

Diversidad bacteriana ruminal en cabras criollas alimentadas con una dieta tradicional

Ruminal bacterial diversity of creole goats fed with a traditional diet

D.J. Grilli¹; G.N. Arenas²; P. Dayenoff¹; V. Egea³; S. Paez Lama³; N. Sohaefer¹, C. Pereyra¹, S. Ruiz¹; L. Pereyra¹; L. Quiroga¹; D. Mancini¹; S. Vernola¹; Fliegerova⁴; J. Mrázek⁴

¹Universidad Juan Agustín Maza

²Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina.

³Instituto Argentino de Investigaciones de las Zonas Áridas, Centro Científico y Tecnológico, Mendoza, Argentina

⁴Institute of Animal Physiology and Genetics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Praha, Czech Republic

Contacto: diegogrilli@yahoo.com.ar

Palabras clave: cabras - diversidad microbiana - rumen

Key Words: goats - microbial diversity - rumen

Introducción

Los rumiantes poseen una gran eficiencia en la utilización de los sustratos presentes en las células vegetales, dada la presencia de bacterias anaeróbicas y enzimas hidrolíticas en el rumen. Debido a las limitaciones del cultivo anaeróbico, se han desarrollado nuevas técnicas de biología molecular que han permitido el análisis de tales microorganismos, sin la necesidad de cultivarlos, mediante la secuenciación de genes específicos. Nuestro equipo de investigación logró aislar y caracterizar a la especie bacteriana *Pseudobutyribrio xylanivorans*, a partir del rumen de cabras Criollas, proponiendo el uso de esta cepa como probiótico. Es necesario conocer la diversidad de las bacterias ruminales de cabras sometidas a diversas condiciones nutricionales, ya que de esta manera se puede prever la intensidad de los cambios generados por la introducción de la bacteria probiótica.

Objetivos

Identificar las principales bacterias ruminales mediante el análisis filogenético del gen ADNr 16S, utilizando secuenciación de alto rendimiento, para evaluar la diversidad bacteriana ruminal en cabras Criollas sometidas a una dieta tradicional.

Metodología

Se utilizaron 4 cabras fistuladas alimentadas durante 21 días con una dieta tradicional de forraje y concentrado (80% heno de alfalfa y 20% maíz). Las muestras de contenido ruminal obtenidas al final del ensayo se almacenaron a -20°C hasta su procesamiento. Se extrajo el ADN intracelular mediante un proceso de lisis mecánica que se combina con los pasos de filtración en columna del *Kit QIAamp DNA Stool*. Luego se purificó el ADN extracelular utilizando el *Kit DNeasy Blood and Tissue*. Se utilizó la técnica de PCR para amplificar regiones específicas del gen ADNr 16S. Los amplicones obtenidos fueron utilizados para la preparación de una librería de genes, posteriormente sometidos a PCR emulsión y luego pirosecuenciados. Las secuencias obtenidas fueron analizadas utilizando el software QIIME 1.843. Las secuencias mayores a 400 pb se agruparon en unidades taxonómicas operacionales y fueron asignadas a los grupos filogenéticos utilizando BLASTn.

Resultados

Se detectó una escasa variación individual en la estructura de la población bacteriana de las cabras sometidas a este tipo de dieta. Los phylum bacterianos predominantes fueron Bacteroidetes (54 ± 7%) y Firmicutes (29 ± 5%). Dentro del phylum Bacteroidetes se identificó un predominio del género *Prevotella sp.* (67 ± 1%) y de bacterias desconocidas del orden Bacteroidales (29 ± 1%). Dentro del phylum Firmicutes la mitad de las secuencias (54 ± 2%) pertenecieron al género *Streptococcus sp.* En promedio, un tercio de la comunidad microbiana no pudo ser clasificada a nivel de género, constituyendo una importante proporción de bacterias con identidad y funciones desconocidas. Casi todas las arqueas fueron identificadas como reconocidos residentes del rumen con capacidad metanogénica. El clado *Methanobrevibacter gottschalkii* representó el 94% de las arqueas ruminales.

Discusión

Las bacterias predominantes encontradas en este estudio son probablemente responsables de la transformación del alimento incorporado en el rumen, especialmente de la celulosa, hemicelulosa, pectina, almidón y proteínas; ya que éstos son los principales sustratos vegetales utilizados para el crecimiento de las bacterias identificadas. Las arqueas predominantes son metanógenas hidrogenotróficas, es decir producen metano a partir del hidrógeno resultante de los procesos fermentativos.

Conclusiones

Este estudio con una gran base metodológica molecular, ha demostrado que el ecosistema bacteriano ruminal de cabras Criollas, alimentadas con una dieta tradicional de heno de alfalfa y maíz (80:20), es altamente redundante (superposición de múltiples géneros bacterianos). El análisis de la diversidad bacteriana ha permitido la identificación de este «microbioma núcleo», dominado por géneros bacterianos identificados de los phylum Firmicutes y Bacteroidetes, pero también integrado por muchos otros taxones bacterianos pobremente clasificados y por una comunidad de arqueas metanogénicas menos diversa y altamente conservada.