

Microbioma y metagenoma del conejo

Los animales convivimos con un genoma distinto al propio, y al que no se le ha prestado atención hasta muy recientemente: el genoma de los microbios que habitan en distintas partes de nuestro cuerpo como la piel, la boca, la vagina o el intestino. Su importancia para regular caracteres relacionados con la salud y el bienestar era conocida, pero hoy en día se está poniendo de relevancia la importancia fundamentalmente de los microbios gastrointestinales y sus genes, en la regulación de caracteres productivos como el índice de conversión, tamaño de camada o calidad de la canal.

AGUSTÍN BLASCO Y PILAR HERNÁNDEZ

En la **Figura 1** podemos ver las aproximaciones al estudio de estos microbios; el análisis de la microbiota, del metagenoma o del microbioma en su conjunto. Este es un campo de estudio emergente.

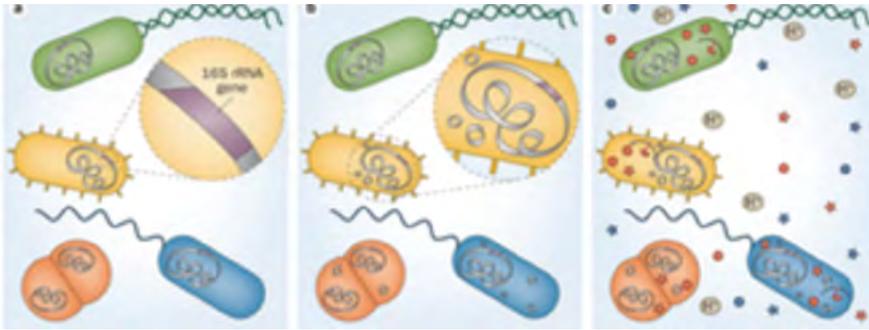
Microbiota vs. metagenoma

La forma de abordar estos campos de estudio es diferente, la microbiota se analiza clasificando los microbios en grupos como especie, género (agrupación de especies), orden (agrupación de familias), clase

(agrupación de órdenes) o fyla (agrupación de clases). La forma de identificar las especies de bacterias es analizar un gen cuyas variantes son características de cada una de estas especies, el gen 16S. Estos análisis tienen un coste accesible y son los más generalizados.

El metagenoma, por el contrario, es más costoso y difícil de estudiar, porque supone realizar la secuenciación de todos los genes de las bacterias presentes. La ventaja del metagenoma es que muestra los genes que están presentes, que pueden pertenecer a varias especies de bacterias, mostrando qué rutas metabólicas pueden estar implicadas en el carácter que estemos analizando. No todos estos genes pueden

estar expresándose en un momento determinado, por lo que conviene saber cuáles están activos en el momento de realizar el experimento. Para ello se puede recurrir al análisis de expresión génica (llamado transcriptómica), pero estos análisis son caros y difíciles de interpretar; una vía alternativa puede estar en el estudio de los productos químicos a los que han dado lugar los genes, los metabolitos presentes en el medio que se esté investigando (el intestino, por ejemplo). Este último estudio se conoce como metabolómica, y el progreso de las técnicas de análisis ha permitido recientemente que se puedan analizar centenares de productos en cada pequeña muestra.



(Tomado de: Whiteside S.A. et al., 2015)

Figura 1.

a) Microbiota: todos los microorganismos presentes en un medio ambiente; por ejemplo, en el intestino. b) Metagenoma: genes y genomas de la microbiota. c) Microbioma: el nicho ecológico completo, incluida la microbiota, el metagenoma y los productos que forman la microbiota y el medio ambiente analizado.

El caso del conejo

Los estudios en conejos se han centrado en la caracterización de las comunidades microbianas del ciego, ya que el ciego es la principal cámara de fermentación del tubo digestivo, y por otra parte el ciego del conejo está particularmente desarrollado en comparación con otros monogástricos. Esto último, y el fenómeno de la cecotrofia, hacen que los estudios de ciego sean particularmente relevantes en el caso de los conejos. Además, el ciego de conejo contiene una proporción mucho mayor de bacterias vivas que otras partes del tracto intestinal, debido a la presencia de las heces blandas ingeridas directamente del ano. Este es un tema importante, ya que las bacterias muertas interfieren en la interpretación de los resultados.

La microbiota intestinal del conejo contiene cientos de miles de millones de microorganismos por gramo, de más de 1.000 especies diferentes. La asignación taxonómica muestra que las principales fyla presentes en el ciego son Firmicutes (76,42%), Tenericutes (7,83%) y Bacteroidetes (7,42%), mientras que el reino Archaea se presentó en un bajo porcentaje (0,61%). La composición de la microbiota varía a lo largo del tracto intestinal, incluso cuando se compara el contenido del ciego con las heces duras (Velasco *et al.*, 2018). En conejos, los estudios sobre microbiota se han orientado principalmente a la salud digestiva (Combes *et al.*, 2017) y los efectos de la restricción de alimentos (Velasco *et al.*, 2017). Como era de esperar, hay diferencias entre grupos bacterianos en condiciones de mejor o peor salud digestiva, sea esta inducida por el manejo o por la restricción de alimento. En cuanto a la restricción en sí, en buenas

condiciones sanitarias, Velasco *et al.* (2017) no encontraron diferencias relevantes entre animales ad libitum o restringidos. Las consecuencias sobre el crecimiento han sido examinadas por Zeng *et al.* (2015), quienes compararon microbiota de alto peso y bajo peso de conejos Rex, y descubrieron que varios grupos bacterianos estaban sobrerrepresentados en heces duras de conejos con alto peso. También Velasco *et al.* (2017) encontraron grupos bacterianos relacionados con el crecimiento.

