH e concentração de isômeros de fitato na digesta de codornas europeias. Houve diferença ($P<0,05$) no pH duodenal. Aves que foram alimentadas com dieta 1 com suplementação de xilanase apresentaram maior pH, semelhante as demais dietas, diferindo somente da dieta 2+ fitase e dieta 2 + fitase +xilanase.

A concentração de IP6 foi maior na dieta com farelo de trigo + farelo de soja, não diferindo das dietas a base de milho + farelo de soja e milho + farelo de soja + xilanase, a utilização de farelo de trigo com utilização de xilanase e fitase apresentou a menor concentração. Houve efeito significativo ($P<0,05$) para IP5 onde as dietas a base de milho + farelo de soja apresentou a maior concentração não diferindo das com milho utilizando fitase, xilanase e dieta com farelo de trigo + farelo de soja, entretando a dieta com farelo de trigo com associação das enzimas apresentou a menor concentração não diferindo das que foram utilizada farelo de trigo utilizando fitase, xilanase e milho com associação das enzimas.

Tabela 5. pH e concentração de isômeros de fitato na digesta de codornas europeias aos 42 dias idade alimentadas com dietas à base de milho, farelo de soja e farelo de trigo com a utilização ou não de xilanase e fitase.

Tratamentos	pH	IP6	IP5	IP4	IP3
Dieta 1 (Milho + F. soja)	6,3 ^{ab}	7,0 ^{ab}	1,7 ^a	1,0 ^a	0,486 ^{bc}
Dieta 1+ Xilanase	6,4 ^a	6,9 ^{ab}	1,5 ^a	0,9 ^{ab}	0,414 ^c
Dieta 1+ Fitase	6,2 ^{ab}	6,5 ^{bc}	1,5 ^a	0,8 ^{abc}	0,386 ^{cd}
Dieta 1+ Xil.+Fit.	6,2 ^{abc}	5,9 ^{cd}	1,0 ^b	0,5 ^{cd}	0,186 ^d
Dieta 2 (F. trigo + F. soja)	6,3 ^{ab}	7,4 ^a	1,5 ^a	0,8 ^{abc}	0,757 ^a
Dieta 2+ Xilanase	6,2 ^{abc}	6,5 ^b	0,9 ^b	0,6 ^{bcd}	0,671 ^{ab}
Dieta 2+ Fitase	6,0 ^{bc}	5,4 ^{de}	1,0 ^b	0,3 ^d	0,471 ^{bc}
Dieta 2+ Xil.+Fit.	5,9 ^c	4,8 ^e	0,7 ^b	0,5 ^{cd}	0,300 ^{cd}
Valor de P	0,0004	<0,001	<0,001	0,0010	<0,001
EPM	0,06	0,13	0,09	0,08	0,04
C.V.(%)	2,91	5,81	19,58	32,33	28,48

As concentrações de IP4 foram menores nas dietas a base de milho + farelo de soja, milho utilizando xilanase, fitase e farelo de trigo + farelo de soja, a menor concentração foi na dieta a base de farelo de trigo+ farelo de soja com fitase, porém não diferiu das dietas a base de

trigo com associação das enzimas, com o uso de xilanase e da dieta com milho associada as enzimas. Houve efeito significativa para IP3 onde as maiores concentrações foram com o uso de farelo de trigo+ farelo de soja e farelo de trigo com o uso de xilanase, entretanto as menores concentrações foi na dieta com o uso de milho + farelo de soja com associação das enzimas, não diferindo de milho+ farelo de soja + fitase e farelo de trigo com associação das enzimas.

3.4 Desempenho e características de carcaça

O efeito dos tratamentos sobre o desempenho de codornas europeias na fase de 7 a 42 dias são apresentados na tabela 6. Houve efeito ($P<0,05$) para ganho de peso, onde as aves que receberam dieta com farelo de trigo com o uso associado de fitase e xilanase apresentaram um maior ganho de peso, mas não diferiu das aves que receberam farelo de trigo com o uso de fitase.

As aves que receberam ração à base de farelo de trigo com associação das enzimas apresentaram um maior consumo de ração quando comparada com os demais tratamentos. Houve efeito ($P<0,05$) para conversão alimentar, as aves que apresentaram uma melhor conversão alimentar foram as que receberam dieta a base de farelo de trigo.

O maior peso vivo final foram das aves que receberam a dieta a base de farelo de trigo + farelo de soja e farelo de trigo com associação de fitase e xilanase, porém não houve diferença das aves que receberam farelo de trigo e fitase.

Tabela 6. Desempenho de codornas europeias dos 7 aos 42 dias de idade alimentadas com dietas à base de milho, farelo de soja e farelo de trigo com a utilização ou não de xilanase e fitase.

