UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

SORGO COMO FONTE DE CARBOIDRATO EM ALIMENTOS EXTRUSADOS PARA GATOS: USO DE DIFERENTES VARIEDADES E MOAGENS E EFEITOS SOBRE A DIGESTIBILIDADE, PRODUTOS DE FERMENTAÇÃO, IMUNIDADE INTESTINAL E MICROBIOTA

Érico de Mello Ribeiro
Médico veterinário

2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

SORGO COMO FONTE DE CARBOIDRATO EM ALIMENTOS EXTRUSADOS PARA GATOS: USO DE DIFERENTES VARIEDADES E MOAGENS E EFEITOS SOBRE A DIGESTIBILIDADE, PRODUTOS DE FERMENTAÇÃO, IMUNIDADE INTESTINAL E MICROBIOTA

Érico de Mello Ribeiro
Orientador: Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária (Clínica Médica Veterinária)

2020

R484s

Ribeiro, Érico de Mello

Sorgo como fonte de carboidrato em alimentos extrusados para gatos: uso de diferentes variedades e moagens e efeitos sobre a digestibilidade, produtos de fermentação, imunidade intestinal e microbiota / Érico de Mello Ribeiro. -- Jaboticabal, 2020

63 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Aulus Cavalieri Carciofi

1. Carboidratos na nutrição animal. 2. Gato. 3. Sorgo como ração. 4. Fermentação. 5. Microbiota. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: SORGO COMO FONTE DE CARBOIDRATO EM ALIMENTOS EXTRUSADOS PARA GATOS: USO DE DIFERENTES VARIEDADES E MOAGENS E EFEITOS SOBRE A DIGESTIBILIDADE, PRODUTOS DE FERMENTAÇÃO, IMUNIDADE INTESTINAL E MICROBIOTA

AUTOR: ÉRICO DE MELLO RIBEIRO
ORIENTADOR: AULUS CAVALIERI CARCIOFI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em MEDICINA VETERINÁRIA, área: Clínica Médica Veterinária pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. AULUS CAVALIERI CARCIOFI
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Profa. Dra. MÁRCIA DE OLIVEIRA SAMPAIO GOMES (VIDEOCONFERÊNCIA)
Departamento de Clínica Médica / FMVZ - USP - São Paulo,SP

Fabiana Pilarski
Profa. Dra. FABIANA PILARSKI
Centro de Aquicultura-FCAV/UNESP / Jaboticabal/SP

Profª. Drª. KATIA SIVIERI (VIDEOCONFERÊNCIA)
Departamento de Alimentos e Nutrição / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP- Araraquara

Prof. Dr. MÁRCIO ANTÔNIO BRUNETTO
Departamento de Nutrição e Produção Animal / FMVZ / USP - Pirassununga/SP

Jaboticabal, 06 de fevereiro de 2020

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ÉRICO DE MELLO RIBEIRO, nascido em 7 de maio de 1985, em Pelotas, estado do Rio Grande do Sul, filho de Edimar Gonçalves Ribeiro e Marilda Mello Ribeiro, realizou curso Técnico em Agropecuária no Conjunto Agrotécnico "Visconde da Graça" da Universidade Federal de Pelotas, concluindo-o em 2002. Graduou-se em Medicina Veterinária pela Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas em agosto de 2010. Cursou o Programa de Residência Médico Veterinária em Clínica Médica de Pequenos Animais do Hospital de Clínicas Veterinárias da mesma instituição nos anos de 2011 e 2012. Cursou o Programa de Aprimoramento em Medicina Veterinária, na área de Nutrição e Nutrição Clínica de Cães e Gatos do Hospital Veterinário Governador Laudo Natel da FCAV/Unesp, Câmpus de Jaboticabal, nos anos de 2012 e 2013. Em março de 2014 iniciou o curso de Mestrado em Medicina Veterinária (área Clínica Médica Veterinária) com ênfase em Nutrição e Nutrição Clínica de Cães e Gatos, concluindo-o em fevereiro de 2016. Iniciou o curso de Doutorado em Medicina Veterinária, área Clínica Médica Veterinária, com ênfase em Nutrição e Nutrição Clínica de Cães e Gatos, na mesma instituição, em março de 2016, sob a orientação do Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi, concluindo-o em fevereiro de 2020.

Ofereço

Aos meus pais, Edimar e Marilda,
por todo amor, apoio e incentivo,
essenciais para minha formação.

Dedico

À minha companheira Andressa, pelo seu amor, apoio e exemplo. Por me estimular a ser uma pessoa melhor todos os dias e em todos os aspectos.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Aulus Cavalieri Carciofi, pela oportunidade e confiança, desde a residência até o doutorado. Obrigado por compartilhar todo seu conhecimento e demostrar, através de sua postura e dedicação, um grande exemplo a ser seguido. Pelo seu esforço em melhorar não apenas as condições do laboratório, mas também para os seus orientados. A convivência com o senhor, muitas vezes por curtos momentos, sempre trouxe muito aprendizado. Muito obrigado.

Aos meus pais, por todo o carinho, apoio e incentivo que sempre me deram. Sem vocês esta caminhada com certeza teria sido muito mais difícil ou talvez não teria sido possível. Obrigado também pelas cobranças nos momentos em que precisei. Vocês são grandes exemplos, muito obrigado por tudo! Amo muito vocês!

À minha companheira Andressa pelo amor, apoio e ajuda em todos os momentos, desde o final da residência na UFPel. Por toda a paciência ao longo desses anos, entendendo minhas dificuldades, e pelo incentivo em tornar-me uma pessoa melhor. Pelo exemplo de dedicação e conduta. Muito obrigado por tudo! Te amo muito!

À minha família, em especial aos meus padrinhos Antônio Carlos e Maria das Graças pelo apoio e incentivo e pelo carinho sempre que conversamos e nos vemos. Muito obrigado pelos ótimos momentos de convívio neste período. Agradeço especialmente à Tia Iraema pelo apoio dado com a cirurgia da minha mãe. Cada um, à sua maneira, serve de inspiração e motivação.

Aos bons e verdadeiros amigos, pelo apoio e pelos momentos de alegria. Em especial ao meu irmão Bruno e ao meu primo Thiago.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Nutrição de Cães e Gatos e da Residência em Nutrição Clínica pela amizade e companheirismo. Pela ajuda durante as diversas etapas do curso, por tornarem os momentos de trabalho mais agradáveis e por toda a paciência, especialmente no período em que a Andressa esteve fora do país. Amanda, Ana Paula, Bruna, Camila Baptista, Camila Goloni, Carol, Débora, Fernanda, Francine, Isabela, Lara, Ludmilla, Letícia Luis, Letícia Pacheco, Lucas, Maria Eduarda, Monique, Peterson, Pierina, Priscila, Stephanie e Thaila: aprendi um pouco com cada um, seja através de conversas ou de exemplos. Em especial à

Mayara Baller, por se envolver durante todas as etapas do experimento, inclusive nos momentos em que estive ausente. Muito obrigado! Desejo muito sucesso para cada um de vocês pois são merecedores!

Às técnicas do Laboratório de Apoio à Pesquisa do DCCV, Renata e Cláudia, pelo auxílio nas análises. Em especial à Cláudia pela amizade, paciência e disponibilidade em ensinar, facilitando muito nossa rotina com seu conhecimento e bom-humor.

Aos funcionários Diego, Elaine e Kelly por toda a ajuda e pela amizade. Por tornarem o laboratório um melhor lugar tanto para nós quanto para os cães e gatos.

Ao Prof. Gener Tadeu Pereira pela contribuição na análise dos dados.

Às Professoras Thaila Cristina Putarov e Elisabeth Criscuolo Urbinati pelas contribuições na banca de qualificação.

Aos Professores Fabiana Pilarski, Kátia Sivieri, Márcia Gomes e Marcio Brunetto pela participação na banca de defesa e por contribuírem para a melhoria do trabalho.

Ao Professor Sajid Alavi e ao Eric Maichel, da Universidade Estadual do Kansas, pelo apoio durante a produção e parte das análises das rações utilizadas no estudo.

Ao Professor Jan Suchodolski e sua equipe da Texas A&M University, em especial à Rachel Pilla pela atenção e ajuda na análise dos dados de microbiota.

Aos estagiários com quem pude conviver durante este período, em especial à Paulinha (Ana Paula Garcia), por toda a ajuda e pelo incentivo em melhorar a cada dia.

Ao *Sorghum Checkoff Program* por financiar o estudo e permitir um aprofundamento sobre o que sabemos de carboidratos para gatos.

Às Responsáveis Técnicas pelo Laboratório Roberta e Tamyres pela amizade e por ajudarem a tornar o Laboratório um ambiente melhor para todos.

Aos funcionários Helinho e Lucas pela ajuda durante as atividades realizadas na Fábrica de Rações.

À Affinity Petcare e à Manfrim Alimentos pela manutenção financeira do Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos “Prof. Dr. Flávio Prada”.

Aos cães, Kelly, Xuxa, Dexter, Peter, Hanna e Poli, e aos gatos, Kinder, Tchuco e Negão, que tive e tenho o prazer de conviver, pela amizade e pelo estímulo para me tornar um profissional melhor a cada dia. Aos gatos que participaram deste estudo por tornarem as atividades de experimento mais agradáveis e prazerosas. E a todos os cães e gatos do Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos pela alegria e carinho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

Página

Certificado de aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais..... ii
Resumo..... iv
Abstract..... iv
Lista de abreviaturas vi
Lista de tabelas..... viii
Lista de figuras..... ix
1 INTRODUÇÃO..... 1
2 REVISÃO DE LITERATURA..... 3
2.1 Sorgo..... 3
2.2 Amido resistente..... 4
2.3 Microbiota intestinal..... 6
2.4 Produtos do metabolismo bacteriano..... 7
3 MATERIAL E MÉTODOS..... 9
3.1 Dietas 9
3.2 Gatos e delineamento experimental 12
3.3 Digestibilidade dos nutrientes e análises químicas dos alimentos e fezes... 13
3.4 pH e produtos da fermentação nas fezes..... 14
3.5 Teste de palatabilidade das dietas..... 15
3.6 Extração de DNA fecal, amplificação e sequenciamento..... 16
3.7 Procedimentos de cálculo e análise estatística..... 18
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 19
4.1 Produção e composição nutricional dos ingredientes e das dietas..... 19
4.2 Palatabilidade, ingestão de nutrientes e digestibilidade das dietas..... 20
4.3 Produção, características e produtos da fermentação fecais..... 28
4.4 Microbiota fecal..... 35
5 CONCLUSÕES..... 50
6 REFERÊNCIAS..... 51

unesp UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

C E R T I F I C A D O

Certificamos que o projeto intitulado **"Sorgo como fonte de carboidrato em alimentos extrusados para gatos: uso de diferentes variedades e moagens e efeitos sobre a digestibilidade, produtos de fermentação, imunidade intestinal e microbiota"**, protocolo nº 011491/17, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 03 de Agosto de 2017.

Vigência do Projeto	11/09/2017 a 23/02/2018
Espécie / Linhagem	Felina
Nº de animais	48
Peso / Idade	4 Kg / 3 a 9 anos
Sexo	Ambos os sexos
Origem	Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos "Prof. Dr. Flávio Prada" – Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária (DCCV) – FCAV/UNESP

Jaboticabal, 03 de agosto de 2017.

Profª Drª Lizandra Amoroso
Coordenadora – CEUA

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

DECLARAÇÃO

Declaramos que o trabalho de pesquisa intitulado **"Sorgo como fonte de carboidrato em alimentos extrusados para gatos: uso de diferentes variedades e moagens e efeitos sobre a digestibilidade, produtos de fermentação, imunidade intestinal e microbiota"**, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi e Certificado CEUA protocolo nº 011491/17, aprovado em reunião ordinária em 03 de agosto de 2017, teve o número de animais alterado de 48 para 64 gatos, com aprovação *"Ad Referendum"* em 19 de maio de 2020.

Jaboticabal, 19 de maio de 2020.

Prof.ª Dr.ª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n CEP 14884-900 - Jaboticabal/ SP - Brasil
tel 16 3209 7100 www.fcav.unesp.br

SORGO COMO FONTE DE CARBOIDRATO EM ALIMENTOS EXTRUSADOS PARA GATOS: USO DE DIFERENTES VARIEDADES E MOAGENS E EFEITOS SOBRE A DIGESTIBILIDADE, PRODUTOS DE FERMENTAÇÃO, IMUNIDADE INTESTINAL E MICROBIOTA.

RESUMO - O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de duas variedades de sorgo, processadas diferentemente, na palatabilidade, digestibilidade dos nutrientes, produtos de fermentação fecal e microbiota em gatos adultos. Quatro dietas com composições similares foram formuladas com milho (Mi), arroz integral (AI), sorgo vermelho (SV) ou sorgo branco (SB) como principal fonte de carboidrato. As dietas Mi e AI foram moídas apenas com peneira de 1,0 mm (média), enquanto que as dietas SV e SB foram moídas com peneiras de 0,8 mm (fina), 1,0 mm e 1,6 mm (grossa), totalizando oito dietas. O experimento foi delineado em blocos casualizados, com quatro blocos de 16 gatos, dois gatos por dieta em cada bloco, totalizando oito repetições por tratamento e 64 unidades experimentais. Após o período de adaptação, a digestibilidade dos nutrientes foi calculada pelo método de coleta fecal total e o escore fecal foi avaliado. Amostras fecais frescas foram coletadas para análise dos produtos de fermentação, medição do pH, aminas biogênicas e microbiota. Valores de $P < 0,05$ foram considerados significativos. A palatabilidade foi maior nas dietas SV e SB na moagem média do que nas dietas Mi e AI ($P < 0,01$), e a dieta SB apresentou maior consumo que SV ($P < 0,05$). Para a dieta SV, a maior granulometria apresentou melhor consumo do que a menor granulometria ($P < 0,05$). Não houve diferença significativa na digestibilidade aparente dos nutrientes entre as dietas, exceto uma redução na digestibilidade da matéria seca para a dieta SB com moagem grossa ($P=0,007$). A produção fecal, escore fecal e amônia foram semelhantes entre as dietas ($P>0,05$). O pH fecal foi menor após o consumo das dietas AI e SV e SB com moagem grossa ($P<0,05$). Maior produção de butirato nas fezes foi observada na dieta SB com maior granulometria ($P=0,002$), com potencial benefício para a saúde intestinal. A concentração de aminas biogênicas nas fezes não diferiu entre os tratamentos ($P>0,05$). As dietas à base de sorgos vermelho e branco em maior granulometria apresentaram menor beta diversidade que todas as dietas, com exceção do sorgo branco em granulometria média. Conclui-se que dietas com SV ou SB foram mais palatáveis do que aquelas com Mi ou AI. Com teores semelhantes de fibra, a digestibilidade, produção e o escore fecais foram semelhantes entre as diferentes fontes de carboidratos, independentemente da moagem. A maior granulometria aumentou a palatabilidade do SB e SV e o butirato fecal no SB. Entretanto, maior granulometria diminuiu a diversidade beta nas duas variedades de sorgo e *Lachnospiraceae* e *Ruminococcaceae*, famílias conhecidas por suas bactérias benéficas. SV em menor granulometria aumentou *Faecalibacterium prausnitzii*, uma produtora de butirato.

Palavras-chave: amido resistente, felino, intestino, prebiótico

SORGHUM AS A CARBOHYDRATE SOURCE IN EXTRUDED CAT FOODS: USE OF DIFFERENT VARIETIES AND GRINDINGS AND EFFECTS ON DIGESTIBILITY, FERMENTATION PRODUCTS, INTESTINAL IMMUNITY AND MICROBIOTA

ABSTRACT - The objective of this study was to evaluate the effect of two sorghum varieties, processed differently, on palatability, nutrient digestibility and fecal fermentation products in adult cats. Four diets with similar compositions were formulated with corn (C), brown rice (BR), red sorghum (RS) or white sorghum (WS) as the main carbohydrate source. The C and BR diets were ground with 1.0 mm (medium) screen sieve; RS and WS were ground with sieve sizes of 0.5 mm (fine), 1.0 mm and 1.6 mm (coarse) each, totaling eight diets. The experiment was a randomized complete block design with four blocks of 16 cats, two cats per diet in each block, totaling eight replicates per treatment and 64 experimental units. After the adaptation period the nutrient digestibility was calculated by the total fecal collection method and the fecal score was evaluated. Fresh fecal samples were collected for analysis of fermentation products, pH measurement, biogenic amines and microbiota. Values of $P < 0.05$ were considered significant. Palatability was higher for RS and WS diets at medium particle size than C and BR diets ($P < 0.01$) and WS presented higher intake than RS ($P < 0.05$). For RS, bigger particle size had better consumption than small particle size ($P < 0.05$). There were no differences in apparent digestibility of the nutrients between the diets, except lower DM for WS with bigger particle size ($P = 0.007$). Fecal production, score and ammonia were similar between diets ($P > 0.05$). Fecal pH was lower after consumption of the BR and RS and WS diets with bigger particle size ($P < 0.05$). Likewise, the production of butyrate was increased, an important source of energy for the colonocytes, in WS with bigger particle size ($P = 0.002$), which may improve intestinal health. There were no differences between treatments in fecal concentrations of biogenic amines ($P>0,05$). Beta diversity in both sorghum diets with bigger particle size was reduced in comparison to all diets, except WS with medium particle size. In conclusion, diets with RS or WS were more palatable than those with C or BR. With similar fiber contents, digestibility, fecal production and score were similar among the different carbohydrate sources, regardless of grinding. Bigger particle size has increased palatability of RS and WS and fecal butyrate in WS. However, bigger particle size reduced beta diversity in both sorghum varieties and *Lachnospiraceae* and *Ruminococcaceae*, families known for their beneficial bacteria. RS diet with small particle size increased *Faecalibacterium prausnitzii*, a butyrate producer.

Keywords: resistant starch, feline, intestine, prebiotic

LISTA DE ABREVIATURAS

AAFCO	Association of American Feed Control Officials
AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
AI	Arroz integral
AR	Amido resistente
DGM	Diâmetro geométrico médio
EB	Energia bruta
EEHA	extrato etéreo em hidrólise ácida
EPM	Erro padrão da média
FDR	Taxa de descoberta falsa
G	Gramas
g	Unidade de força centrífuga relativa
h	Hora
Kcal	Quilocalorias
Kw	Kilowatt
L	Litro
LEfSe	Tamanho do efeito da análise discriminante linear
Mi	Milho
Min	Minutos
Mg	Miligramas
Ml	Mililitros
Mm	Milímetro
MM	Matéria mineral
MO	Matéria orgânica
MS	Matéria seca
NRC	National Research Council
PB	Proteína bruta
pb	Pares de bases
PCoA	Análise de coordenadas principais

PCR	Reação em cadeia da polimerase
rpm	Rotações por minuto
s	Segundos
SAS	Statistical Analysis System
SB	Sorgo branco
SV	Sorgo vermelho
SRD	Sem raça definida
ton	Tonelada
UI	Unidade internacional
UTO	Unidade taxonômica operacional

LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 1	Composição química das fontes de carboidrato empregadas na produção das rações experimentais para gatos.....	10
Tabela 2	Fórmulas das dietas experimentais com diferentes fontes de carboidratos para gatos.....	11
Tabela 3	Composição química analisada, diâmetro geométrico médio da mistura farelada, densidade aparente dos kibbles e teores de taninos totais e amido resistente das rações para gatos com diferentes fontes de carboidratos e graus de moagem.....	12
Tabela 4	Ingestão de nutrientes, digestibilidade total aparente dos nutrientes e energia metabolizável de formulações de ração para gatos com diferentes fontes de cereais e tamanhos de partículas de matérias-primas.....	27
Tabela 5	Produção e características fecais de gatos alimentados com dietas formuladas com diferentes fontes de cereais e tamanhos de partículas de matérias-primas.....	29
Tabela 6	Concentração de produtos de fermentação nas fezes de gatos alimentados com dietas formuladas com diferentes fontes de cereais e tamanhos de partículas de matéria-prima.....	32
Tabela 7	Concentração de aminas biogênicas nas fezes de gatos alimentados com dietas formuladas com diferentes fontes de cereais e tamanhos de partículas de matéria-prima.....	34
Tabela 8	Presença de táxons significativamente diferentes (P-valor) nas fezes de gatos alimentados com dietas extrusadas com diferentes cereais e tamanhos de partícula antes da correção por FDR (Q valor).....	37

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Proporção de ingestão total entre dietas à base de milho (1,0 mm) ou sorgo vermelho (SV, 1,0 mm) por gatos.....	21
Figura 2.	Proporção de ingestão total entre dietas à base de milho (1,0 mm) ou sorgo branco (SB, 1,0 mm) por gatos.....	21
Figura 3	Proporção de ingestão total entre dietas à base de arroz integral (AI, 1,0 mm) ou sorgo vermelho (SV, 1,0 mm) por gatos.....	22
Figura 4	Proporção de ingestão total entre dietas à base de arroz integral (AI, 1,0 mm) ou sorgo branco (SB, 1,0 mm) por gatos...	22
Figura 5	Proporção de ingestão total entre dietas à base de sorgo vermelho (SV, 1,0 mm) ou sorgo branco (SB, 1,0 mm) por gatos.....	23
Figura 6	Proporção da ingestão total entre dietas à base de sorgo vermelho (SV) moído com peneiras de 0,8 mm ou 1,6 mm por gatos.....	24
Figura 7	Proporção da ingestão total entre dietas à base de sorgo branco (SB) moído em peneiras de 0,8 mm ou 1,6 mm por gatos.....	24
Figura 8	Diversidade alfa – Rarefação de 20.923 sequências. Número de unidades taxonômicas operacionais observadas (UTOs) observadas de acordo com a dieta.	35
Figura 9	Diversidade beta – Análise das coordenadas principais (PcoA) da parcela ponderada da fração única métrica (Unifrac), de acordo com a dieta consumida pelos gatos.	36

1 INTRODUÇÃO

Os alimentos extrusados para cães e gatos possuem os grãos como sua principal fonte de amido (Spears e Fahey, 2004). Entre estes, o sorgo possui vantagens como uma maior resistência à seca e pragas (Rooney e Serna-Saldivar, 2000), maior produtividade por área produzida e, consequentemente, menor custo em comparação com fontes mais tradicionais como milho e arroz (Awika, 2011).

Durante a produção de alimentos extrusados para animais de estimação, os cereais são moídos finamente em moinhos de martelos e cozidos extensivamente nos sistemas de extrusão, visando uma alta digestibilidade e consistência adequada das fezes (Bazolli et al., 2015). É possível que uma moagem mais grossa e um cozimento limitado possam aumentar o teor de amido resistente (AR) do alimento extrusado, possivelmente alterando seu padrão digestivo e absortivo, e por consequência impactando o metabolismo de carboidratos. O amido resistente é um potencial prebiótico, composto por amido e seus produtos da degradação que não são digeridos e absorvidos no intestino delgado, sendo fermentados no intestino grosso (Nugent, 2005; Fuentes-Zaragoza et al., 2010). Poucos estudos analisaram a digestibilidade de alimentos extrusados para gatos contendo diferentes fontes de carboidratos ou formas de processamento desses ingredientes (De-Oliveira et al., 2008; Gonçalves, 2016).

