

ANÁLISE DE CLUSTER DA MICROBIOTA RUMINAL EM CORDEIROS SUPLEMENTADOS COM EXTRATO DE ALCALOIDES PIPERIDÍNICO DE ALGAROBA

Patrick Miranda Costa¹, Mara Lúcia Albuquerque Pereira², Virgínia Patrícia dos Santos Soares³, Luna Lacerda Ribeiro⁴, João Victor Sousa Santos⁴, Rayana de Queiroz Souza⁴, Pâmela Farias Novaes⁴, Lucineia dos Santos Soares³

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do extrato piperidínico de algaroba (APA – 17 mg/Kg MS) e da monensina (17 mg/Kg MS) sobre o agrupamento de bactérias ruminais em cordeiros em fase de terminação. O experimento utilizou 42 cordeiros mestiços Santa Inês em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos: sem aditivo e feno 28 dias (0/28), sem aditivo e feno 60 dias (0/60), MON e feno 28 dias (MON/28), MON e feno 60 dias (MON/60), APA e feno 28 dias (APA/28) e APA e feno 60 dias (APA/60). As dietas foram formuladas com milho, farelo de soja, suplemento mineral e feno de *Tifton 85* para atingir ganho médio diário de 200 g. No abate, após jejum de 16 horas, foram coletadas amostras do conteúdo ruminal (fases sólida e líquida) para extração de DNA e posterior quantificação relativa por meio do qPCR de arqueias metanogênicas e de nove bactérias ruminais selecionadas. A análise de cluster revelou que as espécies predominantes em todos os tratamentos foram *Prevotella ruminicola*, *Selenomonas ruminantium* e *Fibrobacter succinogenes*, enquanto *Megasphaera elsdenii* apresentou baixa abundância. Houve agrupamento entre APA/28 e 0/60 e entre MON/28 e 0/28, indicando padrões semelhantes. Conclui-se que o uso de APA modulou a microbiota, alterando a abundância relativa das bactérias ruminais.

PALAVRAS-CHAVE: algaroba, microbiota ruminal, monensina, qPCR, ruminantes

CLUSTER ANALYSIS OF THE RUMEN MICROBIOTA IN LAMBS SUPPLEMENTED WITH MESQUITE PIPERIDINE ALKALOID EXTRACT

The objective of this study was to evaluate the influence of mesquite piperidine alkaloid extract (APA – 17 mg/kg DM) and monensin (17 mg/kg DM) on the clustering of ruminal bacteria in finishing lambs. The experiment involved 42 crossbred Santa Inês lambs in a completely randomized design with six treatments: without additive and hay cut at 28 days (0/28), without additive and hay cut at 60 days (0/60), MON and hay cut at 28 days (MON/28), MON and hay cut at 60 days (MON/60), APA and hay cut at 28 days (APA/28), and APA and hay cut at 60 days (APA/60). Diets were formulated with corn, soybean meal, mineral supplement, and Tifton 85 hay to achieve an average daily gain of 200 g. At slaughter, after a 16-h fast, rumen content samples (solid and liquid phases) were collected for DNA extraction and subsequent relative quantification of methanogenic archaea and nine selected ruminal bacteria by qPCR. Cluster analysis revealed that the

predominant species across all treatments were *Prevotella ruminicola*, *Selenomonas ruminantium*, and *Fibrobacter succinogenes*, whereas *Megasphaera elsdenii* showed low abundance. Clustering occurred between APA/28 and 0/60, and between MON/28 and 0/28, indicating similar patterns. It was concluded that the use of APA modulated the microbiota by altering the relative abundance of ruminal bacteria.