Tratamentos	Peso vivo final (g/ave)	Ganho de peso (g/ave)	Consumo de ração (g/ave)	Conversão alimentar (kg/kg)
Dieta 1 (Milho+ F. soja)	277,5 ^b	228,1 ^b	779,4 ^a	3,41 ^b
Dieta 1+ Xilanase	282,3 ^b	233,0 ^b	811,7 ^a	3,48 ^b
Dieta 1+ Fitase	287,5 ^b	236,8 ^b	812,3 ^a	3,43 ^b
Dieta 1+ Xil.+Fit.	284,3 ^b	233,4 ^b	816,8 ^a	3,49 ^b
Dieta 2 (F. trigo+ F. soja)	311,8 ^a	262,4 ^a	813,5 ^a	3,11 ^a
Dieta 2+ Xilanase	274,7 ^a	224,8 ^a	764,9 ^a	3,42 ^b
Dieta 2+ Fitase	292,2 ^{ab}	242,6 ^{ab}	817,6 ^a	3,38 ^b
Dieta 2+ Xil. + Fit.	313,8 ^a	263,3 ^a	878,7 ^b	3,34 ^b
P	0,0002	0,0003	0,0001	0,0125
EPM	6,59	6,64	12,62	0,07
C.V(%)	6,01	7,30	4,12	5,49

Os resultados referentes ao rendimento de carcaça e vísceras comestíveis (coração, fígado e moela) relativo a carcaça de codornas de corte aos 42 dias são apresentados na tabela 7. Houve

efeito para o peso de carcaça onde as aves que foram alimentadas com farelo de trigo com o uso das enzimas apresentou um maior peso de carcaça, não diferindo dos demais tratamentos, mas as aves que receberam farelo de trigo com xilanase apresentaram um menor peso de carcaça.

Tabela 7. Rendimento de carcaça e pesos das vísceras comestíveis (coração, fígado e moela) relativos a carcaça de codornas europeias aos 42 dias de idade alimentadas com dietas à base de milho, farelo de soja e farelo de trigo com a utilização ou não de xilanase e fitase.

Tratamentos	Peso de carcaça (g/ave)	Rendimento de carcaça (%)	Rendimento de coração (%)	Rendimento de fígado (%)	Rendimento de moela (%)
Dieta 1 (Milho+ F. de soja)	193,2 ^{ab}	71,1 ^a	1,7	5,2	3,2 ^b
Dieta 1+ Xilanase	194,6 ^{ab}	71,1 ^a	1,9	4,7	3,0 ^b
Dieta 1+ Fitase	191,3 ^{ab}	73,1 ^a	1,9	4,4	2,9 ^b
Dieta 1+ Xil.+Fit.	193,5 ^{ab}	72,1 ^a	1,9	4,7	3,1 ^b
Dieta 2 (F. trigo+ F. de soja)	202,8 ^{ab}	67,1 ^b	1,8	4,6	3,5 ^{ab}
Dieta 2+ Xilanase	183,4 ^b	71,4 ^a	1,9	4,1	3,5 ^{ab}
Dieta 2+ Fitase	192,7 ^{ab}	71,2 ^a	2,4	4,6	4,1 ^a
Dieta 2+ Xil. + Fit.	216,7 ^a	70,6 ^a	1,8	4,1	3,4 ^b
P	0,0524	0,0055	0,0810	0,1793	0,0002
EPM	6,78	0,98	0,13	0,29	0,18
C.V(%)	10,94	4,38	22,27	19,98	17,22

O menor rendimento de carcaça foi das aves que receberam a dieta a base de farelo de trigo e farelo de soja. Não houve diferença significativa para o rendimento de coração e fígado, mas o rendimento de moela onde as aves que apresentaram um maior rendimento de moela foram as aves que receberam a dieta a base de farelo de trigo e fitase.

4. DISCUSSÃO

No presente estudo, as modificações das bases nutricionais e a utilização das enzimas alteraram o perfil microbiano presente no duodeno das aves, mostrando dominância principalmente do filo *Firmicutes*, da classe *Bacilli* ordem *Lactobacillales*, família *Lactobacillaceae* e *Streptococcaceae*, dos gêneros *Lactobacillus* e *Streptococcus* e espécie *Streptococcus macedonicus*, *Lactobacillus agilis* e *Lactobacillus salivarius*.

Bactérias do filo *Firmicutes* são envolvidas na decomposição de polissacarídeos indigestíveis pelo sistema enzimático do hospedeiro, como o amido e a celulose, estudos mostram que o filo *Firmicutes* tem uma capacidade de coletar energia advinda da dieta (JUMPERTZ et al., 2011; ALLEN & STANTON 2014). Yoeman et al. (2012) relatam que as famílias bacterianas predominantes foram *Lactobacillus spp.*, constituindo mais de 90% das bactérias presentes no duodeno e jejuno de frangos.