Os AGCC foram envolvidos na regulação da expressão de genes e de eventos celulares específicos, lançando nova luz sobre o envolvimento de sua produção sobre adipogênese, desenvolvimento de resistência insulínica, status inflamatório e sobre a manutenção da integridade da barreira intestinal em estudos com seres humanos e ratos (Belobrajdic et al., 2012). Não existem estudos para gatos sobre AR advindos de cereais, mas trabalhos já demonstram que a geração de AR é efetiva durante o processamento por extrusão e que este apresenta efeitos benéficos quando consumidos pelos cães (Peixoto et al., 2017; Ribeiro et al., 2019).

Menos estudadas, mas igualmente importantes, aminas biogênicas são produtos da degradação de aminoácidos pela microbiota intestinal (Rooks e Garrett, 2016). Estas têm diferentes ações fisiológicas, algumas deletérias, como a histamina, e outras benéficas, como a espermina (Minois et al., 2011). As poliaminas são importantes para a manutenção da taxa de proliferação celular e melhora na

integridade da barreira celular do epitélio intestinal (Timmons et al., 2014; Rogers et al., 2015), além de poderem apresentar efeito antinflamatório (Minois et al., 2011).

Estudos recentes estão considerando que o intestino pode ter uma parte central em muitas doenças, além de suas funções de absorção de nutrientes e atuar como uma barreira entre o hospedeiro e os patógenos e toxinas externos (Deng e Swanson, 2015), já que as bactérias intestinais desempenham um papel fundamental na manutenção da saúde e bem-estar do hospedeiro, seja humano ou animal de estimação (Bermingham et al., 2018).

Assim, é possível que a absorção de AGCC derivados da fermentação do amido resistente, bem como o consumo de uma dieta com cereais menos processados, possam modular o metabolismo microbiano, alterando a concentração de produtos de fermentação nas fezes desses animais, com potenciais benefícios à saúde intestinal e do organismo.

Com base no exposto, foi avaliado em gatos adultos o consumo de alimentos extrusados, balanceados para apresentar composição química semelhante, formulados com sorgo branco ou sorgo vermelho, moídos em diferentes granulometrias, comparados com os controles arroz integral e milho quanto à formação de amido resistente durante a extrusão, palatabilidade, digestibilidade dos nutrientes, formação de fezes, produtos de fermentação e microbiota das fezes.

O projeto foi realizado em parceria com a Kansas State University e financiado parcialmente pelo *United Sorghum Checkoff Program*, ambas com sede nos EUA. Desta forma, a escolha dos ingredientes foi baseada principalmente no mercado *pet food* norte-americano.

Foram hipóteses do presente estudo que os alimentos extrusados com sorgo como fonte de carboidrato teriam adequada digestibilidade e palatabilidade para gatos. O emprego de sorgo moído mais grosseiramente geraria alimento com maior teor de amido resistente, em função das características naturais do grânulo de amido deste cereal. O consumo de alimento com maior teor de amido resistente iria resultar em menor digestibilidade do amido e outros nutrientes no intestino delgado, aumentando a fermentação microbiana de carboidratos no intestino grosso dos gatos, resultando em maior concentração de produtos de fermentação e alterações na microbiota das fezes.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Sorgo

O sorgo é um cereal único devido à sua resistência à seca e adaptação a climas tropicais (Rooney e Serna-Saldivar, 2000). É o quinto mais produzido no mundo, atrás de milho, trigo, arroz e cevada, com produção de mais de 57 milhões de toneladas (FAO, 2017). É utilizado com frequência para alimentação humana, principalmente na Ásia, mas também para alimentação animal no ocidente (Reddy et al., 2010).

O sorgo é considerado ingrediente de baixa digestibilidade do amido (Svihus et al., 2005) em comparação com o arroz e o milho, o que se justifica pela complexa relação entre o amido e a matriz proteica que envolve os grânulos de amido deste cereal (Rooney e Pflugfelder, 1986). O conteúdo de amilose está diretamente relacionado à digestibilidade do amido (Biliaderis, 1991) e inversamente relacionado com a resposta glicêmica (Goddard et al., 1984). Por isso, o sorgo, que possui maior proporção de amilose em comparação com o arroz e o milho, apresenta digestão diferenciada (De-Oliveira et al., 2008). Dietas contendo lentilha e ervilha (duas leguminosas) como fontes de carboidrato induzem menor glicemia e maior insulinemia em gatos adultos em comparação com os grãos arroz e milho, comportamento semelhante ao observado para o sorgo (De-Oliveira et al., 2008).

Todavia, sabe-se que o processamento, tanto por moagem quanto por extrusão (Svihus et al., 2005; Mahasukhonthachat et al., 2010), aumenta a digestibilidade do sorgo, reduzindo o conteúdo de amido resistente e podendo anular os potenciais benefícios atribuídos à uma menor e mais lenta digestão. Bazolli et al. (2015) compararam diferentes moagens de arroz, milho e sorgo em rações extrusadas para cães e seus efeitos sobre a digestibilidade e produtos da fermentação nas fezes, e demonstraram que o maior tamanho de partícula diminuiu a gelatinização do amido em todos ingredientes, porém reduziu a digestibilidade do amido, da proteína e da gordura apenas nas dietas com milho ou sorgo. Consequentemente, apenas as dietas com milho ou sorgo com maior tamanho de partícula aumentaram a concentração de butirato e lactato nas fezes, com potencial benefício para a saúde. Estudos similares não foram encontrados para felinos.

Além do valor nutritivo, o sorgo possui potencial antioxidante através de seus compostos fenólicos, principalmente os taninos condensados. As variedades de sorgo podem ser classificadas de acordo com o teor de tanino (em mg de equivalente de catequina/g de amostra), em: Tipo I (0 a 1,8), Tipo II (6,4 a 15,5) ou Tipo III (11 a 50,2) (Xiong et al., 2019). Entretanto, o potencial antioxidante, assim como potenciais efeitos negativos para o consumo devido à menor palatabilidade, não estão presente nas variedades modernas utilizadas normalmente na alimentação animal devido à seleção para redução dos taninos (Arapitsas, 2012).

2.2 Amido resistente

Ao se avaliar uma fonte de carboidrato, a presença de amido resistente (AR) também deve ser levada em consideração. O AR refere-se à soma do amido e de seus produtos de degradação que não são digeridos e absorvidos no intestino delgado de indivíduos sadios, sendo fermentados por bactérias no intestino grosso (Lobo e Silva, 2003). Dessa maneira, o AR apresenta comportamento similar ao da fibra alimentar fermentável e tem sido relacionada com efeitos benéficos locais e sistêmicos (Muir e O'dea, 1992). Como substrato importante para a microbiota gastrointestinal, o AR tem sido estudado para modular a microbiota pelo aumento de populações de bactérias amilolíticas e microrganismos produtores de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC; ácidos acético, propiônico e butírico) (Kovatcheva-Datchary et al., 2009).

O amido resistente pode ser classificado em cinco tipos: tipo 1 é fisicamente inacessível e ocorre em grãos, por exemplo; tipo 2 é caracterizado por grânulos de amido cru, como na batata ou banana; tipo 3 é formado após a retrogradação do amido após tratamento térmico, como ocorre com batata cozida após resfriar; tipo 4 é produzido através de modificações químicas no amido; e o tipo 5 é a complexação amilose-lipídeo, que pode ocorrer em ingredientes com amilose (Raigond et al., 2015).

Apesar de sua natureza carnívora, gatos digerem e absorvem carboidratos de forma adequada, variando a digestibilidade aparente em função da fonte e do processamento (Morris et al., 1977). Como adaptações anatômicas de um carnívoro, possuem intestino delgado curto, ceco rudimentar e cólon bastante reduzido (Sunvold et al., 1995).

Poucos estudos avaliaram o uso de diferentes fontes de carboidrato e seus impactos sobre o metabolismo e respostas sistêmicas de gatos, sendo os primeiros conduzidos por Kienzle (1993; 1994a). Kienzle (1994b) não observou mudanças na glicemia pós-prandial de gatos após inclusão de diferentes fontes de amido (batata ou milho crus e milho cozido) nas dietas. De-Oliveira et al. (2008) avaliaram seis fontes de carboidrato (farinha de mandioca, quirera de arroz, milho, sorgo, ervilha e lentilha) em alimentos extrusados sobre a digestibilidade e respostas pós-prandiais de glicose e insulina. A dieta à base de sorgo apresentou menor digestibilidade da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), amido e energia bruta (EB) em comparação com a dieta à base de quirera de arroz. No entanto, apesar de menor, a digestibilidade do amido do sorgo foi elevada (93,9%), não caracterizando um fator negativo. Apesar da dieta à base de sorgo ter produzido fezes com menor MS (maior umidade) em comparação com quirera de arroz, não houve diferença no escore, pH e produção de fezes. Com relação à resposta pós-prandial, as concentrações médias e máximas e a área abaixo da curva de glicose foram menores para a dieta a base de sorgo em comparação com a à base de milho. Fato interessante é que os estudos de Kienzle (1994b) e De-Oliveira et al. (2008) sugerem que carboidratos possuem menor efeito na resposta pós-prandial de glicose e insulina em gatos do que os verificados para cães ou seres humanos. Mesmo assim, outros fatores fisiológicos não avaliados podem estar em envolvidos, pois ao avaliar o fornecimento *ad libitum* de dieta a base de arroz para gatos com sobrepeso e resistência insulínica resultou em maior consumo energético e ganho de peso, quando comparado com a dieta a base de milho-sorgo (Appleton et al., 2004).

Além disso, o AR tem sido considerado um potencial prebiótico. Dentre seus efeitos positivos na saúde do cólon estão o aumento da taxa de produção das células da cripta e redução da atrofia do epitélio do cólon em comparação com dieta sem adição de fibra (Sajilata et al., 2006), favorecimento da vasodilatação, aumento da absorção de água e eletrólitos, prevenção de colite ulcerativa, diminuição do risco de câncer de cólon, redução da constipação, inibição da síntese de colesterol e melhor controle do diabetes, devido ao baixo índice glicêmico (Polesi, 2011). Os efeitos de carboidratos fermentáveis, como o AR, sobre a microbiota intestinal são um dos pontos de grande relevância atualmente em estudos nutricionais (Barry et al., 2012;

Hang et al., 2012). Todavia, o tipo de amido resistente pode influenciar a resposta, afetando a produção de AGCC (Martínez et al., 2010).

Mais de 90% dos alimentos industrializados para felinos produzidos no mundo correspondem a produtos secos extrusados. Estes, para adquirirem características importantes de processamento e formatação, como dureza e crocância adequados à palatabilidade e comportamento alimentar dos gatos, incluem determinada quantidade de amido em sua composição (Hullar et al., 2001; Spears e Fahey, 2004; De Groot e Schrijver, 2008). Portanto, explorar a presença deste amido tanto em relação à sua contribuição ao processo de extrusão em si como suas implicações metabólicas e nutricionais aos gatos torna-se relevante.

2.3 Microbiota intestinal

A microbiota gastrointestinal consiste em uma combinação complexa de microrganismos como bactérias, archea, fungos, protozoários e vírus, com uma população estimada de 10^{10} a 10^{14} microrganismos, cerca de 10 vezes mais o número de células do hospedeiro (Suchodolski, 2011). A microbiota comensal é benéfica para o hospedeiro de diversas formas: pode impedir a colonização por patógenos, auxiliar no processo digestivo e fornecer energia para o hospedeiro, além de auxiliar o desenvolvimento e servir como estímulo constante para o sistema imune (Minamoto et al., 2012). O desenvolvimento de técnicas moleculares tem permitido maior conhecimento da estrutura do microbioma (Bermingham et al., 2013; Hooda et al., 2013). Entretanto, as diferentes metodologias apresentam vantagens e desvantagens, com diferentes sensibilidades e especificidades para os diferentes grupos (Minamoto et al., 2012), devendo-se levar este fator em consideração quando da comparação de diferentes estudos.

O trato gastrointestinal de neonatos é estéril, mas imediatamente após o nascimento inicia-se a colonização (Round e Mazmanian, 2009). Desde o desenvolvimento das técnicas moleculares, diversos trabalhos avaliaram o impacto da dieta sobre a microbiota de gatos filhotes, principalmente testando diferentes relações proteína:carboidrato em rações secas (Vester et al., 2009; Jia et al., 2011; Hooda et al., 2013; Deusch et al., 2014) ou comparando alimento seco com úmido (Young et al., 2016; Bermingham et al., 2018). Da mesma forma, diferentes relações

proteína:carboidrato foram avaliadas em gatos adultos com alimentos comerciais (Lubbs et al., 2009) ou dieta à base de aves cruas em comparação com alimento comercial seco (Kerr et al., 2014). Alterações decorrentes da idade foram descritas por Patil et al. (2000), que observaram redução de bifidobactérias em gatos idosos em comparação com gatos mais jovens.

Em estudo que comparou os efeitos de diferentes combinações de alimento comercial, seco ou úmido, em diferentes fases da vida, pré- e pós-desmame, sobre a microbiota fecal de gatos, Bermingham et al. (2018) identificaram diferenças associadas à dieta, à idade e interações dieta x idade. As dietas apresentavam composição de macronutrientes diferente, sendo que o alimento seco apresentava teores moderados (proteína:gordura:carboidrato 35:20:30%, MS) e o alimento úmido altas proteína e gordura e baixo carboidrato (proteína:gordura:carboidrato 45:37:2%, MS).

Apesar da diversidade de trabalhos avaliando a microbiota, a interpretação dos resultados apresenta limitações em função das dietas estudadas terem grande variação nos ingredientes utilizados e na composição química. Desta forma, a variação muitas vezes pode estar relacionada a diversos fatores que não são considerados. Não foi encontrada informação na literatura científica sobre como fontes de carboidrato sob diferentes processamentos podem influenciar estas populações. A combinação das mudanças na composição microbiana com dados sobre as dietas e efeitos fisiológicos (digestibilidade e produção de metabólitos, por exemplo) é necessária para compreender as consequências das alterações nas populações microbianas em uma nutrição ótima para cães e gatos (Deng e Swanson, 2015).

2.4 Produtos do metabolismo bacteriano

Fibras são compostos não digestíveis pelas secreções e enzimas do trato gastrointestinal que chegam ao intestino grosso e são fermentadas pela microbiota, gerando como principal produto AGCC (Roy et al., 2006; den Besten et al., 2013). São rapidamente absorvidos pelos colonócitos, sendo que cerca de 5% são excretados nas fezes (Ruppin et al., 1980; Topping e Clifton, 2001). A quantidade e o tipo de fibra consumidos impactarão na composição da microbiota e consequentemente no tipo de ácido graxo de cadeia curta produzido (den Besten et al., 2013).

Os AGCC são promotores da saúde intestinal e integridade, principalmente o butirato, que é a principal fonte de energia para os colonócitos (Suzuki et al., 2008). Além de servirem como energia, os AGCC participam de funções como regulação da motilidade e circulação sanguínea do cólon e do pH do trato gastrointestinal (Tazoe et al., 2008). Em humanos, enfermidades como alergias (Böttcher et al., 2000) e doença inflamatória intestinal (Marchesi et al., 2007) foram relacionadas a concentrações reduzidas de AGCC nas fezes.

O lactato é outro produto da fermentação bacteriana que serve normalmente como intermediário no metabolismo microbiano, podendo ser convertido a acetato ou butirato (Duncan et al., 2004). Esta conversão previne o acúmulo de lactato e a acidificação excessiva, estabilizando o pH intestinal (Koh et al., 2016), motivo pelo qual sua concentração normalmente é mais baixa em comparação com os AGCC (Flint et al., 2012).

A amônia é um composto tóxico que lesa as células e reduz a altura das vilosidades (Nousiainen, 1991), podendo promover tumorigênese (Lin e Visek, 1991). A falta de carboidratos fermentáveis no intestino grosso pode aumentar a fermentação proteolítica, o que aumenta a produção de amônia (Russell et al., 1983). Conlon et al. (2012) observaram correlação inversa entre o pH intestinal e a concentração de amônia. A inclusão de amido resistente na dieta de ratos que consumiam alta proteína reduziu a amônia das fezes (Winter et al., 2011), evidenciando a importância de substrato para a microbiota para minimizar potenciais efeitos deletérios.

Menos estudadas, mas igualmente importantes, aminas biogênicas são produtos da degradação de aminoácidos pela microbiota intestinal (Rooks e Garrett, 2016). As poliaminas espermina, espermidina e putrescina são importantes para a manutenção da taxa de proliferação celular e melhora na integridade da barreira celular do epitélio intestinal (Timmons et al., 2014; Rogers et al., 2015), além de poderem apresentar efeito antinflamatório (Minois et al., 2011). Dependendo do receptor ativado, a histamina pode ter efeito pró ou antinflamatório (Frei et al., 2013; Smolinska et al., 2014).

As aminas biogênicas também são essenciais para o crescimento e multiplicação bacterianos, sendo produzidas e excretadas em concentrações muito maiores que nas células de eucariotos (Shah e Swiatlo, 2008). Putrescina, cadaverina,

espermidina e espermina são as principais aminas encontradas nas bactérias (Michael, 2018). Polissacarídeos não digestíveis chegam ao intestino grosso, são fermentados e reduzem o pH, o que pode modificar o metabolismo e a composição microbiana, e estimular a síntese de aminas biogênicas (Noack et al., 1998). A influência da produção e degradação de aminas biogênicas no hospedeiro é pouco estudada.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado em parceria com o Prof. Dr. Sajid H. Alavi, do Departamento de Ciências de Grãos da Universidade Estadual do Kansas, EUA, com financiamento de pesquisa obtido junto ao *Sorghum Checkoff Program*. As dietas foram produzidas no Laboratório de Extrusão da Universidade Estadual do Kansas, e o estudo com animais foi realizado no Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos, FCAV/Unesp.

Todos os procedimentos com animais seguiram os princípios éticos adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, sendo que o estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, São Paulo, Brasil (processo número 011491/17).

3.1 Dietas

O estudo das variedades de sorgo branco e sorgo vermelho incluiu o efeito de moagem, com três níveis dentro de cada variedade (moagem fina, média e grossa), resultando em seis dietas teste. Estas foram comparadas junto a duas dietas controle, à base de arroz integral ou milho, que foram avaliadas em apenas um nível de moagem (média), totalizando oito dietas completas e balanceadas com composição química semelhante.

Foi objetivo comparar as fontes de carboidrato em dietas com composição química semelhante. Para isto, foram adquiridas no mercado americano amostras de arroz integral, milho, sorgo branco, sorgo vermelho, polpa de beterraba, farelo de glúten de milho e farinha de vísceras de aves, as quais foram analisadas quanto à

matéria seca (MS), matéria mineral (cinzas), proteína bruta (PB), extrato etéreo por hidrólise ácida (EEHA) e fibra dietética total (FDT), de acordo com AOAC (2012). Com base nos resultados (Tabela 1), quatro dietas foram balanceadas para apresentar composição nutricional semelhante, segundo as recomendações da AAFCO (2016) para manutenção de gatos (Tabela 2). Adquiridas as matérias primas, estas foram misturadas e moídas em moinho de martelos (Fitzmill, Modelo Das06, Fitzpatrick, Elmhurst, IL, EUA). As formulações com sorgo branco e sorgo vermelho foram moídas em peneiras com crivos de 0,8 mm, 1,0 mm e 1,6 mm, de modo a se obter misturas de matérias primas com três diferentes diâmetros geométricos médios. As formulações controle (arroz integral e milho) foram moídas apenas com peneira de 1,0 mm de diâmetro dos furos. Após a moagem, o tamanho geométrico médio de cada mistura farelada de dieta experimental foi determinado pelo método descrito por Zanotto e Bellaver (1996), usando conjunto de peneiras com telas de 3,36 mm, 2,37 mm, 1,70 mm, 1,18 mm, 0,85 mm, 0,60 mm, 0,43 mm, 0,30 mm, 0,21 mm, 0,15 mm, 0,11 mm, 0,08 mm, 0,05 mm e o fundo. Os valores finais foram calculados com o software Granocalc (Embrapa-CNPSA, Concórdia, Brasil). As rações foram produzidas no Laboratório de Extrusão do Departamento de Ciências de Grãos da Universidade Estadual do Kansas. Foi utilizada uma extrusora de rosca simples (X-20, Wenger Manufacturing, Sabetha, KS, EUA) equipada com uma matriz circular com abertura de 3,85 mm de diâmetro. As condições de operação foram mantidas estáveis com taxa de alimentação de 120 kg/h de ração farelada, velocidade do cilindro do pré-condicionador de 13 rpm, velocidade das facas de corte de 3.600 rpm e velocidade de rotação da rosca extrusora de 413 rpm. Estes parâmetros foram mantidos constantes para todos os tratamentos. A composição química analisada das dietas experimentais após extrusão e recobrimento encontra-se na Tabela 3.

Tabela 1. Composição química das fontes de carboidrato empregadas na produção das rações experimentais para gatos.

Item, % na matéria seca	Arroz Integral	Milho	Sorgo vermelho	Sorgo Branco
Umidade	13,05	13,54	11,58	11,20
Proteína bruta	10,80	9,32	10,70	10,40
Extrato etéreo	5,54	4,30	3,24	3,56
Matéria mineral	1,53	1,89	1,74	1,56
Fibra dietética total	4,10	12,40	9,70	9,70

Tabela 2. Fórmulas das dietas experimentais com diferentes fontes de carboidratos para gatos.

Ingrediente, % matéria natural	Dieta			
	Arroz Integral	Milho	Sorgo Vermelho	Sorgo Branco
Sorgo vermelho	-	-	46,70	-
Sorgo branco	-	-	-	49,60
Arroz integral	38,90	-	-	-
Milho	-	46,10	-	-
Farinha de aves	36,50	36,50	36,50	36,50
Farelo de glúten de milho	3,70	4,90	3,00	2,40
Polpa de beterraba	8,90	1,30	2,40	1,90
Sal	0,50	0,50	0,50	0,50
Cloreto de potássio	0,50	0,50	0,50	0,50
Premix mineral[1]	0,15	0,15	0,15	0,15
Premix vitamínico[2]	0,25	0,25	0,25	0,25
Cloreto de colina	0,40	0,40	0,40	0,40
Taurina	0,12	0,12	0,12	0,12
Antifúngico[3]	0,10	0,10	0,10	0,10
Antioxidante[4]	0,05	0,05	0,05	0,05
Óleo de peixe	0,04	0,04	0,04	0,04
Óleo de frango	8,00	7,20	7,30	5,50
Palatabilizante líquido[5]	2,00	2,00	2,00	2,00

[1] Fornecido por kg de dieta: ferro, 100 mg; cobre, 9.25 mg; manganês, 6,25 mg; zinco, 150 mg; iodo, 1,87 mg; selênio, 0,13 mg.

[2] Fornecido por kg de dieta: vitamina A, 18.750 UI; vitamina D, 1.500 UI; vitamina C, 125 mg; vitamina K, 0,15 mg; tiamina, 5 mg; riboflavina, 16 mg; ácido pantotênico, 35,75 mg; niacina, 62,5 mg; piridoxina, 7,5 mg; cobalamina, 45 µg; ácido fólico, 0,75 mg.

[3] Myco Curb (Kemin AgriFoods North America Inc., Des Moines, IA, EUA): ácido propiônico, carbonato de sódio, hidróxido de cálcio, dióxido de silício amorfo, óleo de limão, hidróxido de amônio, ácido benzoico, ácido fosfórico, ácido sórbico, propilparabeno, metilparabeno, hidroxianisole butilado e butil hidroquinona terciária.

[4] Naturox (Kemin AgriFoods North America Inc., Des Moines, IA, EUA): dióxido de silício amorfo, ácido cítrico, tocoferóis naturais mistos, óleo vegetal e extrato de alecrim.

[5] D'TECH 10L (SPF do Brasil Ind. e Com. Ltda.).

