

## **ABORDAGEM METABOLÔMICA NAS FEZES DE BOVINOS EM BUSCA DE BIOMARCADORES ASSOCIADOS AOS EXTREMOS DE EFICIÊNCIA ALIMENTAR E DESEMPENHO EM BOVINOS**

**Lívia Cicilini S. Epifanio**

**Prof. Dr. Daniel Rodrigues Cardoso**

USP – Universidade de São Paulo

cicilinilivia@usp.br

**Palavras chave:** Metabolômica; Multi-omics; Metagenoma

### **Objetivos**

Avaliar a correlação do perfil metabolômico das fezes de tourinhos Nelore com o microbioma e associar com as medidas de desempenho para buscar preditores de eficiência para cada fenótipo, CAR, AOL e EGS.

### **Métodos e Procedimentos**

Para a realização do estudo, todos os procedimentos experimentais foram conduzidos de acordo com os princípios éticos de bem-estar animal e abate humanitário adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da EMBRAPA, São Carlos, São Paulo (Protocolo nº 09/2016). As amostras de fezes foram coletadas ao final do período de confinamento no ano de 2019 do programa nacional de avaliação de touros jovens (PNAT). As amostras foram coletadas diretamente da ampola retal de cada animal, durante o período de confinamento, e imediatamente imersas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80 ° C.

Realizou-se uma análise metabólomica *untargeted* com as amostras coletadas.

Também foi realizada análise de correlação de Pearson, no MetaboAnalyst 5.0, utilizando a função *Pattern hunter* para seleção de metabólitos que apresentaram correlação

significativa ( $p<0,05$ ) com as ASVs que foram discriminadas pela análise componentes principais (PCA) para os extremos de eficiência de cada fenótipo, CAR, AOL e EGS. Para análise de correlação foi utilizado o pacote mixOmics, no software R studio, com a função multiblock s-PLS.

### **Resultados**

A partir da identificação de 18 metabólitos por RMN  $^1\text{H}$  (Tabela 1) foram feitas as análises estatísticas por Componentes Principais (PCA) para os grupos de extremos para os fenótipos de CAR, AOL e EGS.

**Tabela 1:** Metabólitos identificados nos espectros de RMN  $^1\text{H}$

Metabolitos	
Acetato	Glicose
Acetona	Isobutirato
Alanina	Isovalerato
Aspartato	Lactato
Benzoato	Maltose
Betaina	Methionina
Butirato	Propionato
Carnitina	Uracil
Formato	Valerato

**Fonte:** Autoria própria.

O metabólito alanina apresentou diferença significativa para os fenótipos CAR e AOL, enquanto para o EGS, o benzoato foi o metabólito destacado pelo teste t ( $p<0,05$ ).

As ASVs também foram separadas pelo teste de significância e, a partir desse filtro, passaram por análise de PCA apresentando boa separação para os grupos de E e não eficiente NE como mostrado na Tabela 2 para o CAR, Tabela 3 para AOL, e Tabela 4 para EGS.

**Tabela 2:** Agrupamento de ASVs para os grupos eficiente (E) e não eficiente (NE) para o fenótipo CAR.

ASVs test t - CAR			
EFICIENTE	Família E	NÃO EFICIENTE	Família NE
ASV_254	Christensenellaceae	ASV_667	Rikenellaceae
ASV_218	Moglobaceae	ASV_34	Rikenellaceae
ASV_647	Lachnospiraceae	ASV_113	Clostridiaceae
ASV_287	Ruminococcaceae	ASV_118	Lachnospiraceae
ASV_7	Eubacterium	ASV_547	Lachnospiraceae
ASV_8	Erysipelotrichaceae	ASV_293	UCG-010
ASV_680	Rikenellaceae	ASV_250	Lachnospiraceae
ASV_431	Eubacterium	ASV_586	Bacteroidaceae
		ASV_284	Bacteroidaceae
		ASV_522	UCG-010
		ASV_176	Bacteroidales