As *Proteobacteria* foram o grupo de menor constituinte dentro dos filos encontrados da comunidade microbiana duodenal, este grupo inclui muitas bactérias patogênicas, como *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Vibrio cholerae*, *Helicobacter*, etc., indicando que um aumento de *Proteobacteria* pode ser um sinal de doenças no hospedeiro (SHIN, et al., 2015), portanto, uma menor abundância desse filo pode indicar que as codornas tiveram um desenvolvimento saudável.

Houve um domínio de bactérias do ácido láctico que são comumente consideradas seguras para os animais e possuem uma ação probiótica no trato gastrointestinal (GIRAFFA, 2014). A presença de *Lactobacillus* influenciam no aumento da produção de mucina através da síntese de glicosidades, glicosulfatases e proteases específicas, uma boa estrutura em sua produção melhora a barreira intestinal, visto que microrganismos patogênicos são impedidos devido a densa camada de mucosa (FORDER et al., 2007; CHEN et al., 2013).

Os *Streptococcus* mostram ter atividade na degradação dos polissacarídeos não amiláceos presente nos grãos servindo como fonte energética para as aves (LI et al., 2019; FERNANDES et al., 2020).

A composição bacteriana presente no duodeno das codornas que receberam ração à base de milho e farelo de soja (64% de *Streptococcus* e 36% de *Lactobacillus*) diferiram das que receberam trigo e farelo de soja (90% *Streptococcus* e 8% *Lactobacillus*), isso pode ter relação com o tempo de trânsito, pois ele é um provável fator que modifique a composição microbiana, visto que a fibra aumenta a viscosidade da digesta e o tempo de trânsito, um maior tempo da digesta retida oferece uma oportunidade para multiplicação da microbiota seletiva, os carboidratos complexos e os polissacarídeos indigestíveis fornecem substrato fermentativo

para a microbiota, impactando na sua composição e diversidade, as comunidades microbianas degradam e fermentam os carboidratos a ácidos orgânicos de cadeia curta (JHA et al., 2019).

Wilkinson et al. (2016), avaliando a composição da microbiota de codornas japonesas, observou que a microbiota duodenal dessas aves possui uma abundância da família *Ruminococcaceae*, porém, algumas aves tiveram domínio da espécie *Lactobacillus*. Em frangos de corte, Lu et al. (2003), avaliando a comunidade bacteriana ileal encontraram como gêneros principais os *Lactobacillus* (70%) seguido por *Clostridiaceae* (11%), *Streptococcus* (6,5%) e *Enterococcus* (6,5%). Kumar et al. (2018) também encontraram o gênero predominante *Lactobacillus* em frangos de corte.

Embora se perceba similaridade no perfil microbiano intestinal entre as aves citadas anteriormente, os resultados desse estudo mostram que isso pode mudar em virtude da base da dieta e do uso de enzimas. Nas aves que receberam dietas à base de trigo e farelo de soja, apenas com fitase, o gênero dominante foi o *Streptococcus* (73%), mas ao usar apenas a xilanase, o gênero dominante foi o *Lactobacillus* (99%). Interessante salientar que o inverso ocorreu nas dietas à base de milho e farelo de soja, ou seja, quando se usou fitase, a predominância foi do gênero *Lactobacillus* (68%), e quando usou xilanase, o gênero dominante foi *Streptococcus* (78%). Ao associar as enzimas em ambas as dietas houve maior presença de *Lactobacillus*.

As alterações nas bases nutricionais (milho/soja e trigo/soja) e a associação de enzimas afetam as espécies bacterianas presentes no intestino das aves. A fibra dietética tem a capacidade de modificar a população microbiana no intestino, com isso, algumas fontes de fibras podem ser uma opção, como farelo de trigo (MAHMOOD e GU, 2020). O farelo de trigo é um subproduto composto por uma porção insolúvel e uma solúvel, onde as bactérias se ligam na porção insolúvel formando assim uma colônia em torno da fibra (MAES e DELCOUR, 2001; MAES E DELCOUR, 2002; VERMEULEN et al., 2018).

Fernandes et al. (2020) relatam que o intestino delgado contém uma maior predominância de *Lactobacillus spp*, *Clostridiaceae* e *Enterococcus*, os *Lactobacillus spp.*, entretanto, a microbiota do duodeno apresenta uma menor diversidade de microrganismos, devido a rápida passagem do bolo alimentar pelo órgão, além disso, a diluição da digesta pela bile ocasiona uma menor atuação das bactérias, com isso apresenta sua composição de bactérias do tipo: *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Clostridios* e *Enterobactérias* (SHANG et al., 2018).