Tabela 3. Composição química analisada, diâmetro geométrico médio da mistura farelada, densidade aparente dos *kibbles* e teores de taninos totais e amido resistente das rações para gatos com diferentes fontes de carboidratos e graus de moagem.

Item	Dietas experimentais							
	Arroz Integral	Milho	Sorgo Vermelho			Sorgo Branco		
Tamanho dos crivos da peneira (mm)	1,0	1,0	0,8	1,0	1,6	0,8	1,0	1,6
Composição química, % na matéria seca								
Matéria seca	93,9	94,5	94,1	93,5	93,2	93,7	93,6	93,5
Matéria orgânica	90,6	91,2	90,9	90,5	90,8	91,5	91,4	90,9
Amido	26,5	28,6	27,4	26,7	26,2	29,9	29,4	27,5
Proteína bruta	35,7	35,9	36,2	35,3	35,1	34,8	35,8	36,0
Extrato etéreo por hidrólise ácida	15,6	15,8	16,0	15,3	15,8	15,0	15,7	15,1
Matéria mineral	9,4	8,8	9,1	9,5	9,2	8,5	8,6	9,1
Fibra bruta	2,5	2,1	3,0	2,5	3,0	3,1	2,4	2,6
Amido resistente	0,11	0,92	0,36	1,02	2,49	0,40	1,70	2,34
Gelatinização do amido, %	78,7	81,4	86,7	76,7	70,4	85,8	77,2	72,6
Densidade aparente dos *kibbles*, g/L	403	347	348	357	370	363	347	363
DGM da mistura farelada, µm[1]	252	270	227	273	338	218	255	318
Desvio padrão geométrico médio	1,86	1,87	1,69	1,81	2,08	1,67	1,85	2,04
Taninos totais[2]	-	-		0,46			0,27	

[1] DGM: diâmetro geométrico médio.
[2] Taninos totais em mg de equivalente de Catequina/g.

3.2 Gatos e delineamento experimental

O estudo incluiu 64 gatos adultos (33 machos e 31 fêmeas), sem raça definida (SRD), saudáveis, com idade média de 3,44±0,46 anos, peso corporal inicial de 4,24±0,09 kg e escore de condição corporal de 5,6±0,16 em escala de nove pontos (Laflamme, 1997). Os gatos eram provenientes do Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos “Prof. Dr. Flávio Prada”, Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, FCAV/UNESP - Campus Jaboticabal, e foram considerados saudáveis após exames físico, hematológico e bioquímicos séricos.

O experimento seguiu delineamento em blocos casualizados com quatro blocos de 16 gatos cada. Em cada bloco, dois gatos foram alimentados com cada dieta, totalizando oito repetições por dieta. O tempo foi o fator de bloco, devido à

impossibilidade de conduzir o experimento com todos os animais de uma vez. Cada bloco durou 30 dias: os dias 1 a 17 foram utilizados para adaptação às dietas; dias 18 a 20 para coleta de fezes frescas para determinação do pH, ácidos graxos voláteis, aminas biogênicas, amônia e lactato; dias 23 a 29 para coleta total de fezes para análise de digestibilidade e escore fecal; e dia 30 para coleta de fezes frescas para análise de microbiota fecal.

Durante o período de adaptação, das 16 h às 8 h, os gatos ficaram restritos às gaiolas metabólicas individuais em aço inoxidável (0,80 m x 0,80 m x 1,0 m), com acesso às dietas experimentais e água. Das 8 h às 16 h, os gatos foram mantidos em gatil coletivo de 50 m^2 para exercícios e socialização, onde tinham acesso à água, mas não aos alimentos. Durante os períodos de coleta fecal, os gatos ficaram restritos em suas gaiolas em período integral. A quantidade diária de alimento foi definida individualmente, de acordo com as necessidades energéticas para manutenção de gatos adultos (100 kcal/$kg^{0,67}$/dia; NRC, 2006). O conteúdo de energia metabolizável dos alimentos foi estimado a partir de sua composição química (NRC, 2006). Diariamente, os alimentos eram pesados e oferecidos às 16 h, e deixados disponíveis até às 8 h, quando sobras eram recolhidas, pesadas e o consumo registrado. A água foi fornecida *ad libitum*.

3.3 Digestibilidade dos nutrientes e análises químicas dos alimentos e fezes

O teste de digestibilidade foi realizado pelo método de coleta total de fezes, segundo as recomendações da AAFCO (2016). Após a adaptação às dietas, foi realizada coleta quantitativa de fezes durante sete dias consecutivos. As amostras fecais foram pesadas e congeladas (-20°C) à medida em que foram coletadas, sendo armazenadas em embalagens individuais por animal. No final do período de coleta, as fezes foram descongeladas, homogeneizadas e secas em estufa de ar forçado a 55 °C por 72 h (Fanem, São Paulo, Brasil). Fezes secas e rações foram moídas em moinho de facas (MOD 340, ART LAB, São Paulo, Brasil) com peneira de 1,0 mm antes das análises laboratoriais. As fezes e os alimentos foram analisados quanto à matéria seca (MS; método 934.01), extrato etéreo em hidrólise ácida (EEHA; método 954.02), teor de matéria mineral (MM, cinzas) por incineração em mufla (método 942.05) e proteína bruta (PB) em analisador de nitrogênio/proteína LECO (FP-528,

LECO Corporation, Saint Joseph, MI, EUA; método 990.03). A matéria orgânica (MO) foi calculada como MS menos MM. O conteúdo de energia bruta (EB) foi determinado em bomba calorimétrica (IKA C2000 Basic, IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, BW, Alemanha). As dietas também foram analisadas com relação ao teor de amido resistente, utilizando-se kit comercial (K-RSTAR, Megazyme, Wicklow, Irlanda) recomendado pela AOAC (2002), e quanto à gelatinização do amido, utilizando o método da amiloglicosidase (Hoseney, 1994) com modificações de Sá et al. (2013). Foi realizado um *pool* das formulações com diferentes granulometrias de sorgo branco e outro *pool* de sorgo vermelho, que foram analisados quanto aos teores de taninos totais no Laboratório de Nutrição Experimental, Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa, segundo Price et al. (1978). Todas as amostras foram analisadas em duplicata e repetidas quando a variação entre as replicatas foi maior do que 5%.

Durante o ensaio de digestibilidade, as fezes foram classificadas de acordo com Carciofi et al. (2008): 0 = fezes líquidas; 1 = fezes moles e não formadas; 2 = fezes moles e mal formadas, que assumem a forma do recipiente; 3 = fezes formadas, amolecidas e úmidas, que mantêm a forma; 4 = fezes bem formadas e consistentes, que não aderem ao chão; 5 = fezes secas e duras, com volume reduzido. Os escores 3 e 4 são considerados adequados.

3.4 pH e produtos da fermentação nas fezes

Amostras de fezes frescas (coletadas e processadas dentro de 15 min após a defecação) foram utilizadas para medir o pH e os produtos de fermentação. Para isto, os animais foram continuamente monitorados até obtenção das amostras de fezes. O pH foi determinado utilizando-se 2 g de fezes diluídas em 6 mL de água deionizada, sendo o resultado obtido com pHmetro com precisão de 0,01 (DM20, Digimed Analítica, São Paulo, SP, Brasil). Para a determinação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e ácidos graxos de cadeia ramificada (AGCR), 10 g de fezes foram misturadas em 30 mL de solução de ácido fórmico a 4,2 N (1:3 p/v) e precipitadas a 4 °C por 72 h, e o sobrenadante centrifugado três vezes (5.000 g a 4 °C por 15 min). As análises foram realizadas por cromatografia gasosa (GC-2014, Shimadzu

Corporation, Kyoto, OP, Japão), seguindo os procedimentos descritos por Erwin et al. (1961).

A amônia das fezes foi dosada nos extratos preparados para AGCC utilizando o método sugerido por Fenner (1965), com modificações de Vieira (1980). Os extratos foram descongelados em temperatura ambiente, diluídos com água ultrapura (2:13 v/v) e a amônia foi destilada em sistema para análise de nitrogênio (Tecnal TE-036/1, Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil).

Para a determinação de ácido lático, foram utilizados cerca de 3 g de fezes frescas, rapidamente homogeneizadas e misturadas com 9 mL de água destilada (w/v). Esta mistura foi mantida sob refrigeração (4 °C) por um dia, sendo, então, centrifugada por três vezes a 4.500 *g* à 15°C por 15 min. Foi aproveitado o sobrenadante e desprezado o sedimento. O ácido lático foi analisado de acordo com Pryce (1969) pelo método espectrofotométrico com leitura a 565nm (500 a 570nm). Foi utilizado branco reagente para calibrar o espectrofotômetro (QUICK-Lab, DRAKE, São José do Rio Preto, Brasil). As amostras foram quantificadas comparando-as com padrão de ácido lático a 0,08%.

A concentração de aminas nas fezes foi analisada no Laboratório de Bioquímica de Alimentos, Departamento de Alimentos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais. Para tal, 5 g de fezes frescas foram homogeneizados e misturados a 7 mL (5:7 p/v) de ácido tricloroacético (TCA) a 5%, agitados por 3 min em vórtex e centrifugadas a 10.000 *g* durante 20 min à 4 ºC (Centrífuga Modelo RC 5C plus, Sorvall Products, Newtown, CT, EUA). O sobrenadante foi filtrado em papel de filtro qualitativo e o resíduo extraído por mais duas vezes, empregando-se respectivamente volumes de 7 mL e 6 mL de TCA, sendo os sobrenadantes filtrados e combinados, e anotado o volume final obtido. Utilizou-se o método de cromatografia líquida de alta performance (HPLC, Shimadzu modelo LC-10AD, Kyoto, Japão) por par iônico, derivação pós-coluna com o-ftalaldeido e detecção fluorimétrica, de acordo com Vale e Gloria (1997).

3.5 Teste de palatabilidade das dietas

Comparações de preferências alimentares foram realizadas no Centro de Mensuração da Palatabilidade, Panelis (Descalvado, São Paulo, Brasil), utilizando um

painel de gatos qualificados. Foram realizados sete testes de preferência. Para comparação das fontes de carboidratos, empregou-se as rações com moagem em peneira de 1,0 mm, tendo sido conduzidos os seguintes desafios: arroz *vs*. sorgo branco, arroz *vs.* sorgo vermelho, milho *vs.* sorgo branco, milho *vs.* sorgo vermelho e sorgo branco *vs*. sorgo vermelho. Para efeito da moagem dentro das fontes de carboidrato, foram comparados sorgo vermelho moído 0,8 mm *vs*. sorgo vermelho 1,6 mm e sorgo branco 0,8 mm *vs*. sorgo branco 1.6mm.

A primeira escolha (primeiro produto consumido) e o produto preferido (produto consumido em maior quantidade) foram determinados pelo método de duas tigelas (Griffin, 2003). Foram utilizados 40 gatos adultos SRD, alojados individualmente, sendo o teste realizado em duas refeições consecutivas. Pela manhã, após 12 h de jejum, os gatos receberam a primeira refeição em duas tigelas, cada uma contendo uma das dietas experimentais, e foram possibilitados a comer por 30 min. A posição das tigelas foi alterada na refeição seguinte para evitar lateralização. A quantidade oferecida de alimento em cada tigela ultrapassou a capacidade de consumo do animal para garantir que houvesse sobras para medir. Após 30 min, as tigelas foram removidas, as sobras pesadas e o consumo calculado considerando a diferença na quantidade oferecida e na quantidade restante. Devido às diferenças no peso corporal, os resultados foram calculados como o consumo relativo de cada dieta.

3.6 Extração de DNA fecal, amplificação e sequenciamento

No dia 30, amostras fecais foram coletadas de cada gato dentro de 15 min após a defecação. Para isto, os animais foram continuamente monitorados, até a obtenção das amostras de fezes. Assim que obtidas, estas foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80 °C até a análise. O DNA total foi extraído com o kit ZR Fungal/Bacterial DNA MicroPrep (D6007 - Zymo Research, Irvine, CA, EUA), de acordo com as instruções do fabricante.

As reações de amplificação da região 16S foram feitas com um volume final de 20 µl, contendo 10 µl de GoTaq Colorless Master Mix 2x (Promega, Madison, WI, EUA), 0,3 µM de oligonucleotídeo *forward* e 0,3 µM de oligonucleotídeo *reverse*, 1 µl de DNA genômico, e água ultrapura estéril suficiente para completar 20 µL. O programa de amplificação consistiu em desnaturação inicial a 94 °C por 3 min, seguida

de 29 ciclos de desnaturação a 94 °C por 45 s, anelamento a 50 °C por 60 s, extensão a 72 °C por 90 s e uma extensão final a 72 °C por 10 min. As reações de amplificação foram conduzidas no termociclador Veriti Thermal Cycler (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA). Para a amplificação foram utilizados os *primers* descritos por Caporaso et al. (2011). A reação de amplificação foi comprovada através de eletroforese em gel de agarose a 2% corado com GelRed (Uniscience, Osasco, SP, Brasil). O tamanho do fragmento amplificado foi de aproximadamente 300 pares de bases (pb).

As reações em cadeia da polimerase (PCRs) foram submetidas a etapas de purificação usando esferas magnéticas Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, Brea, CA, EUA), para remover fragmentos muito pequenos da população total de moléculas e resíduos de oligonucleotídeos. Posteriormente, a quantificação foi realizada pela metodologia de PCR quantitativa em Tempo Real, utilizando termociclador QuantStudio 3 Real Time (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) e Kit KAPA-KK4824 (Library Quantification Kit - Illumina/Universal, San Diego, CA, EUA), de acordo com as instruções dos fabricantes. Para a realização do sequenciamento, gerou-se um *pool* equimolar de DNA, através da normalização de todas as amostras a 2 nM, e utilizou-se o sistema IlluminaTM MiSeq de sequenciamento de nova geração e MiSeq Reagent Kit V2 300 ciclos (Illumina, San Diego, CA, EUA) e duas leituras de 150 pb. Estas análises, a partir da extração do DNA, foram conduzidas no laboratório BPI (Biotecnologia, Pesquisa e Inovação, Botucatu, SP, Brasil).

Para a interpretação dos resultados de microbioma de fezes, os dados foram compartilhados com o *Gastrointestinal Laboratory*, da Texas A&M University – EUA, e as análises realizadas sob supervisão do Prof. Jan Suchodolski. As sequências foram processadas e analisadas usando o Quantitative Insights Into Microbial Ecology 2 (QIIME 2) (Bolyen et al., 2019), pipeline v 2018.6. Resumidamente, as sequências foram demultiplexadas e a tabela da unidade taxonômica operacional (UTO) foi criada usando o DADA2 (Callahan et al., 2016). As UTOs foram definidas como sequências com pelo menos 97% de similaridade com o banco de dados Greengenes v 13.8 (DeSantis et al., 2006). Antes da análise *downstream*, as sequências designadas como cloroplasto, mitocôndrias e UTOs de baixa abundância, contendo menos de

0,01% do total de leituras no conjunto de dados, foram removidas. Todas as amostras foram equilibradas para a profundidade de sequenciamento, com base na profundidade de leitura mais baixa, para 20.923 sequências por amostra.

3.7 Procedimentos de cálculo e análise estatística

Para o ensaio com os gatos, previamente à análise estatística, foram avaliadas as hipóteses de normalidade dos erros pelo teste Cramér-von Mises e a homocedasticidade da variância pelo teste de Levene. O experimento seguiu delineamento em blocos casualizados, com quatro blocos de 16 gatos, dois gatos por dieta em cada bloco, totalizando oito repetições (gatos) por dieta. A unidade experimental foi considerada um gato. Os dados foram analisados por análise de variância utilizando o procedimento *mixed* do *software* SAS (versão 9, SAS Inst. Inc., Cary, NC, EUA). No modelo, a soma dos quadrados foi separada nos efeitos de dieta, blocos e animais. Quando foram detectadas diferenças no teste F, comparações de médias foram realizadas usando o teste de Tukey. A variável escore fecal foi analisada pelo teste de Kruskal-Wallis e Dunn. Os dados de palatabilidade foram comparados usando o teste qui-quadrado. Valores de $P < 0,05$ foram considerados significativos.

A diversidade alfa foi medida com as métricas Chao1 (riqueza), diversidade de Shannon e UTOs observadas. A diversidade beta foi avaliada com a métrica de distância UniFrac baseada em filogenia ponderada (Lozupone et al., 2005) e visualizada usando gráficos de análise de coordenadas principais (PCoA).

O teste ANOSIM (*Analysis of Similarity*) no pacote de software PRIMER 6 (Primer-E Ltd., Luton, BFD, Reino Unido) foi utilizado para analisar diferenças significativas nas comunidades microbianas entre os grupos. Todos os conjuntos de dados foram testados quanto à normalidade usando o teste Shapiro-Wilk (JMP Pro 11, SAS Inc., Cary, NC, EUA). Os testes de Kruskal-Wallis, Wilcoxon ou Friedman foram realizados (JMP Pro 11, SAS Inc. ou Prism v.8.2.1, Graphpad Software Inc., San Diego, CA, EUA) e ajustado para comparação múltipla usando a taxa de descoberta falsa (FDR, *False Discovery Rate*) de Benjamini e Hochberg (Benjamini et al., 1995) em cada nível taxonômico e um valor de $P<0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. O teste *post hoc* de Dunn para comparação múltipla foi usado para determinar as diferenças entre os grupos nos táxons bacterianos. O

tamanho do efeito da análise discriminante linear (*Linear discriminant analysis Effect Size* – LEfSe) foi utilizado para identificar os táxons bacterianos associados com os diferentes tratamentos. LEfSe foi utilizado online na estrutura de fluxo de trabalho Galaxy.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Produção e composição nutricional dos ingredientes e das dietas

De maneira geral, a composição química das fontes de carboidrato foi próxima, com pequenas diferenças (Tabela 1). O arroz integral foi o cereal mais proteico, com maior extrato etéreo e menor fibra dietética total. O milho apresentou o menor valor de proteína bruta e o maior teor de fibra dietética total. As variedades de sorgo branco e vermelho apresentaram composição similar entre si, com valores de proteína bruta e fibra alimentar intermediários e menor extrato etéreo. Em função destas diferenças, ajustes foram realizados na formulação com diferentes inclusões das fontes de carboidrato, do farelo de glúten de milho para ajuste da proteína e principalmente da polpa de beterraba, cuja inclusão variou de 1,3% a 8,9% para ajuste da fibra alimentar (Tabela 2). Estas alterações foram necessárias pois foi objetivo do presente estudo comparar as diferentes fontes de carboidrato em dietas completas e balanceadas de composição química similar. Os ajustes na formulação foram efetivos, como verificado pela composição química das dietas experimentais, que apresentaram composições químicas similares (Tabela 3). Os teores de taninos das formulações com sorgo foram baixos, dentro da classificação de Xiong et al. (2019).

Em função das diferenças nas moagens, o DGM das misturas fareladas variou elevando-se em aproximadamente 100 μm dentro de cada variedade de sorgo. Isto influiu na gelatinização do amido, que se reduziu aproximadamente 15 pontos percentuais com a elevação do DGM da matéria prima. Esta relação entre o DGM da matéria prima e a gelatinização do amido já havia sido observada (Bazolli et al., 2015). A associação entre menor gelatinização do amido e maior DGM originou nas dietas maior proporção de amido resistente, que se elevou de 0,36% para 2,49% na dieta com sorgo vermelho e de 0,40% para 2,34% para sorgo branco. De forma

interessante, a dieta controle milho apresentou valor mais elevado de amido resistente que a dieta controle arroz integral, diferença que pode ser decorrente, dentre outras características próprias dos amidos destes cereais, ao maior DGM observado para a mistura farelada da dieta milho.

4.2 Palatabilidade, ingestão de nutrientes e digestibilidade das dietas

Nos testes de palatabilidade, as dietas à base de sorgo vermelho e branco apresentaram maior consumo quando comparadas às dietas à base de milho (Figuras 1 e 2) ou arroz integral (Figuras 3 e 4) ($P < 0,05$). Este é um resultado positivo já que, geralmente, questões de palatabilidade são atribuídas ao sorgo devido ao seu teor de taninos (Arapitsas, 2012). No presente estudo, os dados sugerem maior preferência por gatos pelas dietas extrusadas à base de sorgo, demonstrando que as variedades modernas de sorgo, muito baixas em taninos, são palatáveis e prontamente consumidas quando adicionadas em formulações balanceadas para gatos. Nenhuma exigência especial com relação às tecnologias de palatabilidade foi identificada, e o uso da quantidade de palatabilizante recomendada pelo fabricante comercial foi suficiente não apenas para os gatos consumirem as dietas, mas preferindo as dietas baseadas em sorgos branco ou vermelho do que as baseadas em milho ou arroz integral, cereais mais tradicionais nos alimentos comerciais de cães e gatos. Um estudo recente com cães também demonstrou aceitação semelhante entre dietas com sorgo ou suas frações em comparação com uma dieta controle à base de trigo, arroz e milho como fontes de carboidrato (Di Donfrancesco et al., 2018).

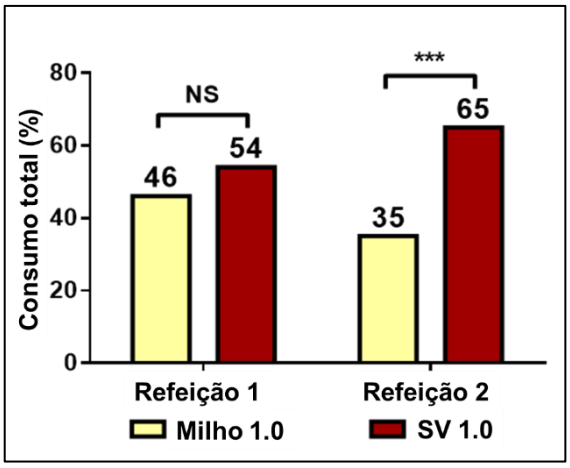


Figura 1. Proporção de ingestão total entre dietas à base de milho (1,0 mm) ou sorgo vermelho (SV, 1,0 mm) por gatos. NS = não significativo; *** P <0,01.

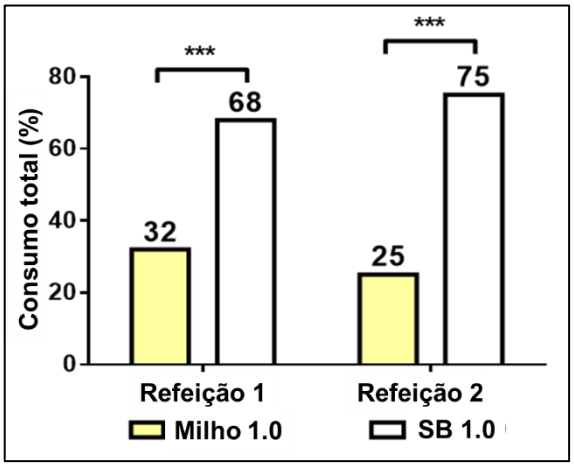


Figura 2. Proporção de ingestão total entre dietas à base de milho (1,0 mm) ou sorgo branco (SB, 1,0 mm) por gatos. *** P <0,01.

