

**Título:** Decifrando a Meta-dieta de Herbívoros da Fauna Brasileira utilizando Metabarcoding

**Orientador responsável:** Cláudio Benício Cardoso da Silva

**Unidade:** LNBr

## **Introdução**

Estudar o conjunto de espécies vegetais consumidas (meta-dieta) por espécies herbívoras é fundamental para compreender a composição da microbiota intestinal. Ao revelar quais plantas compõem a meta-dieta, é possível identificar os tipos de carboidratos estruturais que chegam ao trato digestivo desses animais. Essa abordagem complementar tem grande relevância, considerando que bactérias da microbiota intestinal de herbívoros possuem enzimas especializadas na despolimerização de polissacarídeos complexos (celulose, hemicelulose e lignina), e estas enzimas podem ser promissoras no processo de produção de combustíveis renováveis.

A técnica de metabarcoding tem surgido como uma alternativa para identificar espécies através de análise de DNA<sup>1</sup>. Essa abordagem possibilita a identificação de múltiplas espécies simultaneamente, superando limitações de métodos como observação direta de hábitos alimentares ou análise morfológica de restos através das fezes. Uma das regiões de DNA amplamente utilizada para a classificação de plantas é a ITS (Internal Transcribed Spacer)<sup>2</sup>.

Entretanto, o sucesso na utilização de metabarcoding para a identificação de plantas da dieta de herbívoros, depende da construção de bancos de dados que representem a flora brasileira e a criação de ferramentas computacionais otimizadas para este propósito.

## **Estado da Arte**

Iniciativas recentes têm desenvolvido banco de dados para metabarcoding de plantas<sup>3,4</sup>, melhorando a acurácia ao utilizar filtros de qualidade e padronização taxonômica. Mesmo assim, a cobertura de espécies tropicais é relativamente baixa, principalmente da América do Sul, onde a diversidade vegetal é alta e pouco sequenciada. Nesse contexto, há uma demanda pela criação de bancos de dados regionais, atualizados e otimizados, que reflita a composição da flora brasileira. Bancos de dados de ITS de plantas como o GenBank e BOLD<sup>5</sup>, tem representatividade de espécies que ocorrem em todos os biomas, porém apresentam algumas limitações, como inconsistências nas predições taxonômicas e baixa representatividade de espécies de floras muito diversa, como a brasileira.

## **Objetivos**

### *Objetivo Geral*

Investigar a meta-dieta de herbívoros alvos de estudos de metagenoma, desenvolvendo e aplicando ferramentas computacionais otimizadas para a identificação de espécies vegetais da flora brasileira.

### *Objetivos Específicos*

- Construir uma base de dados de ITS referência otimizada e representativa da flora brasileira para análises de metabarcoding;
- Desenvolver e otimizar um pipeline computacional para processamento, análise e atribuição taxonômica das sequências obtidas;
- Validar o pipeline e a base de dados utilizando amostras reais e/ou conjuntos de dados controlados;
- Desenvolver um pipeline de análise de dados de metabarcoding para identificar espécies de plantas presentes na meta-dieta de herbívoros da fauna brasileira.

## **Metodologia**

Para a execução deste projeto serão utilizadas sequências de ITS depositadas nos principais banco de dados públicos de sequência. Além disso, serão incluídas sequenciamento de ITS de plantas identificadas como sendo da meta-dieta de animais herbívoros alvo de estudo do nosso grupo. Estas sequências serão submetidas a um processo de curadoria, envolvendo a remoção de redundâncias, identificação de possíveis contaminantes e validação de anotação taxonômica. O banco de dados será estruturado em formatos compatíveis com pipelines de metabarcoding, incluindo arquivos de sequências e tabelas de metadados associadas.

Para a validação do banco de dados, serão utilizadas sequências ITS de plantas da dieta de herbívoros de interesse, com classificação taxonomicamente previamente descrita. O desempenho será avaliado por meio critérios que validem a atribuição taxonômica dada para cada espécie, considerando métricas como acurácia, sensibilidade e resolução taxonômica. Diferentes estratégias de classificação serão testadas, permitindo ajustes iterativos na composição e organização da base de dados.

A versão consolidada do banco de dados será devidamente documentada, incluindo descrição detalhada dos critérios de curadoria e fontes de dados. O recurso será disponibilizado em

repositórios públicos de acesso aberto, para garantir transparência, reprodutibilidade na aplicação em novos estudos de meta-dieta de animais herbívoros.

## Cronograma de Atividades

| Atividades  | Calendário bimestral |    |    |    |    |    |
|---|----------------------|----|----|----|----|----|
|   | 1°                   | 2° | 3° | 4° | 5° | 6° |
| Construção da base de dados de ITS de plantas a partir de banco de dados públicos                                 | X                    | X  |    |    |    |    |
| Desenvolvimento do pipeline para a classificação taxonômica utilizando ITS como metabarcoding                     |                      | X  | X  |    |    |    |
| Validação do algoritmo em amostras de plantas da flora brasileira consumidas por herbívoros de interesse          |                      |    |    | X  |    |    |
| Identificação taxonômica das espécies de plantas oriundas da meta-dieta (amostras de fezes) de animais herbívoros |                      |    |    | X  | X  |    |
| Publicação dos resultados e depósito do banco de dados  |                      |    |    |    | X  | X  |

## Referências

1. Kartzinel, T. R., Chen, P. A., Coverdale, et al. (2015). DNA metabarcoding illuminates dietary niche partitioning by African large herbivores. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(26), 8019–8024. <https://doi.org/10.1073/pnas.1503283112>
2. Moorhouse-Gann, R. J., Dunn, J. C., et al. (2018). New universal ITS2 primers for high-resolution herbivory analyses using DNA metabarcoding in both tropical and temperate zones. *Scientific Reports*, 8(1), 8542. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26648-2>
3. Banchi, E., Ametrano, C. G., Greco, S., et al. (2020). PLANiTS: a curated sequence reference dataset for plant ITS DNA metabarcoding. *Database*, 2020. <https://doi.org/10.1093/database/baz155>
4. Quaresma, A., Ankenbrand, M. J., Garcia, et al. (2024). Semi-automated sequence curation for reliable reference datasets in ITS2 vascular plant DNA (meta-)barcoding. *Scientific Data*, 11(1), 129. <https://doi.org/10.1038/s41597-024-02962-5>
5. Ratnasingham, S. & Hebert, P. D. N. (2007). BOLD: The Barcode of Life Data System ([www.barcodinglife.org](http://www.barcodinglife.org)). *Molecular Ecology Notes* 7, 355-364. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2007.01678.x