Segundo Kogut (2019), a utilização de enzimas exógenas degradantes de polissacarídeos não amiláceos (NSPases), como β - glucanase, xilanase, fitase, protease, etc., é

realizada em dietas avícolas a fim de melhorar a digestibilidade dos componentes da dieta e modular a microbiota das aves.

González-Ortiz et al. (2019) relatam que a suplementação com xilanase na dieta das aves é comumente utilizada para otimizar a absorção de nutrientes, dentre os mecanismos sugeridos como efeito da xilanase estão: 1. Redução a viscosidade da digesta (CHOCT et al., 2004); 2. Redução do tempo de ação para fixação microbiana e consequentemente acelerando a fermentação (BEDFORD, 2018); 3. Liberação de nutrientes aderidos a parede celular (BEDFORD, 2002); 4. Liberação de xilo-oligossacarídeos (XOS) que atuam como uma molécula sinalizadora para grupos específicos de bactérias benéficas, sugerindo um efeito prebiótico (AACHARY E PRAPULLA, 2010; BEDFORD, 2018).

Segundo Ptcak et al. (2015), a fitase possui um papel na modulação da microbiota intestinal de frangos, porém isso está relacionado com os níveis de fósforo e cálcio nas dietas, esses autores observaram que a adição de fitase aumenta o número de *Lactobacillus sp* e *Enterococcus sp*.

Dentre as espécies encontradas no presente estudo três tiveram uma maior colonização independente dos tratamentos, a *L. salivarius* é uma bactéria promissora com potenciais de aplicações probióticas, identificada principalmente no trato gastrointestinal das aves, a maioria são bacteriocinogênicas, tendo um potencial como substituto de antibióticos (MESSAOUDI et al., 2013; SHOKRYAZDAN et al., 2017; WAYAH E PHILIP, 2018; WANG et al., 2020). A maioria das bactérias lácticas não possuem motilidade, porém alguns membros possuem flagelos e consequentemente exibem motilidade como o caso do *L. agilis* encontrado em nosso estudo, sugerindo que essa bactéria poderia utilizar sua motilidade como vantagem para estabelecer um nicho distinto de outras bactérias lácticas não móveis (KAJIKAWA et al., 2018).

Wang et al. (2021), utilizando *L. salivarius* em frangos de corte relatam uma melhora nas lesões pulmonares causadas por infecção de *Mycoplasma gallisepticum* e uma melhora na defesa contra *Escherichia coli* devido a melhora na composição da microbiota aumento do filo Firmicutes e diminuição de Proteobacterias e estimulação do sistema imunológico

S. macedonicus possuem algumas propriedades interessantes como atividade proteolítica, produção de bacteriocinas e exopolissacarídeos, e tolerância a estresse, essas características tornam uma espécie promissora para seu uso como probiótico (KHALDI et al., 2019; TARRAH et al., 2020).

A suplementação com as enzimas (fitase e xilanase) reduziu o pH duodenal, esse efeito é atribuído a abundância de bactérias do ácido láctico, o aumento dessas bactérias aliado a redução de pH é um dos fatores associados a exclusão de patógenos (MACHADO et al., 2020).

As menores concentrações dos isômeros de fitato foram nas dietas a base de trigo com associação das enzimas, isso pode ser devido ao fato de que a xilanase hidrolisa os arabinoxilanos, principais componentes da parede celular da aleurona do trigo, e como a maior parte do fitato reside nessa parte, a xilanase acaba por proporcionar maior acessibilidade da fitase para atuação na degradação do fitato (ZELLER et al., 2015).

Segundo Künzel et al. (2021) alguns microrganismos presentes no TGI são capazes de fornecer fitase endógena, como as espécies *L. salivarius*, *L. plantarum* e *L. pentosus*, que são capazes de produzir enzimas com atividade semelhante a fitase. Borda-Molina et al. (2016) identificaram um gênero de *Clostridium* associado a produção de uma fitase cisteína, podendo esses serem fatores que aliado com a atividade da fitase complemente a degradação do fitato pela fitase (PALACIOS et al., 2018).

5. CONCLUSÃO

A utilização de farelo de trigo com o uso de fitase e xilanase modula a microbiota de codornas europeias, promovendo abundância de bactérias específicas (*L. agilis*, *L. salivarius* e *S. macedonicus*) e dominância de bactérias do ácido láctico podem ser um atributo para promoção de benefícios a saúde intestinal das aves.