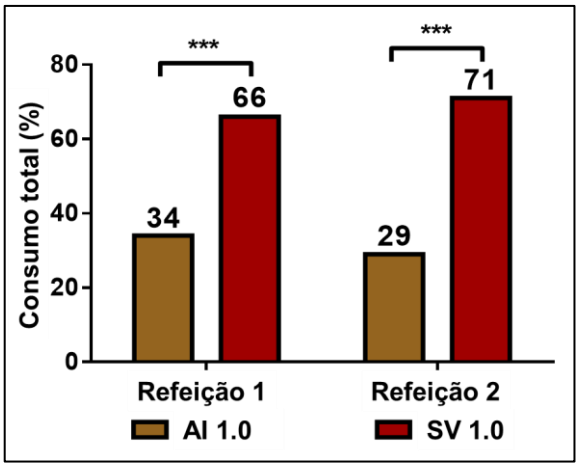


Figura 3. Proporção de ingestão total entre dietas à base de arroz integral (AI, 1,0 mm) ou sorgo vermelho (SV, 1,0 mm) por gatos. *** P <0,01.

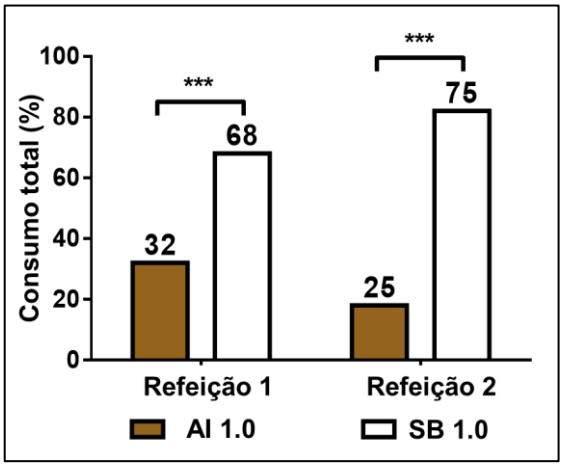


Figura 4. Proporção de ingestão total entre dietas à base de arroz integral (AI, 1,0 mm) ou sorgo branco (SB, 1,0 mm) por gatos. *** P <0,01.

Comparando as duas variedades de sorgo, a dieta à base de sorgo branco (1,0 mm) apresentou maior consumo do que a dieta à base de sorgo vermelho (1,0 mm), efeito consistente nas duas refeições avaliadas (Figura 5, P <0,05). Apesar da baixa concentração de taninos totais nas dietas à base de sorgo, o menor valor na variedade branca em comparação com a vermelha (0,27 *vs*. 0,46 mg de equivalente de Catequina/g, respectivamente) pode ser uma das possíveis explicações para sua melhor palatabilidade. Esta característica poderia ser explorada em dietas

coadjuvantes, principalmente em condições que sabidamente cursam com alterações no apetite, justificando mais estudos para avaliar este potencial.

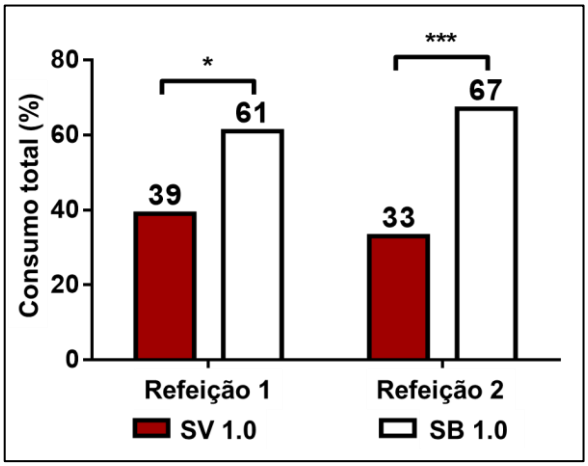


Figura 5. Proporção de ingestão total entre dietas à base de sorgo vermelho (SV, 1,0 mm) ou sorgo branco (SB, 1,0 mm) por gatos. * P <0,05. *** P <0,01.

Na comparação das variedades de sorgo em diferentes moagens, a dieta à base de sorgo vermelho moído grosseiramente (1,6 mm) foi mais consumida pelos gatos do que a mesma variedade moída finamente (0,8 mm) (Figura 6) (P <0,01). Entretanto, o tamanho das partículas da matéria-prima não teve efeito sobre a ingestão das dietas à base de sorgo branco em moagem fina (0,8 mm) ou grossa (1,6 mm) (P> 0,05) (Figura 7). A interpretação destes resultados é complexa tendo em vista que os diferentes tamanhos de partícula obtidos afetaram a gelatinização do amido, que por sua vez influenciou a densidade dos *kibbles*. Sabe-se que a palatabilidade é influenciada por fatores como aparência, temperatura, tamanho e textura do alimento, assim como experiências anteriores (Aldrich e Koppel, 2015), e provavelmente uma combinação destes fatores levou a esta diferença entre as variedades estudadas.

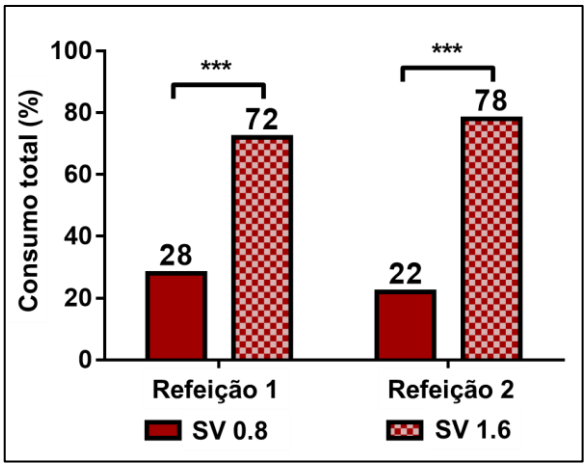


Figura 6. Proporção da ingestão total entre dietas à base de sorgo vermelho (SV) moído com peneiras de 0,8 mm ou 1,6 mm por gatos. *** P <0,01.

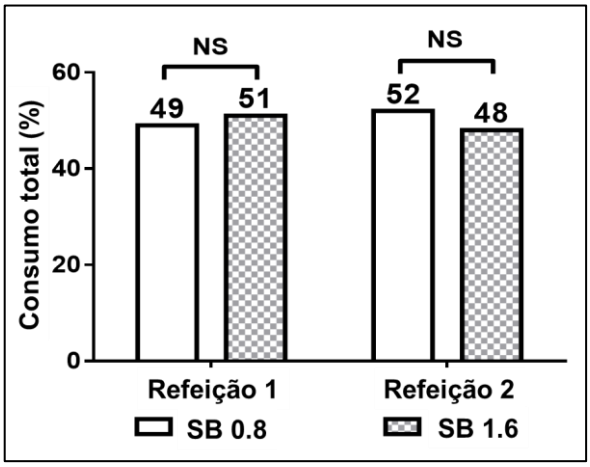


Figura 7. Proporção da ingestão total entre dietas à base de sorgo branco (SB) moído em peneiras de 0,8 mm ou 1,6 mm por gatos. NS = não significativo.

Estes resultados de palatabilidade são relevantes para a utilização do sorgo em alimentos para gatos. Foi possível verificar não apenas a preferência dos sorgos branco e vermelho sobre o arroz integral e o milho, mas também que o sorgo branco é mais palatável que o sorgo vermelho, não sendo necessária uma moagem diferenciada. A redução do tamanho de partícula é um custo importante na indústria de alimentação animal (Amerah et al., 2007) e, como as partículas maiores podem ser igualmente ou até mais palatáveis do que os alimentos preparados com sorgo moído finamente, a indústria não precisaria dar atenção especial para a moagem ou minimizar custos para a produção de alimentos. Outro fato a ser considerado é que a

gordura foi adicionada por cobertura em diferentes quantidades para que os tratamentos apresentassem valores semelhantes. Desta forma, as dietas à base de sorgo apresentaram menor adição, o que corrobora a melhor palatabilidade de ambas as variedades deste ingrediente.

Os gatos ingeriram prontamente as dietas e mantiveram o peso corporal, com pesos inicial (4,24±0,05kg) e final (4,23±0,06kg) semelhantes (P=0,785). Não foram observados episódios de rejeição da dieta ou consumo reduzido, bem como episódios de vômito ou diarreia. A ingestão diária para manter o peso corporal constante (dados não demonstrados) também não diferiu entre as dietas (P=0,844). A ingestão de nutrientes durante o teste de digestibilidade e a digestibilidade total aparente dos nutrientes também não diferiram entre as dietas, com exceção da ingestão de amido resistente (P<0,0001) (Tabela 4). Como esperado, o maior consumo de amido resistente ocorreu nas dietas à base de sorgo com maior granulometria, enquanto as dietas com menor granulometria apresentaram o menor consumo.

O fato de apresentarem a mesma ingestão de nutrientes é uma característica importante para comparar as diferentes fontes de carboidrato, levando em consideração suas propriedades ou condições de processo, sem uma grande influência de suas composições de macronutrientes. Além disso, esse resultado é relevante já que estudos anteriores identificaram o sorgo como menos digestível que o arroz ou a quirera de arroz por cães (Twomey et al., 2002; Carciofi et al., 2008) e gatos (De-Oliveira et al., 2008). Contudo, nestes estudos o arroz ou o milho foram substituídos pelo sorgo, sem levar em consideração o teor de fibras das dietas. A simples substituição do cereal resultou em dietas mais ricas em fibras quando o sorgo foi utilizado, interferindo nos resultados da digestibilidade. No presente estudo, as matérias-primas foram analisadas quanto ao teor de fibra alimentar e a polpa de beterraba foi adicionada para que os alimentos apresentassem conteúdo semelhante de fibra. Esta abordagem é justificada pois sabe-se que a fibra reduz a digestibilidade dos nutrientes nos gatos (Fekete et al., 2004; Fischer et al., 2012; Loureiro et al., 2017), e o equilíbrio adequado da quantidade de fibra no presente estudo permitiu uma melhor comparação entre as variedades de sorgo e arroz integral e milho.

A digestibilidade da proteína (maior que 82%) e da gordura (maior que 90%) dos alimentos à base de sorgo foram altas, destacando a falta de interferência do

ingrediente na digestibilidade destes nutrientes por gatos. Houve tendência de redução da digestibilidade da matéria orgânica (P=0,055) e do amido (P= 0,063) de ambas as dietas à base de sorgo com maior granulometria. Em estudo que avaliou diferentes fontes de cereais com diferentes granulometrias em rações extrusadas para cães, Bazolli et al. (2015) observaram que a dieta à base de sorgo na menor granulometria apresentou melhor digestibilidade que as dietas com granulometrias maiores. É importante destacar que os resultados obtidos no presente estudo são de digestibilidade total aparente, o que poderia ser diferente caso fossem analisados os nutrientes através de digestibilidade ileal.

Tabela 4. Ingestão de nutrientes, digestibilidade total aparente dos nutrientes e energia metabolizável de formulações de ração para gatos com diferentes fontes de cereais e tamanhos de partículas de matérias-primas.

Item[1]	Dieta experimental								EPM[2]	Valor de P
	Arroz Integral	Milho	Sorgo vermelho			Sorgo branco				
	1,0 mm	1,0 mm	0,8 mm	1,0 mm	1,6 mm	0,8 mm	1,0 mm	1,6 mm		
Ingestão de nutriente, g/kg$^{0.67}$/d										
Ingestão de alimento, matéria natural	17,28	16,91	15,97	17,77	16,91	17,69	16,99	17,27	0,199	0,844
MS	15,66	14,8	14,78	15,48	15,46	15,54	14,79	15,08	0,234	0,969
MO	4,33	3,84	3,93	3,80	3,90	4,03	4,08	3,95	0,100	0,941
Amido	4,29	4,58	4,12	4,43	4,13	4,96	4,67	4,62	0,082	0,110
PB	5,69	5,37	5,34	5,67	5,47	5,66	5,40	5,53	0,083	0,933
EEHA	2,60	2,50	2,51	2,53	2,62	2,49	2,48	2,44	0,039	0,949
EB	83,01	77,92	80,14	84,83	84,14	83,30	77,60	80,11	1,278	0,778
Amido resistente	0,02^{d}	0,15^{c}	0,05^{d}	0,17^{c}	0,39^{a}	0,07^{d}	0,27^{b}	0,38^{a}	0,018	<,0001
Digestibilidade total aparente, %										
MS	82,60	83,93	80,49	81,77	79,59	83,37	82,94	80,76	0,441	0,151
MO	87,22	88,16	85,64	86,23	84,11	87,91	87,48	85,20	0,372	0,055
Amido	99,40	99,82	99,72	99,70	98,22	99,93	99,85	98,82	0,161	0,063
PB	84,87	84,94	83,27	83,58	83,45	84,00	84,72	82,47	0,443	0,843
EEHA	91,26	91,64	90,73	89,72	90,86	90,03	92,09	90,06	0,322	0,569
EB	87,88	88,25	86,23	87,07	84,80	88,43	87,36	85,79	0,361	0,121

[1] MS – matéria seca; MO – matéria orgânica; PB –proteína bruta; EEHA – extrato etéreo por hidrólise ácida; EB – energia bruta

[2] Erro padrão da média (n = 8 gatos por dieta).

4.3 Produção, características e produtos da fermentação fecais

A produção de fezes, tanto na matéria natural (P = 0,595) quanto na matéria seca (P = 0,298), foi semelhante entre as dietas. O escore fecal também não diferiu entre as dietas (P = 0,774) e permaneceu dentro do ideal para gatos (entre 3 e 4). Isto demonstra que os diferentes cereais e tamanhos de partículas das matérias-primas apresentaram digestibilidade semelhante e induziram a produção de quantidade semelhante de fezes (Tabela 5). Apesar dos escores fecais não diferirem e ficarem dentro da normalidade, os gatos alimentados com a dieta à base de arroz integral apresentaram fezes com maior teor de umidade do que os gatos alimentados com o milho e com as dietas à base de sorgo finamente moídas (0,8 mm) (P = 0,036), enquanto as outras dietas apresentaram resultados semelhantes. Uma possível explicação para a maior umidade das fezes após o consumo da dieta à base de arroz integral seria devido à maior inclusão de polpa de beterraba nesta formulação, uma fonte de fibra solúvel e fermentável. Estudo anterior com gatos também observou uma menor matéria seca das fezes nos gatos que receberam dieta suplementada com polpa de beterraba em comparação com as dietas controle e as suplementadas com farelo de trigo ou fibra de cana (Fischer et al., 2012). As características de solubilidade e fermentabilidade deste ingrediente podem induzir maior produção de ácidos graxos de cadeia curta pela microbiota intestinal, o que resultaria em redução do pH fecal. De fato, o pH fecal foi menor nos gatos alimentados com as dietas à base de arroz integral e à base de sorgos branco e vermelho com maior granulometria (P <0,0001; Tabela 5).

Tabela 5. Produção e características fecais de gatos alimentados com dietas formuladas com diferentes fontes de cereais e tamanhos de partículas de matérias-primas.

Item	Dieta experimental								EPM[1]	Valor de P
	Arroz Integral	Milho	Sorgo vermelho			Sorgo branco				
	1,0 mm	1,0 mm	0,8 mm	1,0 mm	1,6 mm	0,8 mm	1,0 mm	1,6 mm		
Características fecais										
g/kg$^{0.67}$/d, matéria natural	8,92	6,97	7,08	8,40	9,07	7,63	8,80	8,63	0,297	0,595
g/kg$^{0.67}$/d, matéria seca	2,90	2,54	3,05	3,0	3,41	2,77	2,72	3,12	0,086	0,298
Umidade, %	68,52^{a}	59,90^{b}	60,38^{b}	66,26^{ab}	63,79^{ab}	63,12^{ab}	63,01^{ab}	63,27^{ab}	0,688	0,036
Escore[2]	3,60	3,40	3,62	3,42	3,65	3,27	3,14	3,55	0,044	0,776
pH	5,89^{b}	6,38^{a}	6,30^{a}	6,12^{ab}	5,89^{b}	6,26^{a}	6,13^{ab}	6,08^{b}	0,029	<,0001

[1] Erro padrão da média (n = 8 gatos por dieta).

[2] Classificadas de acordo com o seguinte sistema: 0 = fezes líquidas; 1 = fezes moles e não formadas; 2 = fezes moles e mal formadas, que assumem a forma do recipiente; 3 = fezes formadas, macias, úmidas e que mantêm a forma; 4 = fezes bem formadas e consistentes, que não aderem ao chão; 5 = fezes secas e duras, com volume reduzido.

[a,b] Médias na mesma linha que não compartilham sobrescrito diferem entre si (P<0.05).

As concentrações de produtos de fermentação nas fezes de acordo com a dieta estão descritas na Tabela 6. A concentração fecal de acetato foi menor nos gatos alimentados com a dieta à base de milho do que com a dieta à base de arroz integral (P = 0,041), com valores semelhantes para as dietas à base de sorgo. Gatos alimentados com as variedades de sorgo vermelho e branco com maior tamanho de partícula apresentaram maior concentração fecal de butirato do que os gatos alimentados com a dieta à base de milho (P = 0,002). A ingestão de dietas com maior tamanho de partículas de matéria-prima (moagem mais grossa), dentro de cada variedade de sorgo, aumentou a concentração fecal de butirato (P = 0,002). Esses resultados, juntamente com a redução do pH fecal, mostram que o sorgo moído grosseiramente promove maior fermentação no cólon dos gatos, modulando o metabolismo da microbiota intestinal, com potenciais benefícios à saúde do intestino (Moreau et al., 2003). A concentração de butirato aumentou aproximadamente 52% nas fezes, sugerindo um potencial efeito prebiótico. O aumento do butirato fecal após a ingestão de sorgos branco ou vermelho grosseiramente moídos é relevante devido a suas importantes funções fisiológicas para a mucosa colônica e saúde intestinal (Moreau et al., 2003; Fuentes-Zaragoza et al., 2010; Haenen et al., 2013), justificando mais estudos. Uma limitação do presente estudo é a falta de comparação dos diferentes tamanhos de partícula nas dietas à base de arroz integral e milho, pois há evidência de aumento na produção de butirato com o consumo de dietas extrusadas à base de milho com maior tamanho de partícula por cães (Bazolli et al., 2015; Peixoto et al., 2018; Ribeiro et al., 2019).

O lactato fecal não diferiu entre as dietas (P=0,2337). Algumas bactérias utilizam o lactato e outros produtos intermediários da fermentação como substrato para a formação de ácidos graxos de cadeia curta (Macfarlane e Gibson, 1995). Quando a concentração de lactato aumenta muitas vezes, ocorre redução do pH, o que acaba limitando a multiplicação de bactérias patogênicas (Swanson et al., 2002). Em cães foi observado o aumento do lactato fecal após consumo de dieta com fruto-oligossacarídeos (Swanson et al., 2002).

A amônia fecal não diferiu entre as dietas (P=0,720). A amônia é produzida por bactérias proteolíticas e pode ser considerada um biomarcador do microambiente intestinal devido à sua toxicidade para os colonócitos e potencial carcinogênico

(Birkett et al., 1996; Blachier et al., 2007). Baseado no período de consumo das dietas pelos gatos no presente estudo, pode-se indicar que não há diferença entre os cereais avaliados quanto à formação de amônia e seus potenciais efeitos no intestino. Justifica-se a necessidade de novos estudos para avaliar o consumo de amido resistente por prazo maior e/ou em condições de maior alteração do microambiente intestinal, como processos inflamatórios, para identificar possíveis variações deste metabólito. Estudo anterior com gatos também não observou efeito após consumo de dietas suplementadas com fruto-oligossacarídeos de cadeia curta, galacto-oligossacarídeos ou a combinação de ambos (Kanakupt et al., 2011), assim como o consumo de fibra de batata também não apresentou efeito em cães (Panasevich et al., 2015). Em estudos que avaliaram o consumo de fruto-oligossacarídeos por cães e seu efeito sobre a amônia fecal, há relato tanto de aumento (Pinna et al., 2018) quanto de redução (Swanson et al., 2002).

O valerato foi o único dos ácidos graxos de cadeia ramificada que diferiu entre as dietas, sendo menor nas fezes dos gatos que consumiram dietas à base das duas variedades de sorgo em menor granulometria em comparação com a dieta à base de sorgo branco em maior granulometria (P=0,004). A fermentação de aminoácidos de cadeia ramificada é a principal forma de produção dos ácidos graxos de cadeia ramificada (Cardona et al., 2005). O papel do valerato na saúde intestinal não é bem definido, mas demonstrou-se benéfico para estimulação do epitélio intestinal em aves (Onrust et al., 2018) e em afecções inflamatórias em roedores (Liang et al., 2019). Apesar dos resultados promissores, faltam estudos para avaliar os potenciais efeitos do valerato para o intestino em gatos.

Tabela 6. Concentração de produtos de fermentação nas fezes de gatos alimentados com dietas formuladas com diferentes fontes de cereais e tamanhos de partículas de matéria-prima.

Item, mmol/kg fezes na MS	Dieta experimental								EPM[1]	Valor de P
	Arroz Integral	Milho	Sorgo vermelho			Sorgo branco				
	1,0 Mm	1,0 Mm	0,8 mm	1,0 mm	1,6 Mm	0,8 Mm	1,0 mm	1,6 Mm		
Ácido acético	331,34[a]	200,91[b]	222,83[ab]	271,11[ab]	215,82[ab]	258,16[ab]	231,58[ab]	206,76[ab]	11,148	0,041
Ácido propiônico	151,28	93,71	100,72	135,99	105,26	123,62	124,69	87,64	6,252	0,117
Ácido butírico	78,36[ab]	58,87[b]	53,20[b]	74,30[ab]	117,53[ab]	53,42[b]	61,63[b]	143,44[a]	7,103	0,002
AGCC totais	560,98	353,49	376,74	481,40	438,61	435,20	417,91	437,83	18,170	0,142
Ácido isobutírico	5,54	6,25	6,15	6,04	4,78	6,57	5,54	6,16	0,229	0,606
Ácido isovalérico	7,39	9,70	8,93	10,18	7,36	9,52	8,20	9,63	0,456	0,656
Ácido valérico	30,46[ab]	24,68[ab]	18,95[b]	27,24[ab]	44,94[ab]	21,80[b]	26,20[ab]	49,27[a]	2,391	0,004
AGCR totais	43,38	40,63	33,33	43,47	57,08	37,89	39,93	65,06	2,816	0,074
AGV totais	604,36	394,12	410,77	524,86	495,69	473,08	457,84	502,89	19,188	0,160
Ácido láctico	0,15	0,12	0,13	0,13	0,14	0,10	0,11	0,14	0,005	0,234
Amônia	113,01	111,42	105,37	106,65	90,38	111,83	96,21	118,43	3,867	0,720

[1] Erro padrão da média (n = 8 gatos por dieta)

[a, b] Médias na mesma linha que não compartilham sobrescrito diferem entre si (P<0.05).

Não houve diferença na concentração de aminas biogênicas (tiramina, putrescina, cadaverina e histamina) nas fezes dos gatos alimentados com as diferentes dietas (P>0,05) (Tabela 7). As aminas biogênicas serotonina, agmatina, espermidina, feniletilamina, triptamina e espermina tiveram valores abaixo do limite de detecção da análise (0,4 mg/kg). Quando a microbiota do intestino grosso recebe carboidrato como substrato de forma limitada, ocorre maior fermentação de peptídeos e aminoácidos, levando ao aumento da formação de produtos da fermentação proteica como aminas biogênicas, ácidos graxos de cadeia ramificada, fenol e indol (Macfarlane et al., 1992). De forma similar ao presente estudo, Pinna et al. (2018) avaliaram o fornecimento de fruto-oligossacarídeos para cães e não observaram alteração nas concentrações fecais de aminas biogênicas. Entretanto, não há consenso na literatura, com estudos observando aumento na concentração de aminas biogênicas nas fezes após inclusão de fibras e prebióticos nas dietas de gatos (Barry et al., 2010; Kanakupt et al., 2011; Santos et al., 2018). Apesar da limitação do tempo no presente estudo para avaliar efeitos de longo prazo, as dietas à base das duas variedades de sorgo em diferentes granulometrias, assim como as dietas à base de arroz integral e milho, não interferiram com as aminas biogênicas avaliadas.

