

Marque a opção do tipo de trabalho que está inscrevendo:

Resumo

Relato de Caso

RELAÇÃO DO NÚMERO DE PARTOS NA MICROBIOTA VAGINAL DE VACAS DA RAÇA HOLANDESA

AUTOR PRINCIPAL: Fernanda L. Facioli.

CO-AUTORES: Daniel Quadros, Carlos Bondan, Giovana C. Zanella, Arthur Nery da Silva, Lucas M. Löf, Ricardo Zanella.

ORIENTADOR: Eraldo L. Zanella.

UNIVERSIDADE: Universidade de Passo Fundo.

INTRODUÇÃO:

Nas últimas décadas, a exploração da bovinocultura de leite está se intensificando, e os animais estão sendo cada vez mais exigidos fisiologicamente, visando o quesito produtividade e valor econômico. Com isso, tem se observado um aumentando nas falhas reprodutivas, causando problemas para a indústria leiteira. As bactérias estão entre os principais agentes biológicos responsáveis pelo impacto na saúde reprodutiva dos animais (YOO, 2010). O objetivo deste trabalho foi de analisar as variações na microbiota vaginal de fêmeas bovinas cíclicas da raça Holandesa de primeiro parto em relação às de segundo parto.

DESENVOLVIMENTO:

Foram utilizadas 2 vacas de primeira cria (G1) e 4 vacas de segunda cria (G2), todas em lactação, sem problemas reprodutivos. Swabs do fundo do saco vaginal foram coletados nestes animais, e imediatamente refrigerados e transportados até o Laboratório de Reprodução e Biotecnologia Veterinária da Universidade de Passo Fundo para a extração de DNA bacteriano. O DNA das amostras foram extraídos com o

IV SEMANA DO CONHECIMENTO

COMPARTILHANDO E FORTALECENDO REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



protocolo padrão do kit da ExtractMe da Blirt/SA[®]. A qualidade e quantidade do DNA foram aferidos com o espectrofotômetro Nanodrop, obtendo valores para A260/A280 entre 1,4 e 2,25 e A260/A230 de 1,05 à 5,25, e concentração variando de 9,01 ng/ul até 14 ng/ul. Para a confirmação da presença de DNA bacteriano, foi realizado uma reação de PCR, a fim de amplificar um fragmento na região V3-V4 do gene 16S bacteriano, com os primers 341F- ATTACCGCGGCTGCTGG e 534R- CCTACGGGAGGCAGCAG, utilizando 35 ciclos com uma temperatura de anelamento de 55°C e sua visualização foi aferida em gel de agarose a 2% com auxílio do transiluminador. Em seguida, as amostras de DNA foram ressuspensas a uma concentração de 5ng/ul em 30ul de solução de eluição e encaminhadas para a empresa Neopropecta[®] para a realização do sequenciamento parcial do gene 16S ribossomal DNA (rDNA) utilizando NGS através do equipamento MiSeq (Illumina – San Diego, EUA) previamente descrita por Christoff et al. 2017. As amostras foram sequenciadas usando bibliotecas SingleEnd para fragmentos de no mínimo 300pb, com uma cobertura mínima de 10 mil reads por amostra. Após sequenciamento, foi utilizado o programa Seqclean (Zhbannikov et al. 2012-2017), para a remoção dos adaptadores, primers, e de reads com menos de 283pb. Os grupos bacterianos foram classificados taxonomicamente usando a função Blast com o banco de dados SILVA (Glöckner et al. 2017). Somente sequências com no mínimo 99% de identidade com o banco de dados para a espécie das bactérias foram utilizadas para a classificação. Para a análise estatística foi utilizado o programa STAMP utilizando o teste ANOVA com teste de Tukey com 95% CI, para a verificação do efeito do número dos partos na modificação da microbiota vaginal de vacas da raça Holandesa. Diferenças foram consideradas significativas se a variação da quantidade de sequências de espécies bacterianas entre os grupos possuíse $p < 0.05$. As espécies bacterianas que tiveram um aumento na quantidade de sequências de DNA de vacas de primeira cria em relação à vacas de segunda cria foram às espécies Ruminococcaceae spp, Lachnospiraceae spp, Bacteroides spp e Rikenellaceae spp. Estas bactérias são frequentemente encontradas no estômago dos bovinos e estão associadas à conversão alimentar através da

IV SEMANA DO CONHECIMENTO

COMPARTILHANDO E FORTALECENDO REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



digestão, fermentação e biohidrogenação de ácidos graxos insaturados (FREITAS, 2014). No estado doente, o grupo Bacteroides expressa seus fatores de virulência, favorecendo o seu crescimento e o de outras bactérias presentes na comunidade (SILVA, 2015).

CONSIDERAÇÕES FINAIS:

Este trabalho indica que vacas de primeira cria tiveram um aumento no número de sequências bacterianas em relação a vacas de segunda cria. Possivelmente este incremento no número bacteriano pode estar associado com o aumento de falhas reprodutivas em vacas de primeira cria.

REFERÊNCIAS:

- YOO, H. S. Infectious Causes of Reproductive Disorders in Cattle. *Journal of Reproduction and Development*, v. 56, p. 53-54, 2010.
- FREITAS, F. S. *Diversidade de genes codificadores de enzimas do metabolismo secundário no microbioma do trato gastrointestinal de bovino da raça Nelore*. Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2014.
- SILVA, J. M. K. *Análise metagenômica da comunidade bacteriana de vacas com distúrbios reprodutivos*. Universidade Federal da Paraíba, Paraíba, 2015.
- ZHBANNIKOV, I. et al. SeqyClean User Manual. Disponível em: <https://github.com/ibest/seqyclean>. Acesso em: agosto de 2017.
- GLÖCKNER, F. O. et al. 25 years of serving the community with ribosomal RNA gene reference databases and tools. *Journal of Biotechnology*, 2017.

NÚMERO DA APROVAÇÃO CEP OU CEUA (para trabalhos de pesquisa): Projeto somente de avaliação de atividades zootécnicas em animais de produção.