REFERÊNCIAS

- AKINYEMI, F. T. et al. Dynamic distribution of gut microbiota during embryonic development in chicken. **Poultry science**, v. 99, n. 10, p. 5079-5090, 2020.
- ALLEN, HEATHER K.; STANTON, THAD B. Altered egos: antibiotic effects on food animal microbiomes. **Annual review of microbiology**, v. 68, p. 297-315, 2014.
- ALSHAMY, Z. et al. Comparison of the gastrointestinal tract of a dual-purpose to a broiler chicken line: A qualitative and quantitative macroscopic and microscopic study. **PloS one**, v. 13, n. 10, p. e0204921, 2018.
- APAJALAHTI, J. et al. Microbes of the chicken gastrointestinal tract. In: PERRY, G. C **Avian gut function in health and disease**, v. 28, p. 124-137, 2006.
- BEDFORD, M. R. The evolution and application of enzymes in the animal feed industry: the role of data interpretation. **British poultry science**, v. 59, n. 5, p. 486-493, 2018.
- BEDFORD, M. R.; COWIESON, A. J. Exogenous enzymes and their effects on intestinal microbiology. **Animal Feed Science and Technology**, v. 173, n. 1-2, p. 76-85, 2012.
- BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. (Ed.). **Enzymes in farm animal nutrition**. CABI, 2010.
- BEDFORD, MRs et al. The role of carbohydrases in feedstuff digestion. In: MCNAB, J. M.; BOORMAN, K. N. **Poultry Feedstuffs: Supply, Composition and Nutritive Value**, p. 319-336, 2002.
- BERGOGNE-BÉREZIN. Bacteria: Acinetobacter. IN: **Encyclopedia of food safety. Academic**. MOTARJEMI, Y.; MOY, G.; TODD, E. (Ed.). Academic Press, p.337-341, 2013.
- BIAN, X. et al. Effect of Lactobacillus strains on intestinal microflora and mucosa immunity in Escherichia coli O157: H7-induced diarrhea in mice. **Current microbiology**, v. 73, n. 1, p. 65-70, 2016.
- BORDA-MOLINA, D. et al. Insights into broilers' gut microbiota fed with phosphorus, calcium, and phytase supplemented diets. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 2033, 2016.
- BRISBIN, J. T.; PARVIZI, P.; SHARIF, S. Differential cytokine expression in T-cell subsets of chicken caecal tonsils co-cultured with three species of Lactobacillus. **Beneficial microbes**, v. 3, n. 3, p. 205-210, 2012.
- CHEN, H., et al. Dietary fibre affects intestinal mucosal barrier function and regulates intestinal bacteria in weaning piglets. **British Journal of Nutrition**, v. 110, n. 10, p. 1837-1848, 2013.
- CHOCT, M. et al. A comparison of three xylanases on the nutritive value of two wheats for broiler chickens. **British Journal of Nutrition**, v. 92, n. 1, p. 53-61, 2004.
- DE MAESSCHALCK, C.; EECKHAUT, V.; MAERTENS, L., et al. The effects of xylo-oligosaccharides on performance and microbiota in broiler chickens. **Applied and environmental microbiology**, 2015.

DE OLIVEIRA FEITOSA, T. J. et al. Microbiota intestinal das aves de produção: revisão bibliográfica. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 5, p. e42952779-e42952779, 2020.

DHARNE, M. S. et al. Isolation of urease-positive *Ochrobactrum intermedium* in the stomach of a non-ulcer dyspeptic patient from north India. **Journal of Microbiology, Immunology, and Infection**, v. 41, n. 2, p. 183-186, 2008.

DIRKSEN, P. et al. The native microbiome of the nematode *Caenorhabditis elegans*: gateway to a new host-microbiome model. **BMC biology**, v. 14, n. 1, p. 1-16, 2016.

DYGICO, L. K. et al. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* as a natural anti-listerial agent in the mushroom industry. **Food microbiology**, v. 82, p. 30-35, 2019.

FORDER, R. E. A. et al. Bacterial modulation of small intestinal goblet cells and mucin composition during early posthatch development of poultry. **Poultry Science**, v. 86, n. 11, p. 2396-2403, 2007.

GIBSON, Glenn R. Dietary modulation of the human gut microflora using prebiotics. **British Journal of Nutrition**, v. 80, n. S2, p. S209-S212, 1998.

GIRAFFA, G. *Lactobacillus helveticus*: importance in food and health. **Frontiers in microbiology**, v. 5, p. 338, 2014.

GOBBETTI, M.; CALASSO, M. *Streptococcus*. In: ROBINSON, R. K. **Encyclopedia of food microbiology**. Academic press, 2014.

GONG, Q. et al. Immune efficacy of DNA vaccines based on *oprL* and *oprF* genes of *Pseudomonas aeruginosa* in chickens. **Poultry science**, v. 97, n. 12, p. 4219-4227, 2018.

GONZÁLEZ-ALVARADO, J. M.; JIMÉNEZ-MORENO, E.; LÁZARO, R.; MATEOS, G. G. Effect of type of cereal, heat processing of the cereal, and inclusion of fiber in the diet on productive performance and digestive traits of broilers. **Poultry science**, v. 86, n. 8, p. 1705-1715, 2007.