Tabela 7. Concentração de aminas biogênicas nas fezes de gatos alimentados com dietas formuladas com diferentes fontes de cereais e tamanhos de partículas de matéria-prima.

Item, mg/100 g de fezes na MS	Dieta experimental								EPM[1]	Valor de P
	Arroz Integral	Milho	Sorgo vermelho			Sorgo branco				
	1,0 mm	1,0 mm	0,8 mm	1,0 mm	1,6 mm	0,8 mm	1,0 mm	1,6 mm		
Tiramina	21,68	17,11	11,18	24,78	22,95	24,92	23,75	32,27	2,198	0,4178
Putrescina	17,58	19,99	8,77	24,95	20,02	25,83	17,46	29,37	2,435	0,5282
Cadaverina	40,78	49,29	30,67	62,66	47,68	67,38	43,24	70,02	4,472	0,2696
Histamina	5,29	2,16	2,21	3,32	6,08	7,34	5,75	5,95	0,668	0,5685

[1] Erro padrão da média (n = 8 gatos por dieta)

[a, b] Médias na mesma linha que não compartilham sobrescrito diferem entre si (P<0.05).

4.4 Microbiota fecal

A análise de 61 amostras gerou um total de 3.663.319 sequências de qualidade (mediana por amostra: 58.982; intervalo: 20.923-92.544). Devido a problemas técnicos, não foi possível realizar a análise de microbiota em três amostras dos tratamentos Sorgo Vermelho 1,6 mm, Sorgo Branco 1,0 mm e Sorgo Branco 1,6 mm. A diversidade alfa, em uma rarefação de 20.923 sequências, descrita pelo número de UTOs, Diversidade de Shannon e Chao1, foi significativamente menor nas fezes do grupo alimentado com a dieta contendo sorgo vermelho de maior granulometria em comparação com dieta à base de milho (P=0,0164; P=0,0033; P=0,0173, respectivamente; Figura 8). A Diversidade de Shannon também indicou menor diversidade alfa para a dieta contendo sorgo vermelho de maior granulometria em comparação com as dietas contendo sorgo vermelho (P=0,0007) ou contendo sorgo branco (P=0,0103) de menor granulometria.

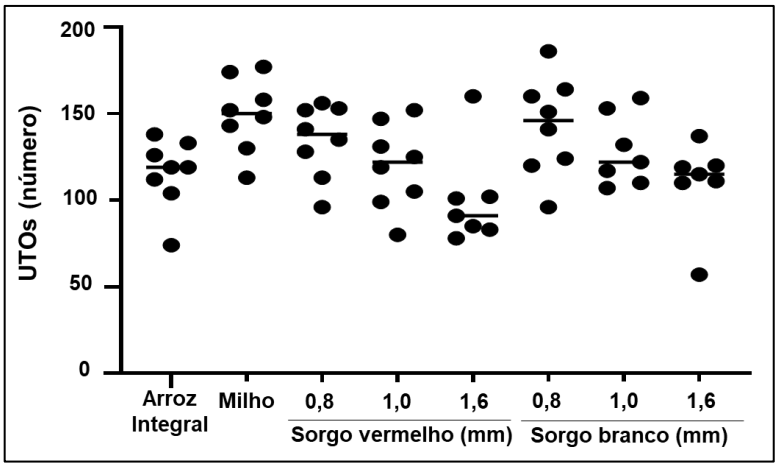


Figura 8. Diversidade alfa – Rarefação de 20.923 sequências. Número de unidades taxonômicas operacionais observadas (UTOs) observadas de acordo com a dieta.

A diversidade beta, que considera a abundância das amostras, foi menor para as dietas contendo sorgo vermelho e sorgo branco de maior granulometria em comparação com as dietas a base de arroz integral (P=0,016; P=0,014, respectivamente), milho (P=0,01; P=0,023, respectivamente), sorgo vermelho 0,8 mm (P=0,02; P=0,03, respectivamente), sorgo vermelho 1,0 mm (P=0,047; P=0,043, respectivamente) e sorgo branco 0,8 mm (P=0,02; P=0,01, respectivamente) (Figura 9). Tendo em vista que a diversidade bacteriana é importante para a saúde do

organismo (Heiman e Greenway, 2016; Summers et al., 2018), podemos considerar que as dietas com maior granulometria limitaram a diversidade, provavelmente selecionando os microrganismos mais adaptados à condição de menor pH em função da fermentação do amido resistente no intestino grosso dos gatos.

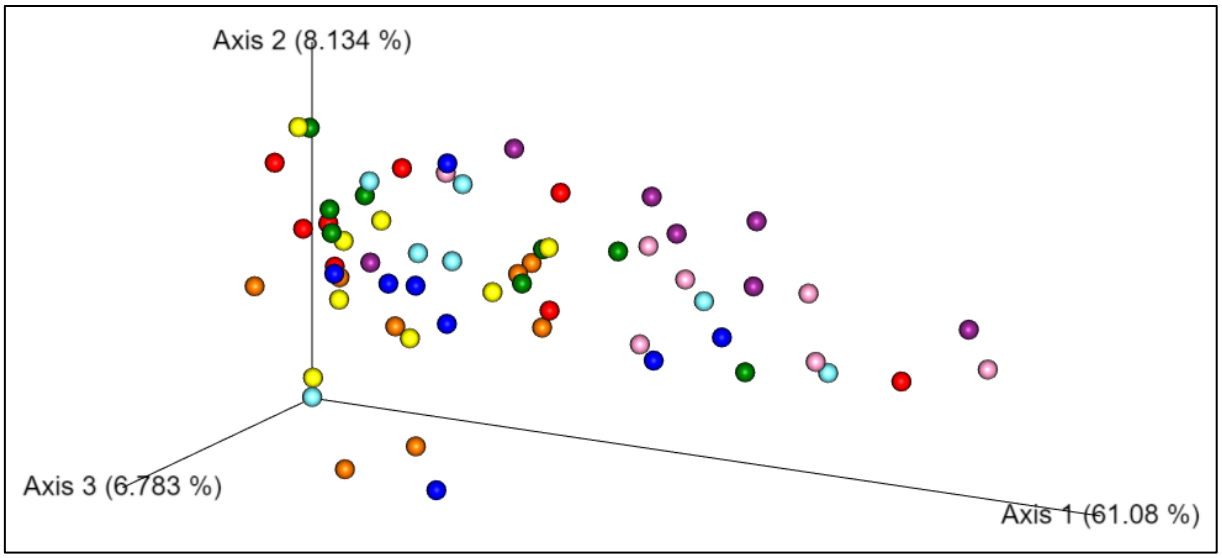


Figura 9. Diversidade beta – Análise das coordenadas principais (PcoA) da parcela ponderada da fração única métrica (Unifrac), de acordo com a dieta consumida pelos gatos.

A composição da microbiota fecal dos animais de acordo com as dietas encontra-se detalhada na Tabela 8, que apresenta dados estatísticos de P-valor, e também dados de Q-valor, aplicado a fim de minimizar a ocorrência de falso positivos em função do grande número de dados analisados (Storey e Tibshirani, 2003).

Tabela 8. Presença de táxons significativamente diferentes (P-valor) nas fezes de gatos alimentados com dietas extrusadas com diferentes cereais e tamanhos de partícula antes da correção por FDR (Q valor). Valores apresentados em % (intervalo).

Grupos bacterianos	Dieta experimental								Valor de P	Valor de Q
	Arroz Integral 1,0 Mm	Milho 1,0 mm	Sorgo vermelho			Sorgo branco				
			0,8 mm	1,0 mm	1,6 Mm	0,8 mm	1,0 mm	1,6 mm		
Filo										
Actinobacteria	3,26[a] (0,65-21,64)	6,19[a] (3,01-13,04)	3,98[a] (2,07-7,31)	3,68[a] (2,55-7,77)	7,19[a] (1,5-11,47)	4,33[a] (3,25-6,89)	5,71[a] (3,7-9,22)	13,98[a] (3,08-35,09)	0,0363	0,0726
Bacteroidetes	25,95[a] (1,81-38,41)	18,04[a] (4,8-23,33)	21,37[a] (13,57-28,93)	19,44[a] (9,17-31,38)	9,21[a] (2,5-24,88)	22,81[a] (11,08-33,17)	18,26[a] (4,91-25,33)	9,5[a] (1,68-23,82)	0,0164	0,0525
Deferribacteres	0,01 (0-0,26)	0,01 (0-0,06)	0,02 (0-0,5)	0,04 (0-0,67)	0,03 (0-0,25)	0 (0-0,29)	0 (0-0,02)	0 (0-0,44)	0,641	0,641
Firmicutes	53,36 (41,45-72,09)	60,81 (49,28-73,52)	64,89 (42,24-68,69)	53,96 (41,63-76,87)	61,34 (45,1-86,51)	52,78 (37,28-65,92)	57,55 (41,88-79,43)	60,63 (51,54-74,88)	0,5416	0,641
Fusobacteria	1,57[a] (0-4,89)	0,95[a] (0,02-3,04)	1,51[a] (0,12-5,85)	0,69[a] (0-2,25)	0,06[a] (0-0,49)	1,93[a] (0,49-3,82)	0,47[a] (0-3,94)	0,02[a] (0-2,52)	0,0175	0,0525
Proteobacteria	12,93 (4,46-19,45)	16,34 (5,58-28,07)	10,75 (6,74-19,63)	16,0 (5,18-27,73)	21,23 (3,7-33,33)	15,23 (8,91-23,36)	14,94 (6,44-34,78)	13,92 (3,18-19,26)	0,3159	0,4739
Classe										
Actinobacteria	0,65[a,b] (0-5,96)	0,42[a,b] (0,02-3,63)	0,09[b] (0-1,46)	0,03[b] (0-1,32)	2,7[a,b] (0-3,78)	0,49[a,b] (0,04-1,83)	0,66[a,b] (0,06-3,59)	6,56[a] (0,07-18,27)	0,0076	0,07
Bacteroidia	25,95[a] (1,81-38,41)	18,04[a] (4,74-23,33)	21,37[a] (13,57-28,93)	19,44[a] (9,17-31,38)	9,21[a] (2,5-24,88)	22,81[a] (11,08-33,17)	18,26[a] (4,91-25,33)	9,5[a] (1,68-23,82)	0,0164	0,07
Bacilli	0,36[a] (0,03-6,59)	0,56[a] (0-8,25)	1,78[a] (0-6,84)	2,67[a] (0,17-8,82)	6,62[a] (0-43,79)	0,13[a] (0-1,82)	0,57[a] (0,01-8,69)	4,72[a] (0,2-11,4)	0,0403	0,12
Fusobacteriia	1,57[a] (0-4,89)	0,95[a] (0,02-3,04)	1,51[a] (0,12-5,85)	0,69[a] (0-2,25)	0,06[a] (0-0,49)	1,93[a] (0,49-3,82)	0,47[a] (0-3,94)	0,02[a] (0-2,52)	0,0175	0,07
Ordem										
Bifidobacteriales	0,19[a,b] (0-5,96)	0,42[a,b] (0,02-1,27)	0,09[b] (0-1,46)	0,03[b] (0-1,03)	2,7[a,b] (0-3,78)	0,13[a,b] (0-1,15)	0,66[a,b] (0,06-3,27)	5,93[a] (0,07-18,27)	0,0073	0,0511

Bacteroidales	25,95[a] (1,81-38,41)	18,04[a] (4,74-23,33)	21,37[a] (13,57-28,93)	19,44[a] (9,17-31,38)	9,21[a] (2,5-24,88)	22,81[a] (11,08-33,17)	18,26[a] (4,91-25,33)	9,5[a] (1,68-23,82)	0,0164	0,0613
Fusobacteriales	1,57[a] (0-4,89)	0,95[a] (0,02-3,04)	1,51[a] (0,12-5,85)	0,69[a] (0-2,25)	0,06[a] (0-0,49)	1,93[a] (0,49-3,82)	0,47[a] (0-3,94)	0,02[a] (0-2,52)	0,0175	0,0613
Enterobacteriales	0[b] (0-0)	0,09[a] (0-1,33)	0[a,b] (0-1,55)	0[a,b] (0-0,43)	0[b] (0-0)	0[a,b] (0-1,31)	0[b] (0-0,01)	0,03[a,b] (0-0,76)	0,0037	0,0511
Família										
Bifidobacteriaceae	0,19[a,b] (0-5,96)	0,42[a,b] (0,02-1,27)	0,09[b] (0-1,46)	0,03[b] (0-1,03)	2,7[a,b] (0-3,78)	0,13[a,b] (0-1,15)	0,66[a,b] (0,06-3,27)	5,93[a] (0,07-18,27)	0,0073	0,0292
Bacteroidaceae	2,61[a] (0-3,82)	2,53[a] (0,48-4,6)	4,43[a] (0,91-8,77)	2,75[a] (0,57-9,18)	0,83[a] (0,03-3,76)	4,23[a] (1,1-6,38)	2,18[a] (0,28-6,2)	1,08[a] (0-4,2)	0,0258	0,0590
Prevotellaceae	21,28[a] (1,74-28,1)	10,24[a,b] (3,61-14,71)	12,94[a,b] (5,5-16,14)	12,06[a,b] (3,67-23,31)	7,14[a,b] (2,22-17,24)	12,93[a,b] (8,34-22,01)	10,02[a,b] (4,13-19,93)	4,31[b] (1,32-14,69)	0,0176	0,0433
S24-7	0,07[a,b] (0-0,16)	0,13[a,b] (0-0,68)	0,24[a,b] (0-1,36)	0,12[a,b] (0,03-0,43)	0,04[a,b] (0-0,22)	0,26[a] (0-0,97)	0,07[a,b] (0,02-0,24)	0,03[b] (0-0,08)	0,0084	0,0299
Odoribacteraceae	0,15[a] (0-0,41)	0,2[a] (0-0,79)	0,44[a] (0,09-0,72)	0,27[a] (0,12-0,9)	0,05[a] (0-0,26)	0,38[a] (0-1,44)	0,09[a] (0-0,61)	0,07[a] (0-0,15)	0,0104	0,0303
FND[1]	0,65[a,b] (0-1,12)	0,74[a,b] (0-2,54)	1,63[a] (0,42-3,54)	0,51[a,b] (0,16-1,05)	0,45[a,b] (0,11-1,07)	0,9[a,b] (0,03-1,65)	1,01[a,b] (0,08-3,48)	0,2[b] (0-0,28)	0,0027	0,0144
Clostridiaceae	11,01[b] (3,29-12)	8,5[a,b] (4,38-11,38)	8,27[b] (6,15-14,78)	5,97[a,b] (3,61-8,66)	3,96[a] (1,84-5,53)	8,52[b] (5,39-12,67)	7,99[a,b] (1,47-9,84)	4,65[a,b] (2,41-8,01)	0,0009	0,0096
Lachnospiraceae	14,61[a,b] (10,02-18,91)	12,8[a,b] (10,08-25,76)	15,04[a] (12,63-29,44)	12,26[a,b] (7,5-14,07)	6,86[b] (4,11-15,4)	13,47[a,b] (8,81-19,09)	13,53[a,b] (9,13-22,57)	7,62[b] (3,53-10,53)	0,0002	0,0032
Peptococcaceae	1,3[a,b] (0,43-1,8)	1,59[a,b] (0,75-2,27)	1,94[a] (1,6-2,24)	1,26[a,b] (0,78-1,86)	0,62[a,b] (0,5-1,22)	1,51[a,b] (0,91-3,25)	1,13[a,b] (0,94-2,29)	1,01[b] (0,38-1,71)	0,0016	0,0102
Ruminococcaceae	6,12[a,b,c] (3,42-9,9)	9,34[b,c] (2,07-13)	9,61[b] (7,33-11,98)	5,7[a,b,c] (3,91-10,91)	2,79[a] (0,91-5,24)	7,75[b,c] (5,65-12,06)	5,64[a,b,c] (3,29-11,3)	2,84[a,c] (0,42-9,08)	0,0002	0,0032
Veillonellaceae	11,6[a,b] (4,5-43,24)	15,49[a,b] (7,72-31,09)	10,05[a] (2,27-21,64)	19,14[a,b] (6,1-35,26)	35,62[a,b] (9,16-51,5)	12,49[a,b] (4,64-24,58)	14,63[a,b] (4,82-40,34)	33,26[b] (15,2-46,8)	0,0104	0,0303
Mogibacteriaceae	0,12[a] (0-0,34)	0,68[b] (0,22-2,22)	0,66[b] (0,21-1,49)	0,32[a,b] (0,12-0,61)	0,21[a,b] (0-0,74)	0,37[a,b] (0,25-0,65)	0,29[a,b] (0-0,73)	0,28[a,b] (0,08-0,87)	0,0015	0,0102
Fusobacteriaceae	1,57[a] (0-4,89)	0,95[a] (0,02-3,04)	1,51[a] (0,12-5,85)	0,69[a] (0-2,25)	0,06[a] (0-0,49)	1,93[a] (0,49-3,82)	0,47[a] (0-3,94)	0,02[a] (0-2,52)	0,0175	0,0433
Enterobacteriaceae	0[b] (0-0)	0,09[a] (0-1,33)	0[a,b] (0-1,55)	0[a,b] (0-0,43)	0[b] (0-0)	0[a,b] (0-1,31)	0[b] (0-0,01)	0,03[a,b] (0-0,76)	0,0037	0,0169

Gênero										
Bifidobacterium	0,19[a,b] (0-5,96)	0,42[a,b] (0,02-1,27)	0,09[b] (0-1,46)	0,03[b] (0-1,03)	2,7[a,b] (0-3,78)	0,13[a,b] (0-1,15)	0,66[a,b] (0,06-3,27)	5,93[a] (0,07-18,27)	0,0073	0,0417
GND[2], *Coriobacteriaceae*	0[a] (0-0,12)	0,02[a] (0-0,09)	0,05[a] (0-0,13)	0,02[a] (0-0,08)	0[a] (0-0,02)	0[a] (0-0,01)	0[a] (0-0,11)	0[a] (0-0,11)	0,0313	0,0957
GND, *Coriobacteriaceae*	0,1[b] (0-8,8)	0,35[a,b] (0,18-0,81)	0,15[a,b] (0-0,57)	0,14[b] (0,02-0,34)	0,33[a,b] (0-3,98)	0,2[a,b] (0,08-0,37)	0,22[a,b] (0,1-1,41)	0,81[a] (0,23-14,05)	0,0039	0,0307
Bacteroides	2,61[a] (0-3,82)	2,53[a] (0,48-4,6)	4,43[a] (0,91-8,77)	2,75[a] (0,57-9,18)	0,83[a] (0,03-3,76)	4,23[a] (1,1-6,38)	2,18[a] (0,28-6,2)	1,08[a] (0-4,2)	0,0258	0,0892
Prevotella	21,28[a] (1,74-28,1)	10,24[a,b] (3,61-14,71)	12,94[a,b] (5,5-16,14)	12,06[a,b] (3,67-23,31)	7,14[a,b] (2,22-17,24)	12,93[a,b] (8,34-22,01)	10,02[a,b] (4,13-19,93)	4,31[b] (1,32-14,69)	0,0176	0,0652
GND, *S24-7*	0,07[a,b] (0-0,16)	0,13[a,b] (0-0,68)	0,24[a,b] (0-1,36)	0,12[a,b] (0,03-0,43)	0,04[a,b] (0-0,22)	0,26[a] (0-0,97)	0,07[a,b] (0,02-0,24)	0,03[b] (0-0,08)	0,0084	0,0417
Odoribacter	0,15[a] (0-0,41)	0,2[a] (0-0,79)	0,44[a] (0,09-0,72)	0,27[a] (0,12-0,9)	0,05[a] (0-0,26)	0,38[a] (0-1,44)	0,09[a] (0-0,56)	0,07[a] (0-0,15)	0,0101	0,0455
Paraprevotella	0,01[a] (0-0,14)	0,05[a] (0-0,22)	0,19[a] (0-1,64)	0,07[a] (0-0,53)	0[a] (0-0,35)	0,19[a] (0-0,61)	0,04[a] (0-0,53)	0[a] (0-0,02)	0,0429	0,1176
GND, FND, *Clostridiales*	0,65[a] (0-1,12)	0,74[a] (0-2,54)	1,63[a] (0,42-3,54)	0,51[a] (0,16-1,05)	0,45[a] (0,11-1,07)	0,9[a] (0,03-1,65)	1,01[a] (0,08-3,48)	0,2[a] (0-0,28)	0,0027	0,0284
GND, *Clostridiaceae*	10,84[b] (3,21-12,93)	6,76[a,b] (4,38-11,38)	8,06[b] (6,15-13,44)	5,84[a,b] (2,65-7,81)	3,66[a] (1,84-5,48)	8,52[b] (5,39-12,67)	7,69[a,b] (1,47-9,84)	4,62[a,b] (1,98-7,86)	0,0011	0,0202
GND, *Lachnospiraceae*	2,26[a,b] (0,37-4,85)	2,63[a,b] (1,09-6,98)	3,5[a] (1,6-6,47)	1,51[a,b] (0,77-3,72)	0,87[b] (0,57-3,98)	3,03[a,b] (1,08-6,35)	1,64[a,b] (1,09-6,57)	1,35[b] (0,17-2)	0,0038	0,0307
Blautia	7,74[a,b] (6,11-11,07)	7,37[a,b] (4,54-9,27)	8,9[a] (5,64-12,31)	6,84[a,b] (2,67-8,43)	4,74[b] (2,27-6,45)	6,9[a,b] (4,04-9,74)	7,98[a,b] (3,71-11,3)	4,05[b] (2,11-7,49)	0,0013	0,0202
Dorea	0,04[a] (0-0,25)	0,03[a] (0-0,21)	0,14[a] (0-0,84)	0,03[a] (0-0,62)	0[a] (0-0,25)	0,15[a] (0-0,3)	0,12[a] (0-0,73)	0[a] (0-0,09)	0,0319	0,0957
Ruminococcus	0,63[a,b] (0,31-1,14)	0,49[a,b] (0-0,9)	1,1[a] (0,66-2,47)	0,37[a,b] (0,29-1,25)	0,2[a,b] (0,11-1,38)	0,58[a,b] (0,24-1,57)	0,65[a,b] (0,25-1,37)	0,26[b] (0-1,4)	0,0269	0,0892
Peptococcus	1,3[a,b] (0,43-1,8)	1,59[a,b] (0,75-2,27)	1,94[a] (1,6-2,24)	1,26[a,b] (0,78-1,86)	0,62[a,b] (0,5-1,22)	1,51[a,b] (0,91-3,25)	1,13[a,b] (0,94-2,29)	1,01[b] (0,38-1,71)	0,0016	0,0202
GND, *Ruminococcaceae*	3,01[a,b] (1,59-5,93)	4,9[a,b] (1,54-7,13)	4,79[a] (3,35-6,95)	3,56[a,b] (1,65-5,51)	2,39[b] (0,59-3,66)	4,63[a,b] (2,26-8,21)	4,4[a,b] (1,85-4,53)	2,05[a,b] (0,42-7,84)	0,0071	0,0417
Faecalibacterium	2,16[a,b,c] (0,05-6,39)	1,62[a,b,c] (0,28-4,06)	2,66[a,c] (0,34-4,77)	1,9[a,c] (0,57-6,17)	0,15[b] (0,07-0,49)	2,17[a,b,c] (0,17-3,87)	0,74[a,b,c] (0,3-3,54)	0,21[b] (0-0,8)	0,0006	0,0189

