

**ESTIMATIVA DE ALFA DIVERSIDADE BACTERIANA EM POTROS: USO DO
MOTHUR E DADA2**

Julia Anelia Nascimento Pinto (julia.pinto12@ufrj.br)

Bruna Caroline Franzan (bruna.franzan@hotmail.com)

Fernando Queiroz De Almeida (almeidafq@yahoo.com.br)

A diversidade alfa da microbiota intestinal de equinos é um parâmetro importante de estabilidade e saúde do ambiente intestinal, conseqüentemente, do animal. Índices de diversidade microbioma podem ser estimados a partir do uso de pipelines de diferentes softwares de bioinformática. Esses pipelines consistem em seqüências organizadas de etapas para processar, analisar e interpretar dados de sequenciamento, nesse caso, de amplicons de 16S rRNA. O presente trabalho teve como objetivo estimar índices de alfa diversidade da microbiota fecal de potros suplementados com prebiótico, utilizando

pipelines dos softwares Mothur e DADA2 no programa R. Foi utilizado um banco de

dados de sequenciamento de amplicons do gene rDNA 16S de 12 amostras de fezes de

potros suplementados com prebiótico frutooligossacarídeo de inulina (inicial, após seis

e oito dias), depositado no NCBI Sequence Read Archive sob o número de acesso do

bioprojeto PRJNA695245. Os dados brutos foram processados seguindo duas pipelines

para obtenção de variantes de sequência de amplicons (ASV): o protocolo MiSeq SOP

do Mothur (v.1.48.3) (1) e o DADA2 no R (2). Em ambas abordagens, as sequências

quiméricas, menores de 400 pb, maiores de 430 pb e não pertencentes ao domínio

Bacteria foram removidas. O banco de dados Silva seed 138.2 foi utilizado para alinhamento e classificação taxonômica das sequências. Ao final, as amostras foram

rarefeitas com base na amostra com menor número de sequência e os índices de alfa

diversidade Chao, Shannon e Simpson foram estimados. Com o uso da pipeline do

Mothur, observou-se 5224 ± 1209 , 5551 ± 1692 e 5296 ± 1103 ASV (média \pm desvio

padrão) para as amostras inicial, seis e oito dias de suplementação, respectivamente. O

índice de Chao foi de 5942 ± 1844 , 6145 ± 2277 e 6248 ± 1137 , respectivamente. O índice

de Shannon foi de $6,23 \pm 0,56$, $6,27 \pm 1,20$ e $6,26 \pm 0,75$, e o índice de Simpson foi de

0,0166±0,0096, 0,0371±0,0524 e 0,0208±0,0174, respectivamente. Pela pipeline

DADA2, observou-se 534±106, 561±160 e 511±87 ASVs nas amostras inicial, seis e

oito dias de suplementação, respectivamente. O índice de Chao foi de 543±110,

569±159 e 518±91, para a mesma sequência de amostras. O índice de Shannon

observou-se valores 5,10±0,38, 4,93±0,81 e 4,81±0,60 e o índice de Simpson foi de

0,018±0,008, 0,038±0,02 e 0,0363±0,033, respectivamente. Essa diferença numérica,

ainda não testada estatisticamente, pode estar relacionada a características intrínsecas de

cada ferramenta, como o tratamento de erros de sequenciamento, critérios de qualidade

e sensibilidade à detecção de variantes raras. Resultados semelhantes são descritos na

literatura, que aponta que abordagens baseadas em Mothur tendem a recuperar um

número maior de variantes, enquanto o DADA2 adota filtros mais conservadores e

rigorosos na identificação de ASVs. Assim, os achados deste estudo são consistentes

com relatos prévios, mas devem ser interpretados com cautela, visto que não foi

utilizado um padrão de referência para validação. Além disso, análises adicionais são

necessárias para determinar a significância das diferenças observadas e avaliar se essas

variações influenciam a interpretação do conjunto de dados testado. Conclui-se que foi

possível estimar os índices de alfa diversidade a partir do banco de dados utilizado com

ambas as pipelines.

1. KOZICH, James J. et al. Development of a dual-index sequencing strategy and

curation pipeline for analyzing amplicon sequence data on the MiSeq Illumina sequencing platform. *Applied and environmental microbiology*, v. 79, n. 17, p. 5112-5120, 2013.

2. CALLAHAN, B. J. et al. DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature methods*, v. 13, n. 7, p. 581-583, 2016.

Palavras-chave: 16s rdna; diversidade alfa; equino; variantes de sequência de amplicons (asv).