GONZALEZ-ORTIZ, G. et al. Short-chain fatty acids and ceca microbiota profiles in broilers and turkeys in response to diets supplemented with phytase at varying concentrations, with or without xylanase. **Poultry science**, v. 99, n. 4, p. 2068-2077, 2020.

GUPTA, A.; TIWARI, S. K. Probiotic potential of bacteriocin-producing *Enterococcus hirae* strain LD3 isolated from dosa batter. **Annals of microbiology**, v. 65, n. 4, p. 2333-2342, 2015.

HAMMAMI, R. et al. Anti-infective properties of bacteriocins: an update. **Cellular and molecular life sciences**, v. 70, n. 16, p. 2947-2967, 2013.

HANCHI, Hasna et al. The genus *Enterococcus*: between probiotic potential and safety concerns—an update. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 1791, 2018.

HENNING, C.; GAUTAM, D.; MURIANA, P. Identification of multiple bacteriocins in *Enterococcus* spp. using an *Enterococcus*-specific bacteriocin PCR array. **Microorganisms**, v. 3, n. 1, p. 1-16, 2015.

HUANG, S.; SHENG, P.; ZHANG, Hongyu. Isolation and identification of cellulolytic bacteria from the gut of *Holotrichia parallela* larvae (Coleoptera: Scarabaeidae). **International journal of molecular sciences**, v. 13, n. 3, p. 2563-2577, 2012.

IKEDA, T. et al. Influence of lactic acid bacteria on longevity of *Caenorhabditis elegans* and host defense against *Salmonella enterica* serovar enteritidis. **Applied and environmental microbiology**, v. 73, n. 20, p. 6404-6409, 2007.

JHA, Rajesh et al. Fibra alimentar e saúde intestinal de animais monogástricos. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, p. 48, 2019.

JIA, L.; SHIGWEDHA, N.; MWANDEMELE, O. D. Use of Dacid-, Dbile-, zacid-, and zbile-Values in Evaluating Bifidobacteria with Regard to Stomach pH and Bile Salt Sensitivity. **Journal of food science**, v. 75, n. 1, p. M14-M18, 2010.

JUMPERTZ, R., LE, D. S., TURNBAUGH, P. J., et al. Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load, and nutrient absorption in humans. **The American journal of clinical nutrition**, v. 94, n. 1, p. 58-65, 2011.

KAJIKAWA, A.; SUZUKI, S.; IGIMI, S. The impact of motility on the localization of *Lactobacillus agilis* in the murine gastrointestinal tract. **BMC microbiology**, v. 18, n. 1, p. 1-7, 2018.

KHALDI, T. E. M. et al. *Streptococcus macedonicus* strains isolated from traditional fermented milks: resistance to gastrointestinal environment and adhesion ability. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 103, n. 6, p. 2759-2771, 2019.

KNAP, I. et al. *Bacillus subtilis* (DSM17299) significantly reduces *Salmonella* in broilers. **Poultry science**, v. 90, n. 8, p. 1690-1694, 2011.

KOGUT, M. H. The effect of microbiome modulation on the intestinal health of poultry. **Animal Feed Science and Technology**, v. 250, p. 32-40, 2019.

KULKARNI, G. et al. Multilocus sequence typing of *Ochrobactrum* spp. isolated from gastric niche. **Journal of infection and public health**, v. 10, n. 2, p. 201-210, 2017.

KUMAR, S.; CHEN, C.; INDUGU, N., et al. Effect of antibiotic withdrawal in feed on chicken gut microbial dynamics, immunity, growth performance and prevalence of foodborne pathogens. **PLoS One**, v. 13, n. 2, p. e0192450, 2018.

KÜNZEL, S. et al. Relative phytase efficacy values as affected by response traits, including ileal microbiota composition. **Poultry Science**, v. 100, n. 6, p. 101133, 2021.

LA RAGIONE, R. M.; WOODWARD, M. J. Competitive exclusion by *Bacillus subtilis* spores of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis and *Clostridium perfringens* in young chickens. **Veterinary microbiology**, v. 94, n. 3, p. 245-256, 2003.

LEE, K. W. et al. Effect of Bacillus-based direct-fed microbials on Eimeria maxima infection in broiler chickens. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 33, n. 6, p. e105-e110, 2010.b

LEE, K. W. et al. Effects of direct-fed microbials on growth performance, gut morphometry, and immune characteristics in broiler chickens. **Poultry Science**, v 89, n 2, p. 203, 2010.a

LEE, K.W. et al. Effects of salinomycin and Bacillus subtilis on growth performance and immune responses in broiler chickens. **Research in veterinary science**, v. 97, n. 2, p. 304-308, 2014.

LI, C. et al. Intestinal morphologic and microbiota responses to dietary Bacillus spp. in a broiler chicken model. **Frontiers in physiology**, v. 9, p. 1968, 2019.

