

ANÁLISE *IN SILICO* DE TANASES BACTERIANAS COMO ESTRATÉGIA PARA MELHORA DA QUALIDADE NUTRICIONAL DE SILAGENS COM ALTO TEOR DE TANINOS

OLIVEIRA, L.F.¹; TAVARES, A.M.F.¹; FONSECA, S.A.¹; SANTOS, F.G.²; MATOS, A.F.³; ALMEIDA, A.C.⁴

¹Mestrando(a) do Programa de Pós Graduação em Produção Animal da UFMG – *Campus* Montes Claros; ²Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Produção Vegetal da UFMG – *Campus* Montes Claros; ³Zootecnista graduado pela UFMG – *Campus* Montes Claros; ⁴Docente da UFMG – *Campus* Montes Claros.

Introdução

Os taninos representam um desafio na produção de silagem por comprometerem a digestibilidade e a qualidade do volumoso. Essas substâncias polifenólicas formam complexos com proteínas e carboidratos, reduzindo sua disponibilidade durante a fermentação e a digestão (Huang *et al.*, 2022). Além disso, seu alto teor inibe a atividade microbiana, dificultando uma fermentação eficiente. Superar esses efeitos é essencial para garantir uma silagem de qualidade e uma nutrição adequada aos animais (Lazzari *et al.*, 2023).

Inoculantes para silagem, compostos por microrganismos, são amplamente utilizados para otimizar a fermentação e conservar o valor nutricional da forragem. Esses microrganismos competem com bactérias indesejáveis, reduzem o pH e contribuem para a estabilidade aeróbica do material ensilado. Pesquisas recentes têm se concentrado em inoculantes com potencial para degradar ou neutralizar os efeitos antinutricionais dos taninos (Van den Bossche *et al.*, 2024).

Nesse contexto, a modelagem molecular e a bioinformática surgem como ferramentas promissoras, permitindo prever interações entre enzimas bacterianas e taninos, além de identificar cepas microbianas com alto potencial biotecnológico. Ao analisar estruturas moleculares dos taninos e a atividade de enzimas como as tanases, os pesquisadores podem desenvolver inoculantes mais eficazes, especialmente voltados para silagens de forrageiras ricas em taninos (Guan *et al.*, 2021; Ristinmaa *et al.*, 2022). O objetivo deste trabalho é realizar uma análise *in silico* de tanases bacterianas frente a diferentes estruturas de taninos, utilizando ferramentas computacionais para investigar afinidades e interações.

Material e Métodos

Seleção das Tanases Bacterianas

Foram selecionadas três tanases bacterianas com estruturas tridimensionais disponíveis no banco de dados Protein Data Bank (PDB): 6YQ4 (*Fusobacterium nucleatum*), 3WA6 (*Lactobacillus plantarum*) e 7Q6Y (*Clostridium butyricum*). As estruturas foram obtidas no formato padrão do PDB, contendo as coordenadas atômicas necessárias para análises estruturais e simulações de interação molecular.

Seleção dos Taninos

Foram escolhidos compostos representativos das classes de proantocianidinas e prodelfinidinas, com potencial relevância nutricional e antinutricional em sistemas de alimentação animal. As estruturas moleculares dos taninos foram recuperadas do banco de dados PubChem,

utilizando o formato SMILES (*Simplified Molecular Input Line Entry System*), que permite a representação linear da composição e conectividade dos átomos nas moléculas. Os taninos utilizados foram: procianidina B1 (CID 11250133), procianidina B2 (CID 122738), procianidina B3 (CID 122738) e prodelfinidina B3 (CID 13831068).

Predição dos sítios de ligação e docking molecular

A identificação dos sítios ativos nas tanases foi realizada por meio do servidor PrankWeb, o qual emprega o algoritmo P2Rank para prever regiões de interação com base na estrutura tridimensional da proteína. Posteriormente, as simulações de acoplamento molecular (*docking*) foram conduzidas no mesmo ambiente computacional, a fim de avaliar o potencial de interação entre as tanases e os taninos se.

Resultados e Discussão

As procianidinas e prodelfinidina B3 são importantes taninos condensados comumente encontrados em silagem e forragem, como leguminosas e algumas gramíneas. As procianidinas (B1, B2, B3) consistem em dímeros de catequina/epicatequina, enquanto a prodelfinidina B3 contém unidades de galocatequina, contribuindo para diferenças na reatividade e nos efeitos biológicos (Ye *et al.*, 2022, Rubert-Nason *et al.*, 2023).

O PrankWeb é uma ferramenta de predição de sítios de ligação em proteínas que combina o algoritmo P2Rank com análises de conservação evolutiva e dados estruturais. Ele atribui a cada *pocket* predito um escore de confiança (0 a 1), onde valores próximos a 1 indicam alta probabilidade de ser um sítio de ligação biologicamente relevante, enquanto escores baixos (< 0,5) sugerem predições menos confiáveis. Na interpretação dos resultados, priorizam-se *pockets* com escore elevado, localizados em regiões conservadas ou funcionalmente importantes (como domínios catalíticos), e complementa-se a análise com *docking* molecular para avaliar a viabilidade da ligação - onde energias mais negativas indicam interações mais estáveis (Polák *et al.*, 2025).