Oscillospira	0,46[a,b,c] (0,09-1,09)	1,57[a,b,c] (0,06-4,12)	1,24[a] (0,97-2,95)	0,65[a,b,c] (0,41-0,92)	0,25[b] (0,04-1,02)	1,44[a,c] (0,5-2,21)	0,9[a,b,c] (0,35-3,05)	0,35[b,c] (0-1,1)	0,0003	0,0189
Megasphaera	5,73[a] (1,51-33,45)	10,2[a] (4,2-18,23)	6,34[a] (1,21-14,48)	10,23[a] (0,92-23,69)	28,82[a] (6,97-47,42)	6,59[a] (3,14-15,24)	9,54[a] (2,06-30,03)	27,66[a] (8,62-42,6)	0,0074	0,0417
GND, *Mogibacteriaceae*	0[a] (0-0,13)	0,33[b] (0,09-0,72)	0,21[a,b] (0-0,51)	0,18[a,b] (0-0,53)	0,05[a,b] (0-0,34)	0,08[a,b] (0-0,13)	0,1[a,b] (0-0,3)	0,18[a,b] (0-0,61)	0,0086	0,0417
GND, *Mogibacteriaceae*	0,11[a] (0-0,27)	0,5[a] (0-1,5)	0,4[a] (0,11-1,35)	0,17[a] (0-0,36)	0[a] (0-0,74)	0,28[a] (0,13-0,6)	0,04[a] (0-0,73)	0,08[a] (0-0,41)	0,0136	0,0571
Fusobacterium	1,57[a] (0-4,89)	0,95[a] (0,02-3,04)	1,51[a] (0,12-5,85)	0,69[a] (0-2,25)	0,06[a] (0-0,49)	1,93[a] (0,49-3,82)	0,47[a] (0-3,94)	0,02[a] (0-2,52)	0,0175	0,0652
GND, *Enterobacteriaceae*	0[a] (0-0)	0,04[a] (0-1,33)	0[a] (0-0,23)	0[a] (0-0,05)	0[a] (0-0)	0[a] (0-0,17)	0[a] (0-0,01)	0[a] (0-0,03)	0,0406	0,1163
Espécie										
END[3], *Bifidobacterium*	0[a,b] (0-4,78)	0,14[a,b] (0-1,11)	0[b] (0-0,53)	0[b] (0-0,52)	2,46[a,b] (0-3,78)	0[b] (0-0,14)	0,24[a,b] (0-3,11)	5,71[a] (0-17,85)	0,0044	0,0317
END, *Coriobacteriaceae*	0[a] (0-0,12)	0,02[a] (0-0,09)	0,05[a] (0-0,13)	0,02[a] (0-0,08)	0[a] (0-0,02)	0[a] (0-0,01)	0[a] (0-0,11)	0[a] (0-0,11)	0,0313	0,1094
END, *Coriobacteriaceae*	0,1[b] (0-8,8)	0,35[a,b] (0,18-0,81)	0,15[a,b] (0-0,57)	0,14[b] (0,02-0,34)	0,33[a,b] (0-3,98)	0,2[a,b] (0,08-0,37)	0,22[a,b] (0,1-1,41)	0,81[a] (0,23-14,05)	0,0039	0,0312
END, *Bacteroides*	2[a] (0-3,54)	2,19[a] (0,27-3,83)	3,81[a] (0,72-8,36)	2,01[a] (0,57-4,67)	0,48[a] (0,03-2,82)	2,76[a] (0,88-5,35)	1,3[a] (0,09-5,25)	0,91[a] (0-2,16)	0,0418	0,1236
END, *Prevotella*	0,28[a] (0,09-0,65)	0,84[a] (0,19-4,25)	1,38[a] (0,05-2,63)	0,52[a] (0,07-2,87)	0,13[a] (0,02-0,52)	1,35[a] (0,27-2,83)	0,6[a] (0,06-1,74)	0,15[a] (0-0,91)	0,0022	0,0264
Prevotella copri	20,94[a,b] (1,64-27,45)	8,45[a] (3,42-13,48)	11,63[a,b] (4,47-15,1)	11,54[a,b] (3,47-20,43)	7,01[a,b] (2,13-17,22)	11,79[a,b] (7,88-19,57)	8,91[a,b] (3,56-18,59)	3,4[b] (1,32-14,47)	0,0161	0,0644
END, *S24-7*	0,07[a] (0-0,16)	0,13[a] (0-0,68)	0,24[a] (0-1,36)	0,12[a] (0,03-0,43)	0,04[a] (0-0,22)	0,26[a] (0-0,97)	0,07[a] (0,02-0,24)	0,03[a] (0-0,08)	0,0084	0,0442
END, *Odoribacter*	0,15[a] (0-0,41)	0,2[a] (0-0,79)	0,44[a] (0,09-0,72)	0,27[a] (0,12-0,9)	0,05[a] (0-0,26)	0,38[a] (0-1,44)	0,09[a] (0-0,56)	0,07[a] (0-0,15)	0,0101	0,0485
END, *Paraprevotella*	0,01[a] (0-0,14)	0,05[a] (0-0,22)	0,19[a] (0-1,64)	0,07[a] (0-0,53)	0[a] (0-0,35)	0,19[a] (0-0,61)	0,04[a] (0-0,53)	0[a] (0-0,02)	0,0429	0,1236
END, *Clostridiales*	0,65[a,b] (0-1,12)	0,74[a,b] (0-2,54)	1,63[a] (0,42-3,54)	0,51[a,b] (0,16-1,05)	0,45[a,b] (0,11-1,07)	0,9[a,b] (0,03-1,65)	1,01[a,b] (0,08-3,48)	0,2[b] (0-0,28)	0,0027	0,0278
END, *Clostridiaceae*	10,84[b] (3,21-12)	6,76[a,b] (4,38-11,38)	8,06[b] (6,15-13,44)	5,84[a,b] (2,65-7,81)	3,66[a] (1,84-5,48)	8,52[b] (5,39-12,67)	7,69[a,b] (1,47-9,84)	4,62[a,b] (1,98-7,86)	0,0011	0,0230

END, *Lachnospiraceae*	2,26^{a,b} (0,37-4,85)	2,63^{a,b} (1,09-6,98)	3,5^{a} (1,6-6,47)	1,51^{a,b} (0,77-3,72)	0,87^{b} (0,57-3,98)	3,03^{a,b} (1,08-6,35)	1,64^{a,b} (1,09-6,57)	1,35^{b} (0,17-2)	0,0038	0,0312
END, *Blautia*	4,58^{a} (3,03-9,17)	4,85^{a} (3,73-6,05)	4,46^{a} (3,23-6,36)	3,43^{a} (1,82-6,96)	3,33^{a} (1,48-4,77)	3,8^{a} (2,29-6,41)	3,24^{a} (1,81-10,04)	1,96^{a} (1,24-6,41)	0,0468	0,1296
END, *Dorea*	0,04^{a} (0-0,25)	0,03^{a} (0-0,21)	0,14^{a} (0-0,84)	0,03^{a} (0-0,62)	0^{a} (0-0,25)	0,15^{a} (0-0,3)	0,12^{a} (0-0,73)	0^{a} (0-0,09)	0,0319	0,1094
END, *Ruminococcus*	0^{b} (0-0,1)	0^{b} (0-0,07)	0,17^{a} (0-0,89)	0^{b}	0^{a,b}	0^{b}	0^{b}	0^{b}	0,0015	0,0230
Ruminococcus gnavus	0,43^{a} (0,18-0,86)	0,16^{a} (0-0,72)	0,43^{a} (0,34-1,06)	0,2^{a} (0-0,76)	0,11^{a} (0-0,93)	0,3^{a} (0,11-1,19)	0,52^{a} (0-1,28)	0,09^{a} (0-1,02)	0,0386	0,1236
END, *Peptococcus*	1,3^{a,b} (0,43-1,8)	1,59^{a,b} (0,75-2,27)	1,94^{a} (1,6-2,24)	1,26^{a,b} (0,78-1,86)	0,62^{b} (0,5-1,22)	1,51^{a,b} (0,91-3,25)	1,13^{a,b} (0,94-2,29)	1,01^{a,b} (0,38-1,71)	0,0016	0,0230
END, *Ruminococcaceae*	3,01^{a,b} (1,59-5,93)	4,9^{a,b} (1,54-7,13)	4,79^{a} (3,35-6,95)	3,56^{a,b} (1,65-5,51)	2,39^{b} (0,59-3,66)	4,63^{a,b} (2,26-8,21)	4,4^{a,b} (1,85-4,53)	2,05^{a,b} (0,42-7,84)	0,0071	0,0442
Faecalibacterium prausnitzii	2,16^{a,b,c} (0,05-6,39)	1,62^{a,b,c} (0,28-4,06)	2,66^{a} (0,34-4,77)	1,9^{a,c} (0,57-6,17)	0,15^{b} (0,07-0,49)	2,17^{a,b,c} (0,17-3,87)	0,74^{a,b,c} (0,3-3,54)	0,21^{b,c} (0-0,8)	0,0006	0,0216
END, *Oscillospira*	0,46^{a,b,c} (0,09-1,09)	1,57^{a,b,c} (0,06-4,12)	1,24^{a} (0,97-2,95)	0,65^{a,b,c} (0,41-0,92)	0,25^{b} (0,04-1,02)	1,44^{a,c} (0,5-2,21)	0,9^{a,b,c} (0,35-3,05)	0,35^{b} (0-1,1)	0,0003	0,0216
END, *Megasphaera*	5,73^{a} (1,51-33,45)	10,2^{a} (4,2-18,23)	6,34^{a} (1,21-14,48)	10,23^{a} (0,92-23,69)	28,82^{a} (6,97-47,42)	6,59^{a} (3,14-15,24)	9,54^{a} (2,06-30,03)	27,66^{a} (8,62-42,6)	0,0074	0,0442
END, *Mogibacteriaceae*	0^{a} (0-0,13)	0,33^{b} (0,09-0,72)	0,21^{a,b} (0-0,51)	0,18^{a,b} (0-0,53)	0,05^{a,b} (0-0,34)	0,08^{a,b} (0-0,13)	0,1^{a,b} (0-0,3)	0,18^{a,b} (0-0,61)	0,0086	0,0442
END, *Mogibacteriaceae*	0,11^{a} (0-0,27)	0,5^{a} (0-1,5)	0,4^{a} (0,11-1,35)	0,17^{a} (0-0,36)	0^{a} (0-0,74)	0,28^{a} (0,13-0,6)	0,04^{a} (0-0,73)	0,08^{a} (0-0,41)	0,0136	0,0612
END, *Fusobacterium*	1,57^{a} (0-4,89)	0,95^{a} (0,02-3,04)	1,51^{a} (0,12-5,85)	0,69^{a} (0-2,25)	0,06^{a} (0-0,49)	1,93^{a} (0,49-3,82)	0,47^{a} (0-3,94)	0,02^{a} (0-2,52)	0,0175	0,0663
END, *Enterobacteriaceae*	0^{a} (0-0)	0,04^{a} (0-1,33)	0^{a} (0-0,23)	0^{a} (0-0,05)	0^{a} (0-0)	0^{a} (0-0,17)	0^{a} (0-0,01)	0^{a} (0-0,03)	0,0406	0,1236

[1] FND: Família não determinada.
[2] GND: Gênero não determinado.
[3] END: Espécie não determinada.

A microbiota fecal dos gatos foi composta principalmente pelo filo *Firmicutes*, em acordo ao observado em estudos prévios (Handl et al., 2011; Garcia-Mazcorro et al., 2017), seguido por *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* e *Actinobacteria*. *Fusobacteria* e *Deferribacteres* apresentaram menor abundância nas amostras. Com relação à classe, a dieta à base de sorgo branco de maior granulometria induziu maior abundância de *Actinobacteria* em comparação com as dietas à base de sorgo vermelho de baixa e média granulometrias (P=0,0076; Q=0,07). As demais classes não diferiram estatisticamente entre os tratamentos. A classe *Actinobacteria* é considerada benéfica e estimulada pelo consumo de prebióticos (Barczynska et al., 2016). Contudo, pelo menos em humanos, pode ocorrer diferença na resposta devido ao tipo de amido resistente utilizado, sendo que, em diferentes estudos, ficou demonstrado que o consumo de amido resistente do tipo 4 (modificado quimicamente) induziu o aumento de *Actinobacteria*, enquanto que os tipos 2 (grânulos de amido bruto) e 3 (amido retrogradado) não o fizeram (Martínez et al., 2010; Walker et al., 2011). No presente estudo, o principal tipo de amido envolvido é o do tipo 1, que se caracteriza por ser fisicamente inacessível à digestão enzimática (Fuentes-Zaragoza et al., 2010), o que poderia explicar, pelo menos em parte, a diferença na resposta entre as dietas com maior granulometria. Esta resposta diferenciada justifica a avaliação de outros tipos de amido resistente em dietas para gatos, bem como em maiores teores do que o avaliado no presente estudo, para melhor compreensão dos efeitos do mesmo sobre a microbiota intestinal e seu metabolismo em gatos.

A ordem *Bifidobacteriales* foi mais abundante nas fezes dos gatos após o consumo da dieta à base de sorgo branco com maior granulometria do que das dietas à base de sorgo vermelho nas granulometrias baixa e média. As demais dietas apresentaram valores intermediários e não diferiram estatisticamente. Em estudos anteriores, esta ordem foi mais abundante em gatos obesos (Kieler et al., 2019) e em gatos positivos para o vírus da imunodeficiência felina (Weese et al., 2015). Por sua vez, a ordem *Enterobacteriales* ocorreu mais abundantemente nas fezes dos gatos alimentados com a dieta à base de milho em comparação com as dietas à base de arroz integral, sorgo vermelho em maior granulometria e sorgo branco em granulometria média. A ocorrência de bactérias da ordem *Enterobacteriales* é maior

no intestino delgado (Suchodolski, 2012), o que justifica os baixos valores encontrados nas fezes.

A família *Bifidobacteriaceae* foi mais abundante nas fezes dos gatos alimentados com a dieta à base de sorgo branco com maior granulometria do que com as dietas à base de sorgo vermelho nas granulometrias baixa e média. Trabalhos anteriores descrevem que gatos infectados com FIV apresentaram maior abundância desta família (Weese et al., 2015), que também é mais abundante na microbiota de em gatos saudáveis quando comparados com a microbiota de gatos com enteropatias crônicas (Marsilio et al., 2019).

A família *Prevotellaceae* foi menos abundante nas fezes dos gatos alimentados com a dieta à base de sorgo branco em maior granulometria do que à base de arroz integral. Estudo anterior demonstra que gatos alimentados com alimento úmido apresentaram maior abundância de gênero não identificado da família Prevotellaceae em comparação com os que receberam alimento seco (Bermingham et al., 2013). Isto demonstra que o filo *Bacteroidetes* possui variedade de membros capazes de utilizar tanto proteínas quanto carboidratos como substrato (Thomas et al., 2011). Gatos obesos castrados apresentaram menor abundância de *Prevotellaceae* em comparação com gatos igualmente castrados, mas com peso ideal (Fischer et al., 2017). Ainda, cães com doença intestinal inflamatória apresentaram redução desta família (Suchodolski et al., 2012).

A família *S24-7* reduziu sua abundância nas fezes dos gatos após o consumo da dieta à base de sorgo branco com maior granulometria em comparação com a sorgo branco com menor granulometria. De forma semelhante, o consumo de amido resistente da batata por suínos reduz a ocorrência de *S24-7* (Sun et al., 2015). Esta família possui dados limitados na literatura, apesar de estar presente no trato gastrointestinal de diversos animais (Ormerod et al., 2016).

A família *Clostridiaceae* foi consistentemente menos abundante nas fezes dos gatos após o consumo da dieta à base de sorgo vermelho na maior granulometria em comparação com as dietas à base de sorgos vermelho e branco na menor granulometria e de arroz integral (P=0,0009; Q=0,0096). *Clostridiaceae* é uma família diversa, que inclui desde gêneros importantes para a digestibilidade quanto patogênicos (Rajilic-Stojanovic & De Vos, 2014). Estudos anteriores relacionaram a

abundância de *Clostridiales* com o teor de proteína da dieta de gatos (Bermingham et al., 2013; Hooda et al., 2013). Em cães, *Clostridiaceae* foi mais abundante após o consumo de dieta à base de carne crua em comparação com alimento extrusado seco (Bermingham et al., 2017). Estes autores observaram correlação positiva de *Clostridiaceae* com o teor e a digestibilidade da proteína, energia bruta e o escore fecal. Isto pode indicar que *Clostridiaceae* participa no metabolismo proteico no trato gastrointestinal ou que consegue multiplicar-se em um ambiente com escassez de carboidratos (Bermingham et al., 2017). Os dados do presente estudo reforçam este conceito pois a abundância de *Clostridiaceae* foi menor em ambas dietas à base de sorgo com menos amido resistente (menor granulometria). Correlação negativa foi observada entre a presença de *Clostridiaceae* e excreção de gordura, produção de fezes e ácidos graxos de cadeia curta (Bermingham et al., 2017).

A família *Lachnospiraceae* foi menos abundante nas fezes dos gatos alimentados com dietas à base de sorgos vermelho e branco com maior granulometria (1,6 mm) em comparação com a dieta sorgo vermelho em baixa granulometria (P=0,0002; Q=0,0032). Os membros desta família são abundantes no intestino de mamíferos, sendo importantes produtores de ácidos graxos de cadeia curta (Meehan & Beiko, 2014) e comumente associados à saúde intestinal (Louis et al., 2004; Biddle et al., 2013; Honneffer et al., 2014). Considerando o exposto acima e os resultados do presente estudo, é possível que o amido resistente tipo 1, principal forma presente nas dietas de maior granulometria, não tenha sido um bom substrato para *Lachnospiraceae*. Entretanto, estudos observaram aumento de *Lachnospiraceae* nas fezes de gatos alimentados com dietas com teores altos de proteína e baixos de carboidrato, seja à base de aves cruas (Kerr et al., 2014) ou alimentos secos (Bermingham et al., 2013; Hooda et al., 2013). Diarreia crônica hemorrágica em gatos foi associada à *Lachnospiraceae* em comparação com diarreia aguda hemorrágica (Suchodolski et al., 2015). Ainda, afecções intestinais estão associadas à redução de *Lachnospiraceae* em cães (Suchodolski et al., 2010; 2012a) e humanos (Frank et al., 2007; Sokol et al., 2008). Entretanto, devido à grande diversidade na funcionalidade de seus membros (Seshadri et al., 2018), o entendimento sobre potenciais consequências da colonização por *Lachnospiraceae* é limitado (Jarett et al., 2019).

Peptococcaceae foi mais abundante nas fezes dos gatos alimentados com a dieta à base de sorgo vermelho em menor granulometria do que na dieta à base de sorgo branco em maior granulometria (P=0,0016; Q=0,0102). Sua presença é associada com digestibilidade da proteína e seus produtos da fermentação (Bermingham et al., 2018). Cães que consumiram dieta crua com alta proteína também tiveram maior abundância de *Peptococcaceae* nas fezes em comparação com os que consumiram alimento extrusado seco (Bermingham et al., 2017). Cães com diarreia responsiva ao alimento apresentaram aumento desta família (Kalenyak et al., 2018).

Ruminococcaceae foi menos abundante nas fezes de gatos alimentados com dietas à base de sorgos vermelho e branco em maior granulometria em comparação com a dieta à base de sorgo vermelho em menor granulometria (P=0,0002; Q=0,0032). A dieta à base de sorgo vermelho em maior granulometria também induziu diminuição de *Ruminococcaceae* nas fezes em comparação com a dieta à base de milho. De forma semelhante à Lachnospiraceae, estes resultados aparentam uma limitação do amido resistente tipo 1 como substrato para *Ruminococcaceae* já que esta família é produtora de ácidos graxos de cadeia curta (Honneffer et al., 2014). Gatos alimentados com dieta úmida apresentaram aumento de *Ruminococcaceae* nas fezes em comparação com dieta seca extrusada (Bermingham et al., 2013), entretanto, a composição e os ingredientes das dietas eram diferentes, o que provavelmente também influenciou neste resultado. Dieta à base de aves cruas também aumentou a ocorrência de *Ruminococcaceae* em comparação com dieta extrusada seca (Kerr et al., 2014). Dieta com alta proteína e baixo carboidrato também aumentou *Ruminococcaceae* em gatos filhotes (Hooda et al., 2013). Cães com diarreia hemorrágica aguda e enteropatias crônicas apresentaram redução de *Ruminococcaceae* (Suchodolski et al., 2012b).

Veillonellaceae foi mais abundante nas fezes de gatos alimentados com a dieta à base de sorgo branco em maior granulometria em comparação com a dieta à base de sorgo vermelho em menor granulometria (P=0,0104; Q=0,0303). Esta família foi associada com a produção de ácidos graxos de cadeia curta (Lin et al., 2011) e associada negativamente com as concentrações de isovalerato e isobutirato (Bermingham et al., 2018). O consumo de prebiótico (FOS) em cães e gatos (Garcia-

Mazcorro et al., 2017) e inulina em cães (Beloshapka et al., 2013) aumentou *Veillonellaceae*, assim como a incubação *in vitro* com prebióticos, especialmente com produção de acetato (Van den Abbeele et al., 2020). Esta família também aumentou em gatos que consumiram alimento seco em comparação com alimento úmido (Bermingham et al., 2013) e alimento com moderada proteína e moderado carboidrato em comparação com alta proteína e baixo carboidrato (Hooda et al., 2013). Com base nos resultados do presente estudo e da literatura citada, pode-se considerar que o amido resistente da dieta à base de sorgo branco em maior granulometria foi utilizado como substrato pelos membros da *Veillonellaceae*.

Mogibacteriaceae foi mais abundante nas fezes de gatos alimentados com dietas à base de sorgo vermelho em menor granulometria ou milho em comparação com a dieta à base de arroz integral (P=0,0015; Q=0,0102). Cães que consumiram dietas menos processadas (crua ou assada e refrigerada) apresentaram menor abundância em comparação com dieta extrusada (Algya et al., 2018). O consumo de fibras menos fermentáveis aumentou *Mogibacteriaceae* em comparação com fibras mais fermentáveis (Fouhse et al., 2017). Em pacientes humanos com Doença de Crohn foi observado menor abundância de *Mogibacteriaceae* (Imhann et al., 2018). Devido aos dados conflitantes tornam-se necessários mais estudos para melhor compreensão da Mogibacteriaceae na microbiota de gatos.

Enterobacteriaceae foi mais abundante nas fezes de gatos alimentados com dieta à base de milho em comparação com as dietas à base de arroz integral e sorgos vermelho em maior granulometria e branco em granulometria média (P=0,0037; Q= 0,0169). Em cães e gatos, o número de *Enterobacteriaceae* é maior em filhotes pré-desmame, reduz após o desmame e na fase adulta e volta a aumentar com o avançar da idade (Masuoka et al., 2016; Masuoka et al., 2017). Foi identificado correlação negativa entre *Enterobacteriaceae* e o escore fecal (Ramadan et al., 2013) e aumento de *Enterobacteriaceae* na mucosa do duodeno em cães (Xenoulis et al., 2008) e gatos (Janeczko et al., 2008) com doença intestinal inflamatória e diarreia (Suchodolski et al., 2015). A adição de fibra (lactosacarose) reduziu *Enterobacteriaceae* nas fezes de gatos (Terada et al., 1993), enquanto o tipo de alimento, úmido ou seco, não teve influência (Bermingham et al., 2013). Cães com diarreia responsiva à dieta apresentaram redução de *Enterobacteriaceae* após o início do tratamento,

independente da utilização ou não de probiótico (Sauter et al., 2006). Considerando que patógenos como *Escherichia coli* e *Salmonella* são membros desta família (Pinna et al., 2014), vale ressaltar que no presente estudo os gatos não apresentaram diarreia ou outros sinais de doença e que o aumento identificado de Enterobacteriales é muito menor que os valores encontrados nos estudos com enteropatias.