LIU, J. et al. Neuroprotective effects of Clostridium butyricum against vascular dementia in mice via metabolic butyrate. **BioMed research international**, v. 2015, 2015.

LIU, L. et al. Recombinant Lactococcus lactis co-expressing OmpH of an M cell-targeting ligand and IBDV-VP2 protein provide immunological protection in chickens. **Vaccine**, v. 36, n. 5, p. 729-735, 2018.

LOPETUSO, L. R. et al. Commensal Clostridia: leading players in the maintenance of gut homeostasis. **Gut pathogens**, v. 5, n. 1, p. 1-8, 2013.

LU, J.; IDRIS, U.; HARMON, B.; et al. Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. **Applied and environmental microbiology**, v. 69, n. 11, p. 6816-6824, 2003.

MAES, C.; DELCOUR, J. A. Alkaline hydrogen peroxide extraction of wheat bran non-starch polysaccharides. **Journal of Cereal Science**, v. 34, n. 1, p. 29-35, 2001.

MAES, CADJA; DELCOUR, J. A. Structural characterisation of water-extractable and water-unextractable arabinoxylans in wheat bran. **Journal of Cereal Science**, v. 35, n. 3, p. 315-326, 2002.

MACHADO, N. J. B. et al. Effects of xylanase and probiotic supplementation on broiler chicken diets. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 49, 2020.

MAHMOOD, T.; GUO, Y. Dietary fiber and chicken microbiome interaction: Where will it lead to? **Animal Nutrition**, v. 6, n. 1, p. 1-8, 2020.

MAOUGAL, R. T. et al. Bacterial capacities to mineralize phytate increase in the rhizosphere of nodulated common bean (Phaseolus vulgaris) under P deficiency. **European journal of soil biology**, v. 62, p. 8-14, 2014.

MESSAOUDI, S. et al. Lactobacillus salivarius: bacteriocin and probiotic activity. **Food microbiology**, v. 36, n. 2, p. 296-304, 2013.

MOORE, Robert J. Necrotic enteritis predisposing factors in broiler chickens. **Avian Pathology**, v. 45, n. 3, p. 275-281, 2016.

MORGAN, N. K.; WALLACE, A.; BEDFORD, M. R.; CHOCT, M. Efficiency of xylanases from families 10 and 11 in production of xylo-oligosaccharides from wheat arabinoxylans. **Carbohydrate Polymers**, v. 167, p. 290-296, 2017.

MORRISON, D.; WOODFORD, N.; COOKSON, B. Enterococci as emerging pathogens of humans. **Journal of applied microbiology**, v. 83, n. S1, p. 89S-99S, 1997.

PALACIOS, María Consuelo et al. Selection of lactic acid bacteria with high phytate degrading activity for application in whole wheat breadmaking. **LWT-Food Science and Technology**, v. 41, n. 1, p. 82-92, 2008.

PARK, J. H.; KIM, I. H. Supplemental effect of probiotic *Bacillus subtilis* B2A on productivity, organ weight, intestinal *Salmonella* microflora, and breast meat quality of growing broiler chicks. **Poultry Science**, v. 93, n. 8, p. 2054-2059, 2014.

PARKER, Aimée et al. Host-microbe interaction in the gastrointestinal tract. **Environmental microbiology**, v. 20, n. 7, p. 2337-2353, 2018.

PODUCH E KOTRA. *Acinetobacter* Infections. IN: *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference*. Elsevier Inc., 2007. p. 1-9.

PTAK, A.; BEDFORD, M. R.; ŚWIĄTKIEWICZ, S., et al. "Phytase modulates ileal microbiota and enhances growth performance of the broiler chickens. **PloS one**, v. 10, n. 3, p. e0119770, 2015.

RASHID, Z. et al. Benchmark taxonomic classification of chicken gut bacteria based on 16S rRNA gene profiling in correlation with various feeding strategies. **Journal of King Saud University-Science**, v. 32, n. 1, p. 1034-1041, 2020.

RIBEIRO, T. et al. Xylo-oligosaccharides display a prebiotic activity when used to supplement wheat or corn-based diets for broilers. **Poultry science**, v. 97, n. 12, p. 4330-4341, 2018.

ROSENSTEIN, Ralf; GÖTZ, Friedrich. What distinguishes highly pathogenic staphylococci from medium-and non-pathogenic?. **Between pathogenicity and commensalism**, p. 33-89, 2012.

SALANITRO, J. P. et al. Bacteria isolated from the duodenum, ileum, and cecum of young chicks. **Applied and environmental microbiology**, v. 35, n. 4, p. 782-790, 1978.

