

Análisis de la diversidad bacteriana del rumen de cabras Criollas alimentadas con dos dietas diferentes mediante PCR-DGGE y q-PCR

D.J. Grilliae; J. Mrázekb; M.E. Cerónc; V. Egead; S. Paez Lamad, M. Sosa Escuderoe y G.N. Arenase

Recursos Humanos en Formación: D. Carcaño, N. Sohaefer, A. Fernández, C.

Pereyra, L. Pereyra, A. Cáceres, S. Ruiz, D. Mancini, J.M. Diez, L. Quiroga

^aFacultad de Ciencias Veterinarias y Ambientales, Universidad Juan Agustín Maza

^bInstitute of Animal Physiology and Genetics. Academy of Sciences of the Czech Republic

^cCentro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, INTA Castelar, Buenos

Aires ^dInstituto Argentino de Investigaciones de las Zonas Áridas ((IADIZA), CCT-CONICET

Mendoza ^eFacultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza,

Argentina diegogrilli@yahoo.com.ar

Introducción

La compleja microbiota simbiótica del rumen es responsable de la degradación de la fibra vegetal, una capacidad que los tejidos del animal hospedador han perdido evolutivamente. Poco se conoce acerca de las características de fermentación y las poblaciones bacterianas del rumen de las cabras Criollas. Los recientes avances en técnicas de biología molecular permiten el análisis de tales bacterias sin la necesidad de cultivarlas, y la identificación de esta manera de muchas bacterias funcionales, no cultivadas, como nuevos objetivos de investigación básica y aplicada. // Existe un creciente interés en comprender los mecanismos a partir de los cuales las taxas bacterianas muestran respuestas uniformes frente a diferentes estímulos ambientales. Las técnicas de PCR-DGGE y qPCR fueron asociadas en una aproximación en dos pasos, para determinar tanto la abundancia como la diversidad de las comunidades bacterianas que habitan el rumen de cabras Criollas, alimentadas con dos dietas diferentes: heno de alfalfa y maíz (HA/M) y forrajeras nativas (FN).

Metodología

Las muestras de contenido ruminal fueron obtenidas de cabras fistuladas alimentadas durante 21 días con una dieta de heno de alfalfa y maíz, en proporción 70:30 (HA/M). Luego la alimentación fue abruptamente modificada por una dieta cuyos principales ingredientes fueron las especies forrajeras nativas *Atriplex lampa* y *Prosopis flexuosa* (dieta FN), la que se mantuvo por otros 21 días. // Los contenidos ruminales fueron muestreados a los 2, 10 y 21 días después del comienzo de cada dieta. Las muestras recolectadas fueron conservadas utilizando un reactivo estabilizador de ADN (RNAlater), que permitió la extracción de ADN de buena calidad mediante el kit de Qiagen QIAamp® DNA Stool. // Las bacterias totales y aquellas pertenecientes

a los Phylum Firmicutes, Actinobacteria, Bacteroidetes y γ -Proteobacteria fueron cuantificadas mediante PCR en tiempo real (q-PCR), utilizando "primers" que reconocen el gen ARNr16S. La región V3 del gen ARNr16S presente en el ADN total aislado del rumen fue amplificada por PCR. Los amplicones resultantes fueron separados en geles que permitían aplicar electroforesis gradiente desnaturalizante (DGGE). // Para determinar el patrón de bandeo en términos de diversidad estructural, de cada gel fueron recortadas las bandas distinguibles y fueron analizadas de dos maneras diferentes. Por un lado, fueron calculadas las similitudes de todas las muestras obtenidas para luego realizar un análisis grupal de los valores de similitudes de las matrices empleadas. Por otro lado, se calculó el índice H de diversidad a partir del patrón de bandeo obtenido en los geles DGGE.

Resultados

Los primeros datos obtenidos han demostrado que las cabras alimentadas con la dieta FN mostraron una mayor diversidad bacteriana ruminal que las cabras que recibieron la dieta HA/M. En todos los casos, las taxas bacterianas evidenciadas fueron clasificadas como desconocidas. Sin embargo, se identificó al phylum Firmicutes como el principal taxón presente en las muestras ruminales. No se observaron diferencias significativas entre las concentraciones de bacterias ruminales totales, Firmicutes, Bacteroidetes o γ -Proteobacteria. Sin embargo, la proporción de Actinobacteria fue significativamente superior ($p < 0,05$) en las cabras alimentadas con la dieta FN que en aquellas que recibieron la dieta HA/M.

Publicaciones

DJ Grilli, J Kopečný, J Mrázek, S Paez Lama, M Sosa Escudero and GN Arenas. Analysis of the rumen bac-

terial diversity of Creole goats under two different diet conditions using PCR-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis and q-PCR. 9th Joint Symposium "Gut Microbiology". Rowett Institute of Nutrition and Health, University of Aberdeen, Scotland (UK) and the Institut National de la Recherche Agronomique, Clermont-Ferrand-Theix (France). Aberdeen, UK, June 2014.

Conclusión

Los resultados preliminares obtenidos del análisis de las muestras ruminales mediante PCR-DGGE y q-PCR sugieren que la comunidad bacteriana del rumen puede ser modificada sustancialmente por los cambios de alimentación.