KEYWORDS: algaroba, lambs, microbiota, monensin, qPCR, rumen

INTRODUÇÃO

A microbiota ruminal desempenha papel fundamental na digestão de nutrientes e na produção de energia para ruminantes. A suplementação com aditivos como monensina e extratos vegetais tem sido estudada como estratégia para melhorar a eficiência alimentar e reduzir emissões de metano. Os alcaloides piperidínicos presentes na algaroba possuem potencial antimicrobiano, podendo influenciar a população microbiana do rúmen. Assim, este estudo avaliou os efeitos da inclusão de extrato piperidínico de algaroba e da monensina sobre a microbiota ruminal de cordeiros em terminação.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no setor ENOC/UESB com 42 cordeiros mestiços Santa Inês em confinamento por 39 dias. O delineamento foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos. As dietas foram compostas por feno de capim *Tifton 85* e concentrado à base de milho e farelo de soja, formuladas segundo o NRC (2007). Os tratamentos foram: controle (0/28 e 0/60), monensina (MON/28 e MON/60) e extrato piperidínico de algaroba (APA/28 e APA/60). Foi realizada extração de DNA seguida de qPCR com primers específicos para espécies bacterianas.

Durante o abate, após um jejum de 16 horas, foram coletadas amostras do conteúdo ruminal (fases sólida e líquida) de cada animal. O material coletado foi filtrado em gaze para separar as duas fases. Para a análise da diversidade microbiana, amostras das fases sólida (aproximadamente 25 g) e líquida (aproximadamente 25 mL) do conteúdo ruminal foram armazenadas em um ultrafreezer a -80°C e, posteriormente, liofilizadas.

O DNA total foi extraído do conteúdo ruminal e por meio do qPCR determinado a abundância relativa de espécies bacterianas: *Ruminococcus albus*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Eubacterium ruminantium* e *Streptococcus bovis* como espécies gram-positivas, *Fibrobacter succinogenes*, *Prevotella ruminicola*, *Ruminobacter amilophilus*, *Selenomonas ruminantium* e *Megasphaera elsdenii* como espécies gram-negativas.

A abundância relativa foi calculada e utilizada para análise de cluster no software R (2024).

TABELA 1. Proporção dos ingredientes utilizados nos tratamentos fornecidos e composição química do feno de capim *Tifton 85*, do concentrado e dos tratamentos (% MS)

Ingredientes	Feno de <i>Tifton 85</i>	Milho grão	Farelo de Soja	Sal mineral ¹	
Proporções (%)	40	41	14,1	4,9	
Composição química	Feno 28 dias	Feno 60 dias	Concentrado	Tratamentos	
				0/28 APA/28 MON/28	0/60 APA/60 MON/60
Matéria seca	92,88	92,31	92,82	92,84	92,62
Matéria Orgânica	90,28	90,94	88,47	89,19	89,46
Matéria mineral	9,72	9,06	11,53	10,81	10,54
Proteína Bruta	13,21	11,78	18,37	16,31	15,73
Extrato Etéreo	5,57	5,37	6,26	5,98	5,90
Fibra insolúvel em detergente Neutro ²	63,10	66,36	15,04	34,26	35,57
Fibra insolúvel em detergente ácido	44,62	46,35	7,11	22,11	22,81
PIDN	4,27	6,22	3,08	3,56	4,34
Lignina	3,20	6,30	1,28	2,05	3,29
Celulose	44,50	42,54	6,95	21,97	21,19
Hemicelulose	19,74	21,24	14,73	16,73	17,33
Carboidratos não fibrosos	8,40	7,42	48,81	32,65	32,25

MS: Matéria seca; APA: Alcaloides Piperidínico de Algaroba; MON: Monensina; PIDN: Proteína indigestível em detergente neutro ¹Cálcio - 120,00 g; Fósforo - 87,00 g; Sódio - 147,00 g; Enxofre - 18,00 g; Cobre - 590,00 mg; Cobalto - 40,00 mg; Cromo - 20,00 mg; Ferro - 1.800,00 mg; Iodo - 80,00 mg; Manganês - 1.300,00 mg; Selênio - 15,00 mg; Zinco - 3.800,00 mg; Molibdênio - 300,00 mg; Flúor (máx.) - 870,00 mg; Solubilidade do Fósforo (P) em Ácido Cítrico a 2% (min.) - 95,00 %; ²Corrigido para cinzas e proteína;

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação à análise de cluster no heatmap, houve agrupamento significativo por similaridade e por abundância relativa das espécies de bactérias em que as bactérias abundantes em todos os tratamentos foram *P. ruminicola*, *S. ruminantium* e *F. succinogenes*, como indicado pelas tonalidades mais escuras. Por outro lado, *Megasphaera elsdenii* exibiu abundância relativamente menor, evidenciada pela tonalidade mais clara (Figura 1).