SAMANTA, A. K.; JAYAPAL, N.; JAYARAM, C., et al. Xylooligosaccharides as prebiotics from agricultural by-products: production and applications. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 5, n. 1, p. 62-71, 2015.

SANDVANG, Dorthe et al. Effect of feed supplementation with three different probiotic *Bacillus* strains and their combination on the performance of broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*. **Poultry Science**, 2021.

SAS Statistical Analysis System, Statistical Methods. SAS Institute Inc., Cary, NC, 1999.
SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V.; PARTRIDGE, G. G. Beneficial effects of xylanase and/or phytase inclusions on ileal amino acid digestibility, energy utilisation, mineral retention and growth performance in wheat-based broiler diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 153, n. 3-4, p. 303-313, 2009.

SEN, S. et al. Effect of supplementation of *Bacillus subtilis* LS 1-2 to broiler diets on growth performance, nutrient retention, caecal microbiology and small intestinal morphology. **Research in Veterinary Science**, v. 93, n. 1, p. 264-268, 2012.

SHANG, Y., et al. Chicken gut microbiota: importance and detection technology. **Frontiers in veterinary science**, v. 5, p. 254, 2018.

SHIN, Na-Ri; WHON, Tae Woong; BAE, Jin-Woo. Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota. **Trends in biotechnology**, v. 33, n. 9, p. 496-503, 2015.

SHOJADOOST, Bahram; VINCE, Andrew R.; PRESCOTT, John F. The successful experimental induction of necrotic enteritis in chickens by *Clostridium perfringens*: a critical review. **Veterinary research**, v. 43, n. 1, p. 1-12, 2012.

SHOKRYAZDAN, P. et al. Effects of a *Lactobacillus salivarius* mixture on performance, intestinal health and serum lipids of broiler chickens. **PloS one**, v. 12, n. 5, p. e0175959, 2017.

SILVA, J. H. V., et al. Exigências nutricionais de codornas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 3, 2012.

STURINO, J. M. Literature-based safety assessment of an agriculture-and animal-associated microorganism: *Weissella confusa*. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 95, p. 142-152, 2018.

SUMI, C. D. et al. Antimicrobial peptides of the genus *Bacillus*: a new era for antibiotics. **Canadian journal of microbiology**, v. 61, n. 2, p. 93-103, 2015.

SYED, M. A. et al. Staphylococci in poultry intestines: a comparison between farmed and household chickens. **Poultry Science**, v. 99, n. 9, p. 4549-4557, 2020.

TARRAH, A. et al. Genomic and phenotypic assessments of safety and probiotic properties of *Streptococcus macedonicus* strains of dairy origin. **Food Research International**, v. 130, p. 108931, 2020.

TURRONI, F.; VAN SINDEREN, D.; VENTURA, M. Genomics and ecological overview of the genus *Bifidobacterium*. **International journal of food microbiology**, v. 149, n. 1, p. 37-44, 2011.

VERMEULEN, K. et al. Reduced-particle-size wheat bran is efficiently colonized by a lactic acid-producing community and reduces levels of Enterobacteriaceae in the cecal microbiota of broilers. **Applied and environmental microbiology**, v. 84, n. 21, 2018.

WANG, J. et al. Assessment of probiotic properties of *Lactobacillus salivarius* isolated from chickens as feed additives. **Frontiers in veterinary science**, v. 7, p. 415, 2020.

WANG, J.; ISHFAQ, M.; LI, J. *Lactobacillus salivarius* ameliorated *Mycoplasma gallisepticum*-induced inflammatory injury and secondary *Escherichia coli* infection in chickens: Involvement of intestinal microbiota. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 233, p. 110192, 2021.

WANG, Y.; QIAN, P. Y. Conservative fragments in bacterial 16S rRNA genes and primer design for 16S ribosomal DNA amplicons in metagenomic studies. **PloS one**, v. 4, n. 10, p. e7401, 2009.

WAYAH, S. B.; PHILIP, K. Purification, characterization, mode of action, and enhanced production of Salivaricin mmaye1, a novel bacteriocin from *Lactobacillus salivarius* SPW1 of human gut origin. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 35, p. 39-47, 2018.

WILKINSON, N.; HUGHES, R. J.; ASPDEN, W. J., et al. The gastrointestinal tract microbiota of the Japanese quail, *Coturnix japonica*. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 100, n. 9, p. 4201-4209, 2016.

YANG, W. et al. The inducible response of the nematode *Caenorhabditis elegans* to members of its natural microbiota across development and adult life. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 1793, 2019.

ZELLER, E.; SCHOLLENBERGER, M.; KÜHN, I.; RODEHUTSCORD, M. Effect of diets containing enzyme supplements and microwave-treated or untreated wheat on inositol phosphates in the small intestine of broilers. **Animal Feed Science and Technology**, v. 204, p. 42-51, 2015.