

**DNA DA MICROBIOTA FECAL DE POTROS LACTENTES
SUPLEMENTADOS COM ADITIVOS ZOOTÉCNICOS**

Natália Sales Leal Dos Santos (natysales77@hotmail.com)

Giovanna Da Silva Reis (giovannareis@ufrj.br)

Adriana De Lima E Silva (adrianadelima99@yahoo.com.br)

Layanne Sthefany De Andrade Araújo (layannesthefany@hotmail.com)

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

Maria Izabel Vieira De Almeida (almeidamiv@yahoo.com.br)

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

A microbiota do trato digestório dos equinos é complexa e essencial para a manutenção da saúde intestinal. A identificação de microrganismos por técnicas moleculares depende diretamente da qualidade da extração do DNA. Nos potros, a avaliação da concentração, integridade e pureza do DNA microbiano fecal são etapas cruciais para resultados confiáveis e precisos na avaliação dos efeitos da suplementação dietética. O objetivo deste trabalho foi avaliar a suplementação dietética de potros neonatos com prebióticos e probióticos e seus efeitos na concentração, pureza e sequências de DNA nas amostras fecais. Esta pesquisa foi aprovada pela CEUA/IZ/UFRRJ nº 0113-01-2021. Foram utilizados 15 potros neonatos Mangalarga Marchador, do setor de Equideocultura da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, divididos em três grupos. Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado

em esquema de parcelas subdivididas onde as parcelas foram os tratamentos e as subparcelas as coletas fecais realizadas nos primeiros 30 dias pós-nascimento. Os tratamentos foram: Tratamento I (controle) - sem suplementação; Tratamento II (probiótico) - fornecimento oral diário de 5g/dia de Procreatin 7 contendo *Saccharomyces cerevisiae* ($1,5 \times 10^{10}$ UFC/g, Phileo by Lesaffé®); Tratamento III (prebiótico + probiótico) - fornecimento oral diário do FOS (Orafti®SIPX - inulina de chicória, Beneo Connecting Nutrition and Healthy), na quantidade de 0,07 g/kg de peso vivo acrescido de 5g/dia de Procreatin 7. As amostras de mecônio e fezes foram coletadas nos dias 0, 3, 5, 7, 10, 15 e 30 de idade. Foram extraídos o DNA total de 105 amostras utilizando o kit QIAamp DNA Stool da QIAGEN® e quantificou-se o DNA através do NanoDrop™ One (Thermo Scientific). Posteriormente, foram construídas e sequenciadas as bibliotecas genômicas correspondentes a região V3 a V4 do gene RNA ribossomal 16S na plataforma Illumina NovaSeq. As concentrações de DNA variaram entre 18,6 e 195,9 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ enquanto as razões entre as absorvâncias (A) 260/280 nm variaram de 1,63 a 2,03. Houve efeito da suplementação na concentração do DNA fecal ($p < 0,01$) com os potros do grupo simbiótico apresentando os valores mais elevados (114,5 $\text{ng}/\mu\text{L}$). Nos potros dos grupos controle e probiótico os valores mostraram-se semelhantes, 60 e 70,2 $\text{ng}/\mu\text{L}$, respectivamente. Ocorreram variações na concentração e pureza do DNA, assim como no número de sequências ao longo dos 30 dias de avaliação ($p < 0,01$). Os valores máximos na quantificação do DNA foram observados aos 15 dias de idade, de 195,9 $\text{ng}/\mu\text{L}$, na razão A260:280 aos 10 dias de idade, de 2,03, e no número de sequências, de 168.714, que foi superior no terceiro dia de idade. As concentrações de DNA aumentaram gradualmente entre o nascimento e aos 15 dias de idade. A partir dos 30 dias de idade (92,1 $\text{ng}/\mu\text{L}$ e 1,94) observou-se redução gradual, tendendo à estabilização dos valores, tornando-se semelhantes aos encontrados em equinos adultos. Considerando as três variáveis, os valores mais baixos ocorreram no dia do nascimento: 117.077 sequências, 18,6 $\text{ng}/\mu\text{L}$ e 1,63. É comum observar restrições na recuperação do DNA microbiano de boa qualidade a partir do mecônio, devido à menor quantidade e à consistência mais densa, no entanto, foi possível sequenciar o DNA em todas as amostras, mesmo naquelas que no dia do nascimento a razão de absorvância 260/280 nm tenha sido inferior a 1,8. A suplementação exerceu efeito significativo sobre a concentração de DNA extraído, principalmente no grupo suplementado com simbiótico. A pureza e o número de sequências geradas variaram ao longo do processo de colonização bacteriana dos potros, com qualidade inferior do DNA

recuperado ao nascimento. Ao avançar da idade houve aumento na quantidade e qualidade do DNA, maior eficiência do sequenciamento refletindo o processo de colonização microbiana do trato digestório dos potros.

Palavras-chave: equino; neonato; microbioma; sequenciamento.