O gênero *Bifidobacterium* foi mais abundante nas fezes de gatos alimentados com dieta à base de sorgo branco em maior granulometria em comparação com as dietas à base de sorgo vermelho em granulometrias menor e média (P=0,0073; Q=0,0417). De forma geral, espécies deste gênero são consideradas benéficas por limitarem patógenos através da produção de seus metabólitos e são comumente utilizadas em probióticos (Buddington & Sunvold, 1998; Rastall, 2004; Ogué-Bon et al., 2010). Masuoka et al. (2017) observaram que gatos mais velhos (idade média de 17 anos) apresentaram maior abundância de *Bifidobacterium* em comparação com gatos mais jovens (médias de 2,5 e 11,4 anos). Menor abundância de *Bifidobacterium* foi observada após o consumo de dietas com alta proteína por gatos adultos (Lubbs et al., 2009) e filhotes (Hooda et al., 2013; Deusch et al., 2014; Kerr et al., 2014). Doença intestinal inflamatória causou redução de *Bifidobacterium* em gatos (Inness et al., 2007) e humanos (Sokol et al., 2009). Contudo, Beloshapka et al. (2014) ao comparar diferentes dietas à base de carnes cruas observaram aumento de *Bifidobacterium* apenas na dieta suplementada com prebiótico (parede celular de levedura). O consumo de FOS ou simbiótico aumentou *Bifidobacterium* nas fezes de gatos (Barry et al., 2010; Kanakupt et al., 2011) mas sem os mesmos efeitos em cães e gatos (Garcia-Mazcorro et al., 2011). Considerando os dados do presente estudo e da literatura, torna-se interessante avaliar o sorgo branco em maior granulometria como prebiótico em condições de possível redução de *Bifidobacterium*, como doenças intestinais crônicas e dietas com alta proteína, para minimizar ou melhorar possíveis efeitos deletérios.

Prevotella foi o gênero mais abundante nas fezes dos gatos, independente da dieta consumida. Ao comparar os tratamentos, foi menos abundante nas fezes de gatos alimentados com dieta à base de sorgo branco em maior granulometria em comparação com dieta à base de arroz integral (P=0,0176; Q=0,0652). Gatos alimentados com dieta com alta proteína apresentaram redução de *Prevotella* nas

fezes em comparação com dieta com proteína moderada (Deusch et al., 2014). O consumo de dietas à base de aves cruas em comparação com alimento extrusado seco também reduziu *Prevotella* nas fezes de gatos (Kerr et al., 2014). Fischer et al. (2017) observaram redução de *Prevotella* em gatos castrados magros em comparação com gatos castrados obesos. Cães com doença intestinal inflamatória também apresentaram redução de *Prevotella* (Suchodolski et al., 2012a). Como a atividade de *Prevotella* está ligada à fermentação de carboidratos, gerando lactato e AGCC, (Suchodolski, 2011) sua redução nos estudos que forneceram dieta com alta proteína era esperada. Contudo, no presente estudo a dieta a base de sorgo branco com maior teor de amido resistente apresentou menor abundância deste gênero. Uma possível explicação seria uma limitação na utilização do amido resistente pelas espécies deste gênero. Ao comparar diferentes formas de alimento (seco e úmido) para gatos, mas com menor diferença entre os teores de proteína, não foi observada alteração de *Prevotella* (Bermingham et al., 2013).

Blautia foi menos abundante nas fezes de gatos alimentados com dietas à base de sorgos vermelho e branco em maior granulometria em comparação com dieta à base de sorgo vermelho em baixa granulometria (P=0,0013; Q=0,0202). Este gênero faz parte da família *Lachnospiraceae*, produtora de butirato, e sua abundância foi associada a este metabólito em cães (Sandri et al., 2017) e utilizada para verificar índice de disbiose em cães (AlShawaqfeh et al., 2017). Consumo de dietas com alta proteína e moderado carboidrato (Bermingham et al., 2013, 2018; Hooda et al., 2013), e a perda de peso associada ao consumo de dieta com moderada proteína e alta fibra (Pallotto et al., 2018) aumentaram *Blautia* nas fezes de gatos. Em cães, diarreia hemorrágica aguda foi associada com a redução deste gênero (Suchodolski et al., 2012b). Na LEfSe (Tabela 6), a dieta RS0,8 foi associada à maior presença do gênero *Blautia*, incluindo *B. producta* que tem o acetato como principal produto da fermentação (Liu et al., 2008).

Peptococcus foi menos abundante nas fezes de gatos alimentados com dieta à base de sorgos branco e vermelho em maior granulometria em comparação com dieta à base de sorgo vermelho em baixa granulometria (P=0,0016; Q=0,0202). Este gênero realiza descarboxilação e desaminação de aminoácidos, produzindo amônia (Suchodolski, 2011), sendo associada à digestibilidade da proteína e marcadores de

sua fermentação em gatos (Bermingham et al., 2018; Butowski et al., 2019). O consumo de dieta à base de aves cruas, com alta proteína, aumentou *Peptococcus* (Kerr et al., 2014) em comparação com dieta extrusada, bem como o emagrecimento de gatos obesos com dieta com proteína moderada e alta fibra (Pallotto et al., 2018). Cães com diarreia responsiva à dieta apresentaram aumento de *Peptococcus* após início do tratamento (Kalenyak et al., 2018).

Faecalibacterium, especificamente *F. prausnitzii*, foi mais abundante nas fezes dos gatos após o consumo da dieta contendo sorgo vermelho de baixa granulometria [2,66% (0,34 a 4,77%)] do que nas contendo sorgo vermelho de alta granulometria [0,15% (0,07 a 0,49%)] e sorgo branco de alta granulometria [0,21% (0 a 0,8%)] (P = 0,0006; Q = 0,0216). Esta espécie pode utilizar glicose, frutose e fruto-oligossacarídeos, além de moléculas mais complexas como pectina e N-acetilglicosamina, para produzir butirato, lactato e formato (Duncan et al., 2002; Lopez-Siles et al., 2012). Também possui importância para a manutenção da homeostase da microbiota intestinal, tendo demonstrado efeito antinflamatório em camundongos (Sokol et al., 2008). Em humanos, sua redução está associada à doença de Crohn (Kang et al., 2010) e câncer de cólon (Chen et al., 2012) enquanto em cães foi associada ao linfoma (Gavazza et al., 2018). O aumento de cepas de *F. prausnitzii* que produziam menos butirato e propionato foi associado à dermatite atópica (Song et al., 2016), reforçando o caráter antinflamatório dos ácidos graxos de cadeia curta (Vinolo et al., 2011). O consumo de fibras fermentáveis, como polpa de beterraba (Middelbos et al., 2010) e fibra de batata (Panasevich et al., 2015), por cães aumentou *F. prausnitzii* nas fezes. O consumo de amido resistente tipo 3, na forma de amido de mandioca retrogradado e teor de 34% da dieta, por suínos induziu aumentou de *F. prausnitzii* (Haenen et al., 2013). Isto demonstra o potencial do amido resistente como prebiótico, entretanto o tipo de amido resistente e a quantidade foram muito maiores que o presente estudo.

Oscillospira foi mais abundante nas fezes de gatos alimentados com as dietas contendo sorgo vermelho 0,8 mm e sorgo branco 0,8 mm quando comparado com a dieta composta por sorgo vermelho 1,6 mm (P=0,0003; Q=0,0189). A dieta contendo sorgo branco 1,6 mm também reduziu este gênero em comparação com a dieta contendo sorgo vermelho de baixa granulometria. De forma semelhante, o consumo

de amido resistente na dieta através de amido de batata cru para suínos reduziu *Oscillospira* (Sun et al., 2015). Em humanos, é associada à manutenção de peso ideal, inclusive em comparações de gêmeos em que apenas um é obeso (Tims et al., 2013; Goodrich et al., 2014). De forma similar, Pallotto et al. (2018) observaram aumento de *Oscillospira* após emagrecimento de gatos obesos com consumo de dieta com moderada proteína e alta fibra. Enteropatias crônicas reduziram sua abundância em gatos (Marsilio et al., 2019), o que também foi identificado por meta-análise em humanos (Walters et al., 2014).

De acordo com Garcia-Mazcorro et al. (2017), é comum que os efeitos dos prebióticos sejam discretos devido às baixas dosagens (em torno de 1% da matéria seca). Ao se utilizar ingredientes com dosagens altas os resultados tornam-se mais expressivos: a suplementação de 4% de fruto-oligossacarídeo ou pectina em gatos (Barry et al., 2010) reduziu *Escherichia coli* e aumentou *Bifidobacterium spp.*; em cães, 7,5% de polpa de beterraba na dieta diminuiu Fusobacteria e aumentou Firmicutes (Middelbos et al., 2010). É possível que novos ou maiores efeitos possam ser observados em doses maiores de amido resistente, como foi observado em cães por Bazolli et al. (2015) em que a maior granulometria, independente da dieta, aumentou a concentração de butirato nas fezes. Uma limitação deste estudo é que, a fim de tornar as dietas com teor similar de fibra, utilizou-se a polpa de beterraba, que é uma fonte moderadamente fermentável, o que pode ter afetado os resultados de fermentação e alterações da microbiota. Entretanto, através deste procedimento atingiu-se o objetivo de equilibrar a fibra para avaliar a digestibilidade, que não diferiu entre os tratamentos.

5 CONCLUSÕES

Neste trabalho, nós demonstramos que dietas formuladas à base das variedades de sorgo branco e vermelho apresentaram melhor palatabilidade quando comparadas às dietas contendo milho ou arroz integral como fontes de carboidratos. Ainda, a digestibilidade dos nutrientes com as dietas apresentando o mesmo teor de fibras não diferiu entre as fontes de cereais. A ingestão de dietas com sorgo branco com maior tamanho de partícula modificou a atividade metabólica da microbiota

intestinal, reduzindo o pH e aumentando o butirato nas fezes. Entretanto, a maior granulometria diminuiu a diversidade nas duas variedades de sorgo e a abundância das famílias *Lachnospiraceae* e *Ruminococcaceae*, que possuem diversos membros produtores de AGCC, o que pode ser considerada uma limitação do uso destas fontes de carboidratos em maior granulometria. O sorgo vermelho em menor granulometria, por outro lado, aumentou a abundância de *Faecalibacterium prausnitzii*, espécie produtora de butirato, apresentando potencial benefício para a saúde intestinal. Estudos posteriores são necessários para determinar os efeitos de longo prazo da utilização dos sorgos em dietas extrusadas sobre a microbiota e saúde intestinal de gatos, determinando assim seus reais benefícios e limitações.

6 REFERÊNCIAS

AAFCO - Association of American Feed Control Officials (2016) **Official Publication**. Atlanta, GA, USA.

Aldrich GC, Koppel K (2015) Pet food palatability evaluation: a review of standard assay techniques and interpretation of results with a primary focus on limitations. **Animals** 5(1):43-55.

Amerah AM, Ravindran V, Lentle RG, Thomas DG (2007) Feed particle size: Implications on the digestion and performance of poultry. **World's Poultry Science Journal** 63(3):439-455.

AOAC - Association of The Official Analytical Chemists. **Official and Tentative Methods of Analysis**. 19th ed, Gaithersburg, USA, AOAC International, 2012.

AOAC – Association of The Official Analytical Chemists (2002) **Official and Tentative Methods of Analysis**. 18th, ed, Arlington: AOAC International.

AOAC – Association of The Official Analytical Chemists. **Official and Tentative Methods of Analysis**. 16th, ed, Arlington: AOAC International, 1995.

Algya KM, Cross TWL, Leuck KN, Kastner ME, Baba T, Lye L, de Godoy MRC, Swanson KS (2018) Apparent total-tract macronutrient digestibility, serum chemistry, urinalysis, and fecal characteristics, metabolites and microbiota of adult dogs fed extruded, mildly cooked, and raw diets. **Journal of Animal Science** 96(9):3670-3683.

AlShawaqfeh MK, Wajid B, Minamoto Y, Markel M, Lidbury JA, Steiner JM, Serpedin E, Suchodolski JS (2017) A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic inflammatory enteropathy. **FEMS Microbiology Ecology** 93(11):fix136.

Appleton DJ, Rand JS, Priest J, Sunvold GD, Vickers JR (2004) Dietary carbohydrate source affects glucose concentrations, insulin secretion, and food intake in overweight cats. **Nutrition Research**, 24(6):447-467.

Arapitsas P (2012) Hydrolyzable tannin analysis in food. **Food Chemistry** 135(3): 1708-1717.

Awika JM (2011) Major cereal grains production and use around the world. In: **Advances in Cereal Science: Implications to Food Processing and Health Promotion** (p. 1-13). American Chemical Society.

Barczynska R, Slizewska K, Litwin M, Szalecki M, Kapusniak J (2016) Effects of dietary fiber preparations made from maize starch on the growth and activity of selected bacteria from the *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, and *Actinobacteria* phyla in fecal samples from obese children. **Acta Biochimica Polonica** 63(2):261-266.

Barry KA, Wojcicki BJ, Middelbos IS, Vester BM, Swanson KS, Fahey Jr GC (2010) Dietary cellulose, fructooligosaccharides, and pectin modify fecal protein catabolites and microbial populations in adult cats. **Journal of Animal Science** 88(9):2978-2987.

Bazolli RS, Vasconcellos RS, De-Oliveira LD, Sá FC, Pereira GT, Carciofi AC (2015) Effect of the particle size of maize, rice, and sorghum in extruded diets for dogs on starch gelatinization, digestibility, and the fecal concentration of fermentation products. **Journal of Animal Science** 93(6):2956-2966.

Beloshapka AN, Dowd SE, Duclos L, Swanson KS (2011) Comparison of fecal microbial communities of healthy adult dogs fed raw meat-based or extruded diets using 454 pyrosequencing. **Journal of Animal Science** 89(284).

Beloshapka AN, Dowd SE, Suchodolski JS, Steiner JM, Duclos L, Swanson KS (2013) Fecal microbial communities of healthy adult dogs fed raw meat-based diets with or without inulin or yeast cell wall extracts as assessed by 454 pyrosequencing. **FEMS Microbiology Ecology** 84(3):532-541.

Benjamini Y, Hochberg Y (1995) Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. **Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)** 57(1):289-300.

Bermingham EN, Young W, Kittelmann S, Kerr KR, Swanson KS, Roy NC, Thomas DG (2013) Dietary format alters fecal bacterial populations in the domestic cat (*Felis catus*) **MicrobiologyOpen** 2(1):173-181.

Bermingham EN, Maclean P, Thomas DG, Cave NJ, Young W (2017) Key bacterial families (Clostridiaceae, Erysipelotrichaceae and Bacteroidaceae) are related to the digestion of protein and energy in dogs. **PeerJ** 5:e3019.

Bermingham EN, Young W, Butowski CF, Moon CD, Maclean PH, Rosendale D, Cave NJ, Thomas DG (2018) The fecal microbiota in the domestic cat (*Felis catus*) is influenced by interactions between age and diet; a five year longitudinal study. **Frontiers in Microbiology** 9 1231.

Biddle A, Stewart L, Blanchard J, Leschine S (2013) Untangling the genetic basis of fibrolytic specialization by Lachnospiraceae and Ruminococcaceae in diverse gut communities. **Diversity** 5(3), 627-640.

Birkett A, Muir J, Phillips J, Jones G, O'Dea K (1996) Resistant starch lowers fecal concentrations of ammonia and phenols in humans. **The American Journal of Clinical Nutrition** 63(5):766-772.

Blachier F, Mariotti F, Huneau JF, Tomé D (2007) Effects of amino acid-derived luminal metabolites on the colonic epithelium and physiopathological consequences. **Amino Acids** 33(4):547-562.

Bolyen E et al. (2019) Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. **Nature Biotechnology** 37(8):852-857.

Böttcher MF, Nordin EK, Sandin A, Midtvedt T, Björkstén B. (2000). Microflora-associated characteristics in faeces from allergic and nonallergic infants. **Clinical & Experimental Allergy** 30:1591.

Buddington RK, Sunvold GD (1998) Fermentable fiber and the gastrointestinal tract ecosystem. **Recent Advances in Canine and Feline Nutrition** 2:449-462.

Butowski CF, Thomas DG, Young W, Cave NJ, McKenzie CM, Rosendale DI, Bermingham EN (2019) Addition of plant dietary fibre to a raw red meat high protein, high fat diet, alters the faecal bacteriome and organic acid profiles of the domestic cat (*Felis catus*). **PloS One** 14(5).

Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJA, Holmes SP (2016) DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data. **Nature Methods** 13(7):581.

Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, Berg-Lyons D, Lozupone CA, Turnbaugh PJ, Fierer N, Knight R (2011) Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 108(Supplement 1):4516-4522.

Carciofi AC, Takakura FS, De-Oliveira LD, Teshima E, Jeremias JT, Brunetto MA, Prada F (2008) Effects of six carbohydrate sources on dog diet digestibility and post-prandial glucose and insulin response. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 92(3):326-336.

Cardona ME, Collinder E, Stern S, Tjellström B, Norin E, Midtvedt T (2005) Correlation between faecal iso-butyric and iso-valeric acids in different species. **Microbial Ecology in Health and Disease** 17(3):177-182.

Chen W, et al (2010) Human intestinal lumen and mucosa-associated microbiota in patients with colorectal cancer. **PloS One** 7(6).

De-Oliveira LD, Carciofi AC, Oliveira MCC, Vasconcellos RS, Bazolli RS, Pereira GT, Prada F (2008) Effects of six carbohydrate sources on diet digestibility and postprandial glucose and insulin responses in cats. **Journal of Animal Science**, 86(9):2237-2246.

den Besten G, van Eunen K, Groen AK, Venema K, Reijngoud DJ, Bakker BM (2013) The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. **Journal of Lipid Research** 54(9):2325-2340.

Deng P, Swanson KS (2015) Gut microbiota of humans, dogs and cats: current knowledge and future opportunities and challenges. **British Journal of Nutrition**, 113(S1):S6-S17.

DeSantis TZ et al (2006) Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. **Applied Environmental Microbiology** 72(7):5069-5072.

Deusch O, O'Flynn C, Colyer A, Morris P, Allaway D, Jones PG, Swanson KS (2014). Deep Illumina-based shotgun sequencing reveals dietary effects on the structure and function of the fecal microbiome of growing kittens. **PloS One** 9(7).

Di Donfrancesco B, Koppel K, Aldrich CG (2018) Pet and owner acceptance of dry dog foods manufactured with sorghum and sorghum fractions. **Journal of Cereal Science** 83:42-48.

Duncan SH, Louis P, Flint HJ (2004) Lactate-utilizing bacteria, isolated from human feces, that produce butyrate as a major fermentation product. **Applied and Environmental Microbiology** 70(10):5810-5817.

Duncan SH, Hold GL, Harmsen HJ, Stewart CS, Flint HJ (2002) Growth requirements and fermentation products of *Fusobacterium prausnitzii*, and a proposal to reclassify it as *Faecalibacterium prausnitzii* gen. nov., comb. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology** 52(6):2141-2146.

Erwin ES, Marco GJ, Emery EM (1961) Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science** 44:1768-1771.

Fahey GC (2003) Research needs companion animal nutrition, In: Kvamme JL; Phillips TD(Eds,), **Pet Food Technology**, Mt, Morris, Illinois: [s,n,], p, 135–140.

FAO (2017) FAOSTAT, **Food and Agriculture Organization of the United Nation**. Disponível em: http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC Acesso em 02/12/2019.

Fekete SG, Hullár I, Andrásofszky E, Kelemen F (2004) Effect of different fibre types on the digestibility of nutrients in cats. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, 88(3-4):138-142.

Fenner H (1965) Method for determining total volatile bases in rumen fluid by steam distillation. **Journal of Dairy Science** 48:249-251.

Fischer MM, Kessler AM, Kieffer DA, Knotts TA, Kim K, Wei A, Ramsey JJ, Fascetti AJ (2017) Effects of obesity, energy restriction and neutering on the faecal microbiota of cats. **British Journal of Nutrition** 118(7):513-524Fischer MM et al (2012) Fiber fermentability effects on energy and macronutrient digestibility, fecal traits, postprandial metabolite responses, and colon histology of overweight cats. **Journal of Animal Science**, 90(7):2233-2245.

Flint HJ, Scott KP, Louis P, Duncan SH (2012) The role of the gut microbiota in nutrition and health. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology** 9(10):577.

Fouhse JM, Gänzle MG, Beattie AD, Vasanthan T, Zijlstra RT (2017) Whole-grain starch and fiber composition modifies ileal flow of nutrients and nutrient availability in the hindgut, shifting fecal microbial profiles in pigs. **The Journal of Nutrition** 147(11):2031-2040.

Frank DN, Amand ALS, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR (2007) Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 104(34):13780-13785.

Frei R et al. (2013) Histamine receptor 2 modifies dendritic cell responses to microbial ligands. **Journal of Allergy and Clinical Immunology** 132(1):194-204.

Fuentes-Zaragoza E, Riquelme-Navarrete MJ, Sánchez-Zapata E, Pérez-Álvarez JA (2010) Resistant starch as functional ingredient: A review. **Food Research International** 43(4):931-942.

Garcia-Mazcorro JF, Lanerie DJ, Dowd SE, Paddock CG, Grützner N, Steiner JM, Ivanek R, Suchodolski JS (2011) Effect of a multi-species synbiotic formulation on fecal bacterial microbiota of healthy cats and dogs as evaluated by pyrosequencing. **FEMS Microbiology Ecology** 78(3):542-554.

Garcia-Mazcorro JF, Barcenas-Walls JR, Suchodolski JS, Steiner JM (2017) Molecular assessment of the fecal microbiota in healthy cats and dogs before and during supplementation with fructo-oligosaccharides (FOS) and inulin using high-throughput 454-pyrosequencing. **PeerJ**, 5, e3184.

Gavazza A, Rossi G, Lubas G, Cerquetella M, Minamoto Y, Suchodolski JS (2018) Faecal microbiota in dogs with multicentric lymphoma. **Veterinary and Comparative Oncology** 16(1):E169-E175.

Goddard MS, Young G, Marcus R (1984) The effect of amylose content on insulin and glucose responses to ingested rice, **The American Journal of Clinical Nutrition**, 39(3):388-392.

Gonçalves KNV (2016), Granulometria da matéria prima e configuração da extrusora sobre os parâmetros de processo, características do extrusado e digestibilidade de rações para gatos. Tese (Doutorado), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, Brasil. Disponível em http://hdl.handle.net/11449/144285

Goodrich JK et al. (2014) Human genetics shape the gut microbiome. **Cell** 159(4):789-799

Griffin RW (2003) Palatability. In: Kvamme JL, Phillips TD, editors**, Petfood Technology**, Watt Publishing Co, Mt, Morris IL, 176-193

Haenen D et al (2013). Resistant starch induces catabolic but suppresses immune and cell division pathways and changes the microbiome in the proximal colon of male pigs. **The Journal of Nutrition** 143(12):1889-1898.