A análise dos escores de confiança (Tabela 1) revela que nenhum dos *pockets* preditos nas tanases avaliadas apresentou valores superiores a 0,5, indicando baixa confiabilidade estrutural. Ainda assim, a enzima de *F. nucleatum* (6YQ4) exibiu os escores mais elevados do conjunto, especialmente no *pocket* 1 (0,283), seguido por *L. plantarum* (3WA6) e *C. butyricum* (7Q6Y), cujos *pockets* apresentaram escores ainda mais reduzidos. Apesar da limitação, essas predições fornecem uma base inicial para investigação de possíveis sítios ativos, desde que complementadas por validação experimental.

Em contrapartida, os dados de *docking* molecular (Tabela 2) indicam interações estáveis entre os compostos fenólicos testados e alguns dos *pockets* preditos. Destaca-se a tanase de *C. butyricum*, cujos *pocket* 2 e principalmente *pocket* 3 apresentaram as energias de ligação mais negativas, especialmente com procianidinas B2 e B3, sugerindo alta afinidade. A enzima de *F. nucleatum* também demonstrou bons resultados no *pocket* 2, ao passo que seu *pocket* 1 apresentou valores positivos, sinalizando interações desfavoráveis. Já *L. plantarum* mostrou interações moderadas, com valores negativos em todos os bolsões, porém menos expressivos que os observados para *C. butyricum*.

Considerações finais

Conclui-se que a tanase de *C. butyricum* se destaca como a opção mais promissora para investigações futuras, tanto pela sua elevada afinidade com os compostos testados quanto pelo seu

potencial biotecnológico. Essa bactéria é amplamente utilizada como inoculante em silagens, onde atua na preservação da forragem e na otimização do processo fermentativo. A descoberta de tanases capazes de interagir com compostos fenólicos pode abrir novas possibilidades para o desenvolvimento de bioinoculantes funcionais, ampliando a aplicação dessa espécie na agroindústria.

Agradecimentos

Agradecemos ao Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da - Universidade Federal de Minas Gerais pelo apoio e incentivo à realização deste trabalho.

Referências

- GUAN, L.; *et al.* Biochemical and Structural Characterization of a Novel Bacterial Tannase From Lachnospiraceae bacterium in Ruminant Gastrointestinal Tract. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 15, n. 9, dez. 2021.
- HUANG, R.; *et al.* Effect of Intrinsic Tannins on the Fermentation Quality and Associated with the Bacterial and Fungal Community of Sainfoin Silage. **Microorganisms**, v. 10, n. 5, abr. 2022.
- LAZZARI, G.; *et al.* Effects of Acacia mearnsii added to silages differing in nutrient composition and condensed tannins on ruminal and manure-derived methane emissions of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 106, n. 10, out. 2023.
- POLÁK, L.; *et al.* PrankWeb 4: a modular web server for protein-ligand binding site prediction and downstream analysis. **Nucleic Acids Research**, v. 53, n. 1, jul. 2025.
- RISTINMAA, A. S.; *et al.* Structural diversity and substrate preferences of three tannase enzymes encoded by the anaerobic bacterium Clostridium butyricum. **Journal of Biological Chemistry**, v. 298, n. 4, abr. 2022.
- RUBERT-NASON, K. F.; *et al.* Environment and Genotype Influence Quantitative and Qualitative Variation in Condensed Tannins in Aspen. **Journal of Chemical Ecology**, v. 49, n. 5-6, jun. 2023.
- VAN DEN BOSSCHE, T; *et al.* Autumn grass treated with a hydrolysable tannin extract versus lactic acid bacteria inoculant: Effects on silage fermentation characteristics and nutritional value and on performance of lactating dairy cows. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 108, n. 1, jan. 2024.
- YE, H.; *et al.* Highly galloylated and A-type prodelphinidins and procyanidins in persimmon (Diospyros kaki L.) peel. **Food Chemistry**, v. 378, jun. 2022.

Tabela 1. Predição de *Pockets* em Tanases Bacterianas

PDB ID	Microrganismo	Pocket 1	Pocket 2	Pocket 3
6YQ4	<i>F. nucleatum</i>	0.283	0.258	0.256
3WA6	<i>L. plantarum</i>	0.101	0.085	0.061
7Q6Y	<i>C. butyricum</i>	0.080	0.032	0.027

Fonte: Autores (2025).

Tabela 2. Interações entre Tanases e Taninos: Energia de Ligação Predita (kcal/mol)

Tanase	Pocket	Procianidina B1	Procianidina B2	Procianidina B3	Prodelfinidina B3
6YQ4	1	0.663	0.778	-2.165	-2.560
	2	-8.440	-7.833	-8.343	-7.302
	3	3.233	3.233	2.996	-0.597
3WA6	1	-7.845	-7.399	-7.047	-6.876
	2	-8.130	-8.408	-7.191	-7.322
	3	-5.843	-6.386	-6.808	-5.309
7Q6Y	1	-7.478	-7.975	-8.976	-8.936
	2	-6.719	-6.877	-8.187	-8.610
	3	-9.163	-9.562	-9.699	-8.906

Fonte: Autor (2025).