

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

ciciliniivia@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 metabolômica *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 ^1H (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 ^1H

Metabólitos	
Acetato	Glicose
Acetona	Isobutyrate
Alanina	Isovalerate
Aspartato	Lactato
Benzoato	Maltose
Betaina	Methionina
Butyrato	Propionato
Carnitina	Uracil
Formato	Valerate

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	Familia E	NÃO EFICIENTE	Familia NE
ASV_254	<i>Christensenellaceae</i>	ASV_667	<i>Rikenellaceae</i>
ASV_218	<i>Monoglobaceae</i>	ASV_34	<i>Rikenellaceae</i>
ASV_647	<i>Lachnospiraceae</i>	ASV_113	<i>Clostridiaceae</i>
ASV_287	<i>Ruminococcaceae</i>	ASV_118	<i>Lachnospiraceae</i>
ASV_7	<i>Eubacterium</i>	ASV_547	<i>Lachnospiraceae</i>
ASV_8	<i>Erysipelotrichaceae</i>	ASV_293	UCG-010
ASV_680	<i>Rikenellaceae</i>	ASV_250	<i>Lachnospiraceae</i>
ASV_431	<i>Eubacterium</i>	ASV_586	<i>Bacteroidaceae</i>
		ASV_284	<i>Bacteroidaceae</i>
		ASV_522	UCG-010
		ASV_176	<i>Bacteroidales</i>

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	Familia E	NÃO EFICIENTE	Familia NE
ASV_9	<i>Eubacterium</i>	ASV_80	<i>Rikenellaceae</i>
ASV_116	<i>Rikenellaceae</i>	ASV_579	<i>Clostridiaceae</i>
ASV_176	<i>Bacteroidales</i>	ASV_106	<i>Lachnospiraceae</i>
ASV_189	<i>Lachnospiraceae</i>	ASV_431	<i>Eubacterium</i>
ASV_214	<i>Eubacterium</i>	ASV_246	<i>Lachnospiraceae</i>
ASV_218	<i>Monoglobaceae</i>	ASV_545	<i>Lachnospiraceae</i>
ASV_275	<i>Rikenellaceae</i>	ASV_552	<i>Lachnospiraceae</i>
ASV_405	<i>Rikenellaceae</i>	ASV_347	RF39
ASV_413	<i>Lachnospiraceae</i>	ASV_605	<i>Rikenellaceae</i>
ASV_437	<i>Eubacterium</i>		
ASV_438	<i>Lachnospiraceae</i>		
ASV_496	UCG-010		
ASV_498	<i>Acidaminococcaceae</i>		
ASV_564	<i>Rikenellaceae</i>		
ASV_566	UCG-010		
ASV_579	<i>Clostridiaceae</i>		
ASV_621	<i>Ruminococcaceae</i>		
ASV_636	UCG-010		
ASV_655	<i>Eubacterium</i>		
ASV_659	<i>Eubacterium</i>		
ASV_681	<i>Rikenellaceae</i>		

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		NÃO EFICIENTE	
ASV_466	<i>Acidaminococcaceae</i>	ASV_317	<i>Lachnospiraceae</i>
ASV_34	<i>Rikenellaceae</i>	ASV_481	<i>Porphyromonadaceae</i>
ASV_40	<i>Christensenellaceae</i>	ASV_343	<i>Ruminococcaceae</i>
ASV_54	<i>Lachnospiraceae</i>	ASV_348	<i>Moryella</i>
ASV_59	<i>Sutterellaceae</i>	ASV_354	<i>Bacteroidaceae</i>
ASV_65	<i>Oscillospiraceae</i>	ASV_360	<i>Prevotellaceae</i>
ASV_68	<i>Lachnospiraceae</i>	ASV_388*	<i>Acetivibrio</i>
ASV_79	<i>Lachnospiraceae</i>	ASV_391	<i>Oscillospiraceae</i>
ASV_134	<i>Rikenellaceae</i>	ASV_442	<i>Acetivibrio</i>
ASV_217	<i>Bacteroidaceae</i>	ASV_448	<i>Bacteroidaceae</i>
ASV_224	<i>Oscillospiraceae</i>	ASV_371	<i>Rikenellaceae</i>
ASV_237	<i>Lachnospiraceae</i>	ASV_379	<i>Porphyromonadaceae</i>
ASV_379	<i>Rikenellaceae</i>	ASV_530	<i>Prevotellaceae</i>
ASV_395	<i>Ruminococcaceae</i>	ASV_531	<i>Clostridiaceae</i>
ASV_399	<i>Prevotellaceae</i>	ASV_537	<i>Acetivibrio</i>
ASV_45	<i>Lachnospiraceae</i>	ASV_548	<i>Moryella</i>
ASV_243	<i>Bacteroidaceae</i>	ASV_559	<i>Oscillospiraceae</i>
ASV_324	RF39	ASV_569	<i>Lachnospiraceae</i>
		ASV_581	<i>Oscillospiraceae</i>
		ASV_591	<i>Lachnospiraceae</i>
		ASV_609	UCG-010
		ASV_625	UCG-010
		ASV_633	<i>Bacteroidaceae</i>
		ASV_638	<i>Eubacterium</i>
		ASV_39	<i>Acidaminococcaceae</i>
		ASV_51	<i>Bacteroidaceae</i>
		ASV_58	<i>Lachnospiraceae</i>
		ASV_86	<i>Lachnospiraceae</i>
		ASV_133	<i>Bacteroidaceae</i>
		ASV_138	<i>Lachnospiraceae</i>
		ASV_173	<i>Lachnospiraceae</i>
		ASV_189	<i>Lachnospiraceae</i>
		ASV_281	<i>Bacteroidaceae</i>
		ASV_355	<i>Lachnospiraceae</i>
		ASV_370	<i>Lachnospiraceae</i>
		ASV_400	<i>Lachnospiraceae</i>
		ASV_601	<i>Bacteroidaceae</i>
		ASV_639	<i>Lachnospiraceae</i>
		ASV_648	UCG-010
		ASV_317	<i>Erysipelotrichaceae</i>
		ASV_339	UCG-010

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.