Observou-se a formação de dois agrupamentos principais entre os tratamentos, evidenciada pelo dendograma. Os tratamentos APA/28 e 0/60 foram os mais similares

quanto às populações de bactérias estudadas e os tratamentos MON/28 e 0/28 se agruparam por maior similaridade e separadamente dos demais, indicando padrões distintos de abundância bacteriana em relação aos outros tratamentos.

Ainda, é possível notar que os tratamentos APA/60 e MON/60 compartilharam padrões semelhantes para a maioria das espécies, enquanto APA/28 agrupou-se com o tratamento 0/60, ambos apresentando perfil bacteriano diferenciado com menor abundância relativa. Os quatro tratamentos compartilharam da presença de *R. albus*.

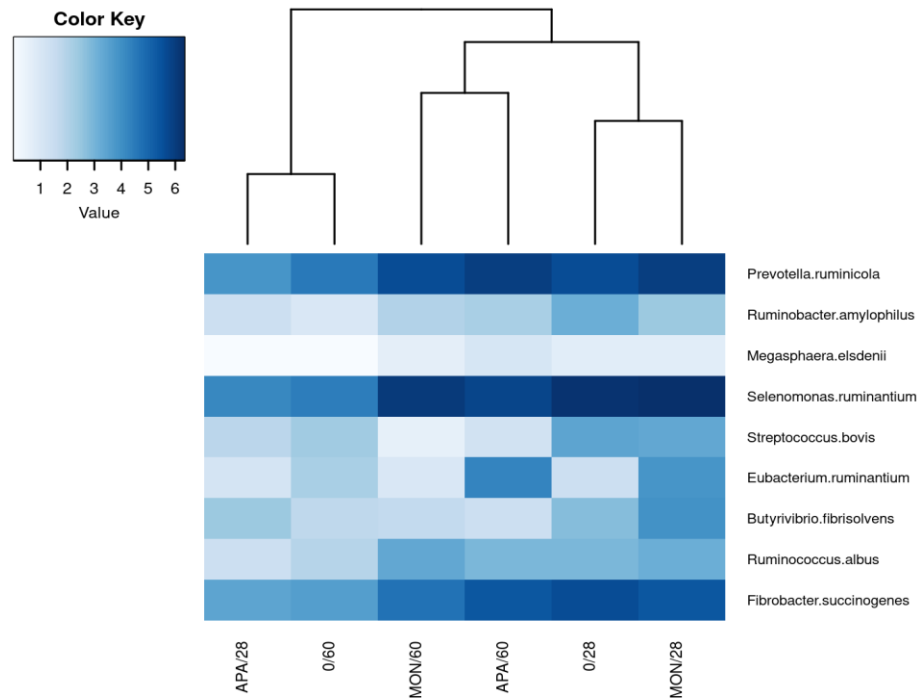


FIGURA 1. Heatmap da abundância relativa (\log_{10}) de 9 espécies bacterianas ruminais sob diferentes tratamentos. As colunas representam os tratamentos experimentais e estão agrupadas por similaridade utilizando análise hierárquica (dendrograma). As linhas correspondem às espécies bacterianas analisadas. A intensidade da cor é proporcional à abundância relativa, com tons claros indicando baixa abundância e tons escuros indicando alta abundância.

CONCLUSÕES / CONSIDERAÇÕES

A análise de cluster revelou diferenças nos perfis bacterianos entre os tratamentos, com *P. ruminicola*, *S. ruminantium* e *F. succinogenes* como espécies predominantes. Houve maior similaridade entre APA/28 e 0/60, e entre MON/28 e 0/28, enquanto *M. elsdenii* apresentou baixa abundância relativa em todos os tratamentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Stevenson, D. M., & Weimer, P. J. (2007). Dominance of *Prevotella* and low abundance of classical ruminal bacterial species in the bovine rumen revealed by relative quantification real-time PCR. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.75, n.1, p.165–174. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0802-y>