**Fonte:** Autoria própria.

**Tabela 3:** Agrupamento de ASVs para os grupos eficiente (E) e não eficiente (NE) para o fenótipo AOL.

ASVs test t - AOL			
EFICIENTE	Família E	NÃO EFICIENTE	Família NE
ASV_9	Eubacterium	ASV_80	Rikenellaceae
ASV_116	Rikenellaceae	ASV_579	Clostridiaceae
ASV_176	Bacteroidales	ASV_106	Lachnospiraceae
ASV_189	Lachnospiraceae	ASV_431	Eubacterium
ASV_214	Eubacterium	ASV_246	Lachnospiraceae
ASV_218	Moglobaceae	ASV_545	Lachnospiraceae
ASV_275	Rikenellaceae	ASV_552	Lachnospiraceae
ASV_405	Rikenellaceae	ASV_347	RF39
ASV_413	Lachnospiraceae	ASV_605	Rikenellaceae
ASV_437	Eubacterium		
ASV_438	Lachnospiraceae		
ASV_496	UCG-010		
ASV_498			
ASV_564			
ASV_566			
ASV_579			
ASV_621			
ASV_636			
ASV_655			
ASV_659	Eubacterium		
ASV_681	Eubacterium		
	Rikenellaceae		

**Fonte:** Autoria Própria.

**Tabela 9:** Agrupamento de ASVs para os grupos eficiente (E) e não eficiente(NE) para o fenótipo EGS.

ASVs test t - EGS			
EFICIENTE			
ASV_666	Acidaminococcaceae	ASV_327	Lachnospiraceae
ASV_34	Rikenellaceae	ASV_43	Peptococcaceae
ASV_40	Christensenellaceae	ASV_345	Ruminococcaceae
ASV_49	Odoribacteraceae	ASV_593	Methanobacteriaceae
ASV_59	Sutterella	ASV_625	Prevotellaceae
ASV_65	Oscillosporaceae	ASV_630	Prevotellaceae
ASV_68	Lachnospiraceae	ASV_360	Prevotellaceae
ASV_72	Oscillosporaceae	ASV_389*	Anerostiprococcaceae*
ASV_134	Rikenellaceae	ASV_442	Anerostiprococcaceae
ASV_217	Bacteroidesaceae	ASV_444	Bacteroidesaceae
ASV_230	Dialisteraceae	ASV_446	Bacteroidesaceae
ASV_237	Lachnospiraceae	ASV_379	Peptostreptococcaceae
ASV_275	Rikenellaceae	ASV_530	Prevotellaceae
ASV_309	Ruminococcaceae	ASV_537	Archaeoglobaceae
ASV_45	Prevotellaceae	ASV_548	Archaeoglobaceae
ASV_323	Lachnospiraceae	ASV_559	Microbacteriaceae
ASV_324	Bacteroidesaceae	ASV_569	Oscillosporaceae
			Lachnospiraceae

**Fonte:** Autoria própria.

Utilizando o gráfico de correlação pelo pacote mixOmics no software R studio, com a função multiblock s-PLS observou-se que A ASV 287, pertencente à família *Ruminococcaceae*, teve correlação de 93% com o metabólito alanina, indicando que esta família de bactérias pode estar associada à eficiência do fenótipo CAR. Já para o grupo dos NE, do fenótipo CAR o valor da correlação entre a ASV 522 e 293, ambas pertencentes à família UCG-010 com o metabólito uracil, foi de 72%, sendo esta família de bactérias relacionada negativamente com o fenótipo CAR, confirmando a correlação para o grupo NE. Para o fenótipo AOL, a alanina também apresentou correlação com a família *Lachnospiraceae* e *Eubacterium*, que possuem abundância em animais que expressaram eficiência de AOL. A relação entre a família *Lachnospiraceae* com o metabólito carnitina pode sugerir a eficiência de EGS.

## Conclusões

Por PCA não foi possível observar separação entre os grupos de eficiência para os fenótipos de CAR, AOL e EGS. Com isso, pela análise do teste t ( $p<0,05$ ) foi observado o metabólito alanina como sendo significativo para os fenótipos CAR e AOL e para o fenótipo EGS o metabólito benzoato apresentou diferença significativa ( $p<0,05$ ). As ASVs também foram filtradas utilizando o teste t ( $p<0,05$ ) obtendo assim separação por PCA.

## Referências

Malheiros, J.M., Correia, B.S.B., Ceribeli, C. et al. Ruminal and feces metabolites associated with feed efficiency, water intake and methane emission in Nelore bulls. Sci Rep 13, 18001, 2023.

OLIVEIRA, Matheus Henrique Vargas de. Metaboloma fecal de bovinos da raça Nelore: pré e pós-confinamento e associação com o consumo alimentar residual. 2023.