Heiman ML, Greenway FL (2016). A healthy gastrointestinal microbiome is dependent on dietary diversity. **Molecular Metabolism** 5(5):317-320.

Handl S, Dowd SE, Garcia-Mazcorro JF, Steiner JM, Suchodolski JS (2011) Massive parallel 16S rRNA gene pyrosequencing reveals highly diverse fecal bacterial and fungal communities in healthy dogs and cats. **FEMS Microbiology Ecology** 76(2):301-310.

Honneffer JB, Minamoto Y, Suchodolski JS (2014) Microbiota alterations in acute and chronic gastrointestinal inflammation of cats and dogs. **World Journal of Gastroenterology: WJG** 20(44):16489.

Hooda S, Boler BMV, Kerr KR, Dowd SE, Swanson KS (2013) The gut microbiome of kittens is affected by dietary protein: carbohydrate ratio and associated with blood metabolite and hormone concentrations. **British Journal of Nutrition** 109(9):1637-1646.

Hoseney RC (1994) Estimation of degree of cook (measurement of starch gelatinization). In: R.R. McEllhiney (Ed.), **Feed Manufacturing Technology IV** 560-561. Arlington: AFIA.

Imhann F et al. (2018) Interplay of host genetics and gut microbiota underlying the onset and clinical presentation of inflammatory bowel disease. **Gut** 67(1):108-119.

Inness VL, McCartney AL, Khoo C, Gross KL, Gibson GR (2007) Molecular characterisation of the gut microflora of healthy and inflammatory bowel disease cats using fluorescence in situ hybridisation with special reference to *Desulfovibrio* spp. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 91(1-2):48-53.

Janeczko S et al. (2008) The relationship of mucosal bacteria to duodenal histopathology, cytokine mRNA, and clinical disease activity in cats with inflammatory bowel disease. **Veterinary Microbiology** 128(1-2):178-193

Jarett JK, Carlson A, Serao MR, Strickland J, Serfilippi L, Ganz HH (2019) Diets with and without edible cricket support a similar level of diversity in the gut microbiome of dogs. **PeerJ,** 7, e7661.

Jia J, Frantz N, Khoo C, Gibson GR, Rastall RA, McCartney AL (2011) Investigation of the faecal microbiota of kittens: monitoring bacterial succession and effect of diet. **FEMS Microbiology Ecology** 78(2):395-404.

Kalenyak K, Isaiah A, Heilmann RM, Suchodolski JS, Burgener IA (2018) Comparison of the intestinal mucosal microbiota in dogs diagnosed with idiopathic inflammatory bowel disease and dogs with food-responsive diarrhea before and after treatment. **FEMS Microbiology Ecology** 94(2):fix173

Kanakupt K, Vester Boler BM, Dunsford BR, Fahey Jr GC (2011) Effects of short-chain fructooligosaccharides and galactooligosaccharides, individually and in combination, on nutrient digestibility, fecal fermentative metabolite concentrations, and large bowel microbial ecology of healthy adults cats. **Journal of Animal Science** 89(5):1376-1384.

Kank S, et al (2010) Dysbiosis of fecal microbiota in Crohn's disease patients as revealed by a custom phylogenetic microarray. **Inflammatory Bowel Diseases** 16(12):2034-2042.

Kerr KR, Dowd SE, Swanson, KS (2014) Faecal microbiota of domestic cats fed raw whole chicks v. an extruded chicken-based diet. **Journal of Nutritional Science** 3.

Kieler IN, et al. (2019) Diabetic cats have decreased gut microbial diversity and a lack of butyrate producing bacteria. **Scientific Reports** 9(1):1-13.

Kienzle E (1993) Carbohydrate metabolism of the cat: Digestion of starch, **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 69(1-5):102-114.

Kienzle E (1994a) Effect of carbohydrates on digestion in the cat, **The Journal of Nutrition** 124(12):2568S.

Kienzle E (1994b) Blood sugar levels and renal sugar excretion after the intake of high carbohydrate diets in cats, **The Journal of Nutrition** 124(12) 2563S.

Koh A, De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Bäckhed F (2016) From dietary fiber to host physiology: short-chain fatty acids as key bacterial metabolites. **Cell** 165(6):1332-1345.

Kovatcheva-Datchary P, et al (2019) Linking phylogenetic identities of bacteria to starch fermentation in an in vitro model of the large intestine by RNA-based stable isotope probing, **Environmental Microbiology** 11(4):914–26.

Laflamme, D (1997) Development and validation of a body condition score system for cats: a clinical tool. **Feline Practice** 25(5-6):13-18.

Liang Y, Liang S, Zhang Y, Deng Y, He Y, Chen Y, Liu C, Lin C, Yang Q (2019) Oral administration of compound probiotics ameliorates HFD-Induced gut microbe dysbiosis and chronic metabolic inflammation via the G protein-coupled receptor 43 in non-alcoholic fatty liver disease rats. **Probiotics and Antimicrobial Proteins** 11(1):175-185.

Lin B, Gong J, Wang Q, Cui S, Yu H, Huang B (2011) In-vitro assessment of the effects of dietary fibers on microbial fermentation and communities from large intestinal digesta of pigs. **Food Hydrocolloids** 25(2):180-188.

Lin HC, Visek WJ (1991) Large intestinal pH and ammonia in rats: dietary fat and protein interactions. **The Journal of nutrition** 121(6):832-843.

Liu C, et al (2008) Reclassification of *Clostridium coccoides*, *Ruminococcus hansenii*, *Ruminococcus hydrogenotrophicus*, *Ruminococcus luti*, *Ruminococcus productus* and *Ruminococcus schinkii* as *Blautia coccoides* gen. nov., comb. nov., *Blautia hansenii* comb. nov., *Blautia hydrogenotrophica* comb. nov., *Blautia luti* comb. nov., *Blautia producta* comb. nov., *Blautia schinkii* comb. nov. and description of *Blautia wexlerae* sp. nov., isolated from human faeces. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology** 58(8):1896-1902.

Lobo AR, SILVA, GM de L (2003) Amido resistente e suas propriedades físico-químicas, **Revista de Nutrição** 16(2): 219–226.

Lopez-Siles, M. et al (2012) Cultured representatives of two major phylogroups of human colonic *Faecalibacterium prausnitzii* can utilize pectin, uronic acids, and host-derived substrates for growth. **Applied and Environmental Microbiology** 78(2):420-428.

Louis P, Duncan SH, McCrae SI, Millar J, Jackson MS, Flint, HJ (2004) Restricted distribution of the butyrate kinase pathway among butyrate-producing bacteria from the human colon. **Journal of Bacteriology** 186(7):2099-2106.

Loureiro BA et al (2017) Insoluble fibres, satiety and food intake in cats fed kibble diets. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 101(5):824-834.

Lozupone C, Knight R (2005) UniFrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities. **Appl. Environ. Microbiol** 71(12):8228-8235.

Lubbs DC, Vester BM, Fastinger ND, Swanson KS (2009) Dietary protein concentration affects intestinal microbiota of adult cats: a study using DGGE and qPCR to evaluate differences in microbial populations in the feline gastrointestinal tract. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 93(1):113-121.

Macfarlane GT, Gibson GR, Beatty E, Cummings JH (1992) Estimation of short-chain fatty acid production from protein by human intestinal bacteria based on branched-chain fatty acid measurements. **FEMS Microbiology Ecology** 10(2):81-88.

Macfarlane GT, Gibson GR (1995) Microbiological aspects of the production of short-chain fatty acids in the large bowel. **Physiological and Clinical Aspects of Short-Chain Fatty Acids** 87-105.

Marchesi JR, Holmes E, Khan F, Kochhar S, Scanlan P, Shanahan F, Wilson ID, Wang Y (2007) Rapid and noninvasive metabonomic characterization of inflammatory bowel disease. **Journal of Proteome Research** 6:546.

Marsilio S, Pilla R, Sarawichitr B, Chow B, Hill SL, Ackermann MR, Estep JS, Lidbury JA, Steiner JM, Suchodolski JS (2019) Characterization of the fecal microbiome in cats with inflammatory bowel disease or alimentary small cell lymphoma. **Scientific Reports** 9(1):1-11.

Martínez I, Kim J, Duffy PR, Schlegel VL, Walter J (2010) Resistant starches types 2 and 4 have differential effects on the composition of the fecal microbiota in human subjects. **PloS One** *5*(11).

Masuoka H, Shimada K, Kiyosue-Yasuda T, Kiyosue M, Oishi Y, Kimura S, Yamada A, Hirayama K (2016) Transition of the intestinal microbiota of dogs with age. **Bioscience of Microbiota, Food and Health** BMFH-2016.

Masuoka H et al. (2017) Transition of the intestinal microbiota of cats with age. **PloS One** 12(8).

Meehan CJ, Beiko RG (2014) A phylogenomic view of ecological specialization in the Lachnospiraceae, a family of digestive tract-associated bacteria. **Genome Biology and Evolution** 6(3):703-713.

Middelbos IS, Boler BMV, Qu A, White BA, Swanson KS, Fahey Jr GC (2010) Phylogenetic characterization of fecal microbial communities of dogs fed diets with or without supplemental dietary fiber using 454 pyrosequencing. **PloS One** 5(3).

Michael AJ (2018) Polyamine function in archaea and bacteria. **Journal of Biological Chemistry** 293(48):18693-18701.

Minamoto Y, Hooda S, Swanson KS, Suchodolski JS (2012) Feline gastrointestinal microbiota. **Animal Health Research Reviews** 13(1):64-77

Moreau NM et al (2003) Restoration of the integrity of rat caeco-colonic mucosa by resistant starch, but not by fructo-oligosaccharides, in dextran sulfate sodium-induced experimental colitis. **British Journal of Nutrition** 90(1):75-85.

Morris JG, Trudell J, Pencovic T (1977) Carbohydrate digestion by the domestic cat (Felis catus), **British Journal of Nutrition** 37(3):365-373.

Muir JG, O'dea K (1992) Measurement of resistant starch: factors affecting the amount of starch escaping digestion in vitro. **The American Journal of Clinical Nutrition** 56(1):23-7

NATIONAL RESEARCH COUNCIL et al (2006) **Nutrient Rrequirements of Dogs and Cats**, National Academies Press, Washington, DC.

Nugent AP (2005) Health properties of resistant starch, **Nutrition Bulletin** 30:27-54.

Noack J, Kleessen B, Proll J, Dongowski G, Blaut M (1998) Dietary guar gum and pectin stimulate intestinal microbial polyamine synthesis in rats. **The Journal of Nutrition** 128(8):1385-1391.

Nousiainen J (1991) Comparative observations on selected probiotics and olaquindox as feed additives for piglets around weaning: 2. Effect on villus length and crypt depth in the jejunum, ileum, caecum and colon. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 66(1-5):224-230.

Ogué-Bon E, Gibson G, Rastall R (2010) The application of probiotics, prebiotics and synbiotics in companion animals. **Food Science and Technology Bulletin** 6:91-104.

Onrust L, Van Driessche K, Ducatelle R, Schwarzer K, Haesebrouck F, Van Immerseel F (2018) Valeric acid glyceride esters in feed promote broiler performance and reduce the incidence of necrotic enteritis. **Poultry Science** 97(7):2303-2311.

Ormerod KL et al. (2016) Genomic characterization of the uncultured Bacteroidales family S24-7 inhabiting the guts of homeothermic animals. **Microbiome** 4(1):36.

Pallotto MR, De Godoy MR, Holscher HD, Buff PR, Swanson KS (2018) Effects of weight loss with a moderate-protein, high-fiber diet on body composition, voluntary physical activity, and fecal microbiota of obese cats. **American Journal of Veterinary Research** 79(2):181-190.

Panasevich MR et al (2015) Modulation of the faecal microbiome of healthy adult dogs by inclusion of potato fibre in the diet. **British Journal of Nutrition** 113(1): 125-133.

Peixoto MC, Ribeiro ÉM, Maria APJ, Loureiro BA, Di Santo LG, Putarov TC, Yoshitoshi FN, Pereira GT, Sá LRM, Carciofi AC (2018) Effect of resistant starch on the intestinal health of old dogs: fermentation products and histological features of the intestinal mucosa. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 102(1):e111-e121.

Pinna C et al (2018) Influence of dietary protein and fructooligosaccharides on fecal fermentative end-products, fecal bacterial populations and apparent total tract digestibility in dogs. **BMC Veterinary Research** 14(1):106.

Polesi LF (2011) Amido resistente: aplicações e métodos de produção, **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos** 29:2

Price ML, Van Scoyoc S, Butler LG (1978) A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 26(5):1214-1218.

Pryce JD (1969) A modification of the Barker-Summerson method for the determination of lactic acid. **Analyst** 94(1125):1151-1152.

Raigond P, Ezekiel R, Raigond B (2015) Resistant starch in food: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 95(10):1968-1978.

Rajilić-Stojanović M, de Vos WM (2014) The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota. **FEMS Microbiology Reviews** 38(5):996-1047.

Ramadan Z, Xu H, Laflamme D, Czarnecki-Maulden G, Li QJ, Labuda J, Bourqui B (2014) Fecal Microbiota of Cats with Naturally Occurring Chronic Diarrhea Assessed Using 16S r RNA Gene 454-Pyrosequencing before and after Dietary Treatment. **Journal of Veterinary Internal Medicine** 28(1):59-65.

Rastall RA (2004) Bacteria in the gut: friends and foes and how to alter the balance. **Journal of Nutrition** 134:2022S-2026S.

Reddy BV, Ashok Kumar A, Sanjana Reddy P (2010) Recent advances in sorghum improvement research at ICRISAT. **Kasetsart Journal (Natural Science)**, 44:499-506.

Ribeiro ÉM, Peixoto MC, Putarov TC, Monti M, Pacheco PDG, Loureiro BA, Pereira GT, Carciofi AC (2019) The effects of age and dietary resistant starch on digestibility,

fermentation end products in faeces and postprandial glucose and insulin responses of dogs. **Archives of Animal Nutrition** 73(6):485-504.

Rooney LW, Pflugfelder RL (1986) Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. **Journal of Animal Science**, 63(5):1607-1623.

Rooney LW, Serna-Saldivar SO (2000) Sorghum. In: Kulp K, Ponte Jr JG (Eds.) **Handbook of Cereal Science and Technology – Second Edition**. New York. Marcel Dekker. 149-000.

Round JL, Mazmanian SK (2009) The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. **Nature Reviews Immunology** 9(5):313-323.

Roy CC, Kien CL, Bouthillier L, Levy E (2006) Short-chain fatty acids: ready for prime time? **Nutrition in Clinical Practice** 21(4):351-366.

Ruppin H, Bar-Meir S, Soergel KH, Wood CM, Schmitt MG (1980) Absorption of short-chain fatty acids by the colon. **Gastroenterology** 78(6):1500-1507.

Russell JB, Sniffen CJ, Van Soest PJ (1983) Effect of carbohydrate limitation on degradation and utilization of casein by mixed rumen bacteria. **Journal of Dairy Science** 66:763-775.

Sá FC, Vasconcellos RS, Brunetto MA, Filho FOR, Gomes MOS, Carciofi AC (2013) Enzyme use in kibble diets formulated with wheat bran for dogs: effects on processing and digestibility. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 97:51-59.

Sajilata MG, Singhal RS, Kulkarni PR (2006) Resistant Starch - A Review, **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety** 5(1):1–17

Sandri M, Dal Monego S, Conte G, Sgorlon S, Stefanon B (2016) Raw meat based diet influences faecal microbiome and end products of fermentation in healthy dogs. **BMC Veterinary Research** 13(1):65.

Santos JPF et al (2018) Effects of dietary yeast cell wall on faecal bacteria and fermentation products in adult cats. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 102(4):1091-1101.

Sauter SN, Benyacoub J, Allenspach K, Gaschen F, Ontsouka E, Reuteler G, Cavadini C, Knorr R, Blum JW (2006) Effects of probiotic bacteria in dogs with food responsive diarrhoea treated with an elimination diet. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 90(7-8):269-277.

Seshadri R et al (2018) Cultivation and sequencing of rumen microbiome members from the Hungate1000 Collection. **Nature Biotechnology** 36(4):359.

Shah P, Swiatlo E (2008) A multifaceted role for polyamines in bacterial pathogens. **Molecular Microbiology** 68(1):4-16.

Smolinska S, Jutel M, Crameri R, O'mahony L (2014) Histamine and gut mucosal immune regulation. **Allergy** 69(3):273-281.

Sokol H, Seksik P, Furet JP, Firmesse O, Nion-Larmurier I, Beaugerie L, Cosnes J, Corthier G, Marteau P, Doré J (2009) Low counts of Faecalibacterium prausnitzii in colitis microbiota. **Inflammatory Bowel Diseases** 15(8):1183-1189.

Sokol H et al (2008) Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. Proceedings of the **National Academy of Sciences** 105(43):16731-16736.

Song H, Yoo Y, Hwang J, Na YC, Kim HS (2016) *Faecalibacterium prausnitzii* subspecies–level dysbiosis in the human gut microbiome underlying atopic dermatitis. **Journal of Allergy and Clinical Immunology** 137(3):852-860.

Spears JK, Fahey GC (2004) Resistant starch as related to companion animal nutrition. **Journal of AOAC International** 87(3):787-791.

Storey JD, Tibshirani R (2003) Statistical significance for genomewide studies. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 100(16):9440-9445

Suchodolski JS, Xenoulis PG, Paddock CG, Steiner JM, Jergens AE (2010) Molecular analysis of the bacterial microbiota in duodenal biopsies from dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. **Veterinary Microbiology** 142(3-4):394-400.

Suchodolski JS (2011) Companion animals symposium: microbes and gastrointestinal health of dogs and cats. **Journal of Animal Science** 89(5):1520-1530.

Suchodolski JS, Dowd SE, Wilke V, Steiner JM, Jergens AE (2012a) 16S rRNA gene pyrosequencing reveals bacterial dysbiosis in the duodenum of dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. **PloS One** 7(6).

Suchodolski JS et al. (2012b) The fecal microbiome in dogs with acute diarrhea and idiopathic inflammatory bowel disease. **PloS One**, v. 7, n. 12.

Suchodolski JS, Foster ML, Sohail MU, Leutenegger C, Queen EV, Steiner JM, Marks SL (2015) The fecal microbiome in cats with diarrhea. **PloS One** 10(5).

Summers SC, Quimby JM, Isaiah A, Suchodolski JS, Lunghofer PJ, Gustafson DL (2019) The fecal microbiome and serum concentrations of indoxyl sulfate and p-cresol sulfate in cats with chronic kidney disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine** 33(2):662-669.

Sun Y, Zhou L, Fang L, Su Y, Zhu W (2015) Responses in colonic microbial community and gene expression of pigs to a long-term high resistant starch diet. **Frontiers in Microbiology** 6:877.

Sunvold GD, et al (1995) In vitro fermentation of cellulose, beet pulp, citrus pulp, and citrus pectin using fecal inoculum from cats, dogs, horses, humans, and pigs and ruminal fluid from cattle. **Journal of Animal Science** 73(12): 3639-3648.

Suzuki T, Yoshida S, Hara H (2008) Physiological concentrations of short-chain fatty acids immediately suppress colonic epithelial permeability. **The British Journal of Nutrition** 100:297.

Svihus B, UHlen AK, Harstad OM (2005) Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review, **Animal Feed Science & Technology** 122:303-320.

Swanson KS et al (2002). Fructooligosaccharides and Lactobacillus acidophilus modify gut microbial populations, total tract nutrient digestibilities and fecal protein catabolite concentrations in healthy adult dogs. **The Journal of nutrition**, 132(12):3721-3731.

Tazoe H, Otomo Y, Kaji I, Tanaka R, Karaki SI, Kuwahara A (2008) Roles of short-chain fatty acids receptors, GPR41 and GPR43 on colonic functions. **Journal of Physiology and Pharmacology** 59(2):251.

Terada A, Hara H, Kato S, Kimura T, Fujimori I, Hara K, Maruyama T, Mitsuoka T (1993) Effect of lactosucrose (4G-β-D-galactosylsucrose) on fecal flora and fecal putrefactive products of cats. **Journal of Veterinary Medical Science** 55(2):291-295.

Tims S, Derom C, Jonkers DM, Vlietinck R, Saris WH, Kleerebezem M, de Vos W, Zoetendal EG (2013) Microbiota conservation and BMI signatures in adult monozygotic twins. **The ISME Journal** 7(4):707-717.

Thomas F, Hehemann JH, Rebuffet E, Czjzek M, Michel G (2011) Environmental and gut bacteroidetes: the food connection. **Frontiers in Microbiology** 2:93.

Twomey LN, Pethick DW, Rowe JB, Choct M, Pluske JR, Brown W, Laviste MC (2002) The use of sorghum and corn as alternatives to rice in dog foods. **The Journal of Nutrition** 132(6):1704S-1705S.

Vale SR, Gloria MB (1997) Determination of biogenic amines in cheese. **Journal of AOAC International** 80(5):1006-1012.

Van den Abbeele P, Moens F, Pignataro G, Schnurr J, Ribecco C, Gramenzi A, Marzorati M (2020) Yeast-derived formulations are differentially fermented by the canine and feline microbiome as assessed in a novel *in vitro* colonic fermentation model. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**.

Vester BM, Dalsing BL, Middelbos IS, Apanavicius CJ, Lubbs DC, Swanson KS (2009) Faecal microbial populations of growing kittens fed high-or moderate-protein diets. **Archives of Animal Nutrition** 63(3):254-265.

Vieira PF (1980) **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes**. 98f. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

Vinolo, MA, Rodrigues HG, Nachbar RT, Curi R (2011) Regulation of inflammation by short chain fatty acids. **Nutrients**, 3(10):858-876.

Walker AW, et al. (2011) Dominant and diet-responsive groups of bacteria within the human colonic microbiota. **The ISME Journal** 5(2):220-230.

Walters WA, Xu Z, Knight R (2014) Meta-analyses of human gut microbes associated with obesity and IBD. **FEBS Letters** 588(22):4223-4233.

Weese JS, Nichols J, Jalali M, Litster A (2015) The rectal microbiota of cats infected with feline immunodeficiency virus infection and uninfected controls. **Veterinary Microbiology** 180(1-2):96-102.

Winter J, Nyskohus L, Young GP, Hu Y, Conlon MA, Bird AR, Topping DL, Le Leu RK (2011) Inhibition by resistant starch of red meat–induced promutagenic adducts in mouse colon. **Cancer Prevention Research** 4(11):1920-1928.

Xenoulis PG, Palculict B, Allenspach K, Steiner JM, Van House AM, Suchodolski JS (2008) Molecular-phylogenetic characterization of microbial communities imbalances in the small intestine of dogs with inflammatory bowel disease. **FEMS Microbiology Ecology** 66(3):579-589.

Xiong Y, Zhang P, Warner RD, Fang Z (2019) Sorghum Grain: From Genotype, Nutrition, and Phenolic Profile to Its Health Benefits and Food Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety** 18(6):2025-2046.

Young W, Moon CD, Thomas DG, Cave NJ, Bermingham EN (2016. Pre-and post-weaning diet alters the faecal metagenome in the cat with differences in vitamin and carbohydrate metabolism gene abundances. **Scientific Reports** 6:34668.

Zanotto DL, Bellaver C. **Método de determinação da granulometria de ingredientes para uso em rações de suínos e aves**. Concórdia: Embrapa-Cnpsa, 1996.