

Pseudobutyrvibrio ruminis aislado del rumen de cabras biotipo criollo: identificación genética y bioquímica

D. Grilli^{1,3}, M. Cerón⁴, L. Schnittger⁴, S. Páez², V. Egea², L. Allegretti² y G. N. Arenas³

Recurso humano en formación: M. E. Cobos

¹Facultad de Ciencias Veterinarias y Ambientales. Universidad Juan Agustín Maza

²Instituto Argentino de Investigaciones de las Zonas Áridas (IADIZA). Centro Científico Tecnológico (CCT)-Mendoza

³Facultad de Ciencias Médicas. UNCuyo. Mendoza

⁴Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Castelar. Buenos Aires
diegoqrilli@yahoo.com.ar

Resumen

En la región de Lavalle (Mendoza), las cabras componen su dieta con una alta proporción de especies arbustivas, las que constituyen una fuente importante de fibra vegetal. La gran eficiencia en la utilización de esa fibra por parte de esos rumiantes puede deberse, entre otros factores, a las características de las bacterias ruminales fibrolíticas (celulolíticas, hemicelulolíticas y pectinolíticas).

Por lo tanto, el estudio de esos microorganismos adquiere gran importancia en los sistemas de producción caprina en nuestro país. Las secuencias del gen (ADN) que codifican para la subunidad 16S del ARN ribosomal (ADNr 16S) constituye una gran herramienta para la clasificación genética de las bacterias y para demostrar la gran diversidad microbiana presente en el rumen de esos animales.

Objetivos

El objetivo de este trabajo fue identificar y caracterizar bacterias fibrolíticas aisladas del contenido ruminal de cabras criollas, mediante pruebas bioquímicas y genéticas.

Metodología

Para este trabajo se aislaron 13 cepas de bacterias anaerobias estrictas del contenido ruminal de cabras biotipo criollo que pastoreaban en el campo natural del Noreste de Mendoza. Las cepas aisladas y purificadas fueron acondicionadas para la extracción de ADN por el procedimiento de fenol-éter. Con el ADN extraído, se amplificaron las regiones del gen ADNr 16S mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), utilizando el kit QIA amp DNA Stool (Byodynamics®).

El fragmento amplificado por PCR fue purificado con el kit Illustra GFX™ (GE Healthcare®). Este fragmento fue clonado en un vector plasmídico para secuenciación (pCR®4-TOPO®) y con este vector se transfectaron *Escherichia coli* competentes (One Shot® TOP10), utilizando el kit TOPO TA Cloning® de Invitrogen®. Posteriormente se procedió con el cultivo de las *E. coli* competentes en un medio Luria-Bertoni con ampicilina y se realizó la selección de las bacterias recombinantes resistentes a este antibiótico.

Para la purificación de los plásmidos se utilizó el kit Illustra™ Plasmid Prep Mini Spin (GE Healthcare®). La secuenciación del ADN plasmídico purificado se realizó por el método de Sanger con secuenciadores capilares. Para la identificación genética de las cepas aisladas se utilizaron las secuencias editadas del ADNr 16S y se construyó un árbol filogenético. La identificación bioquímica de las cepas aisladas se fundamentó en los estudios de fermentación de diversas fuentes de carbono y en los productos finales obtenidos a partir de la fermentación de la carboximetilcelulosa (CMC).

Resultados obtenidos

Nuestros resultados apoyaron la designación de una de las cepas como perteneciente al género *Pseudobutyrvibrio ruminis*, un nuevo biotipo recientemente clasificado de la bacteria fibrolítica *Butyrvibrio fibrisolvens*.

Publicaciones

Las secuencias del ADNr16S están siendo bioeditadas para su publicación en el GenBank.

Conclusiones

Estos biotipos bacterianos son predominantes en el rumen de animales adaptados a rigurosas condiciones de alimentación y a dietas de baja calidad nutricional. Esto coincide con las condiciones de alimentación de los caprinos a partir de los cuales se aisló la cepa reportada en este informe. Hemos logrado el primer aislamiento de esta cepa bacteriana a partir del contenido ruminal de cabras.

Formación de recursos humanos

Para el cumplimiento de estos objetivos, la becaria María Eugenia Cobos desarrolló técnicas microbiológicas y bioquímicas para el aislamiento, la identificación y la caracterización de las cepas bacterianas aisladas.