

Caracterización de la población bacteriana ruminal de cabras Criollas bajo a diferentes condiciones de alimentación, utilizando diversas técnicas moleculares

Characterization of the rumen bacterial population of Criollas goats under different feeding conditions, using a variety of molecular techniques

D. Grilli,^{1,2}; G.N. Arenas^{1,3}; P. Dayenoff¹; N. Sohaefer¹; C. Pereyra¹; S. Ruiz¹; L. Quiroga¹; L. Pereyra¹; S. Vernola¹; K. Fliegerova⁴; J. Mrázek⁴

Universidad Juan Agustín Maza

²Instituto de Histología y Embriología de Mendoza, CCT-CONICET Mendoza.

³Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina

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

Contacto: diegogrilli@yahoo.com.ar

Palabras clave: PCR-DGGE - PCR en Tiempo Real - microorganismos ruminales

Key Words: PCR-DGGE - Real-Time PCR - ruminal microorganisms

Introducción

Los recientes avances en técnicas de biología molecular permiten el análisis de bacterias anaerobias estrictas sin la necesidad de cultivarlas, identificando de esta manera muchas bacterias funcionales como nuevos objetivos de estudio. Nuestro equipo de investigación logró aislar y caracterizar a la especie bacteriana hemicelulolítica *Pseudobutyribrio xylanivorans*, a partir del rumen de cabras Criollas, proponiendo el uso de esta cepa como probiótico. Previamente a la introducción de bacterias probióticas es necesario conocer la diversidad y abundancia de las especies microbianas predominantes para poder prever la intensidad de los cambios generados por la introducción de la bacteria probiótica.

Objetivo General

Caracterizar la población bacteriana del rumen de cabras Criollas, sometidas a diferentes condiciones de alimentación, utilizando diversas técnicas moleculares.

Metodología

Se realizaron 3 experimentos de alimentación: 1) Cuatro cabras fistuladas fueron alimentadas con una dieta tradicional de heno de alfalfa (80%) y maíz (20%) durante 21 días. 2) Previo al inicio del experimento, 8 cabras fistuladas fueron alimentadas con heno de alfalfa, por un período de 30 días. Posteriormente, 4 cabras fueron seleccionadas al azar y se cambiaron a una dieta mixta conformada por 60% de heno de alfalfa y 40% de maíz durante 20 días. Las cabras restantes se mantuvieron con la dieta de heno de alfalfa (grupo control). Los contenidos ruminales se muestrearon a los 2, 10 y 20 días después del comienzo del periodo experimental. El pH de las muestras se midió inmediatamente con un electrodo de vidrio. 3) Cuatro cabras fistuladas fueron alimentadas con una dieta de heno de alfalfa durante un período de 30 días. Luego, los animales fueron abruptamente cambiados a una dieta de alfalfa fresca (FAF) durante 30 días. Las muestras de contenido ruminal se obtuvieron 4 días previos a la incorporación de FAF (control, día 0) y luego del cambio dietético, según la incidencia y la

gravedad de las manifestaciones clínicas del timpanismo. La técnica de secuenciación de alto rendimiento permitió la identificación de las principales especies de bacterias, arqueas y protozoos ruminales y se evaluó la abundancia relativa y la diversidad de las especies microbianas ruminales predominantes en las cabras con la dieta tradicional. Las técnicas PCR-DGGE y qPCR fueron utilizadas como herramientas para la identificación y cuantificación de las principales especies bacterianas de las cabras sometidas al experimento 2 y 3.

Resultados y Discusión

El ecosistema microbiano del rumen de cabras alimentadas con una dieta tradicional está dominado por una comunidad bacteriana estable, conformada por bacterias pobremente clasificadas y poco caracterizadas, compartidas con otras especies de rumiantes y por una comunidad de arqueas metanogénicas menos diversa y altamente conservada. La combinación de los diferentes enfoques moleculares proporcionó una valiosa información sobre la estructura, diversidad y dinámica de la población bacteriana de cabras alimentadas con dietas mixtas (60:40), demostrando que una proporción del 40% del alimento concentrado en la dieta no induce ninguna perturbación negativa en el ecosistema bacteriano ruminal. Por otro lado, se determinó que el factor inductor del timpanismo espumoso fue la ingesta de FAF con un alto contenido de nitrógeno soluble y nitrógeno soluble proteico. Los animales gravemente timpanizados, revelaron una población bacteriana específica y todavía no cultivada perteneciente al *phylum Bacteroidetes*.

Conclusión

Este estudio permitió la identificación de un "microbioma ruminal núcleo" dominado por los *phylum Firmicutes* y *Bacteroidetes* en los diferentes tipos de dietas. Esto proporciona una notable estabilidad que mantiene la función digestiva en el hospedador a pesar de la gran variedad de condiciones de alimentación, lo que determina un reto para mejorar las funciones ruminales mediante la manipulación del ambiente ruminal.