- Microbiota o el metagenoma y la calidad de la carne

Se han realizado pocos estudios sobre las relaciones entre la microbiota o el metagenoma y la calidad de la carne en cualquier especie ganadera, y no siguen un patrón común. En conejos, nuestro equipo ha mostrado que la selección de grasa intramuscular modifica el genoma microbiano para las rutas metabólicas de energía en el intestino del conejo (Zubiri *et al.*, 2019; Martínez *et al.*, 2019). En una selección divergente para la grasa intramuscular, los genes involucrados en el metabolismo de carbohi-

dratos específicos mostraron una mayor abundancia relativa en la línea seleccionada para un mayor contenido de grasa intramuscular respecto a la línea seleccionada para menor grasa intramuscular. Otros genes, como los involucrados en la biosíntesis de lipopolisacáridos, fueron más abundantes en la línea seleccionada por menor contenido de grasa intramuscular. En la actualidad estamos examinando el metaboloma de las heces, para ver qué productos están activos. Este estudio confirma que la microbiota también está determinada por los genes del individuo en el que se aloja la microbiota, lo que hace interesante examinar la relación entre ambos, así como su relación con los metabolitos encontrados. El problema es complejo porque se dispone de 200.000 marcadores genéticos del individuo, de 6.000 genes del microbioma, y en torno a 1.000 metabolitos. Con todo ese material, y examinando sus relaciones respectivas, esperamos entender mejor por qué hay una línea que depone más grasa intramuscular que la otra. Esto se hará extensivo a otros caracteres de calidad de la canal y de la carne en los que hemos encontrado diferencias entre las líneas; por ejemplo, una línea tiene una deposición de grasa en la canal superior a la otra.

Perspectivas de futuro

En el futuro, los análisis microbiómicos, metagenómicos y los relacionados con la microbiota van a dar lugar al desarrollo de dos aspectos importantes; en primer lugar se van a conocer mucho mejor los mecanismos que regulan los caracteres productivos. En segundo lugar, se va a poder modificar la microbiota para producir beneficios, tanto en salud como en los ca-



racteres de interés productivo. Por ejemplo, un proyecto conjunto entre el IRTA y el INRA francés está investigando la microbiota digestiva en conejo con el objetivo de mejorar la eficiencia alimentaria (IRTA-INRA, 2019). Por ejemplo, en nuestro equipo estamos examinando la microbiota de dos líneas maternas, una robusta y otra comercial estándar, a lo largo de su vida productiva. Si ciertos grupos bacterianos están más presentes en las conejas que tienen más partos, o en las conejas de la línea más robusta, se podría intentar producir un probiótico que, añadido al pienso, favoreciera la longevidad. El mismo procedimiento se puede seguir si los resultados de comparación de líneas, piensos, o tratamientos, indican que las diferencias en crecimiento o salud digestiva se debe en parte a la presencia de ciertos grupos bacterianos. Poniendo otro ejemplo, en un experimento de nuestro grupo con la Universidad Miguel Hernández de Orihuela, hemos seleccionado líneas para mayor y menor variabilidad del tamaño

de camada, un carácter relacionado con la resistencia a enfermedades y al estrés; el análisis metagenómico nos permitirá entender mejor el mecanismo que hace que ciertas hembras sean más constantes que otras en tamaño de camada a lo largo de sus partos, pero también puede permitir detectar grupos bacterianos que se encuentren preferentemente en una de las líneas.

Es pronto para ofrecer resultados relevantes, estamos en el inicio de este tipo de investigaciones, pero creo que en los próximos años los investigadores que trabajamos en este campo no sólo entenderemos mejor la biología de los caracteres productivos del conejo, sino que tendremos algo que ofrecer a la industria.

Bibliografía

Combes S., Michellan, R. J., Monteils V., Cauquil L., Soulié V., Tran N. U., ... Fortun-Lamotte F. 2011. Postnatal development of the rabbit caecal microbiota composition and activity. *FEMS Microbiol. Ecol.* 77, 680-689.

IRTA-INRA 2019. https://www.feed-a-gene.eu/sites/default/files/documents/Feed-a-Gene_D5.1_Rules_to_use_information_from_the_gut_microbiota_to_improve_feed_efficiency.pdf

Martínez-Álvaro M., Zubiri-Gaitán A., Casto-Rebollo C., Blasco A., Hernández P. 2019. Selection for intramuscular fat modifies microbial genome for energy metabolic routes in rabbit gut. 70th Annual Meeting of the European Association of Animal Science. Ghent 26-30 August 2019.

Velasco M., Piles M., Viñas M., Rafel O., González O., Guivernau M., Sánchez J.P. 2017. Estudio del efecto de dos regímenes alimentarios (*ad libitum* frente restricción) sobre la microbiota intestinal de conejos de carne. XVII Jornadas sobre Producción Animal, Zaragoza, 2017: 561-563.

Velasco-Galilea M., Piles M., Viñas M., Rafel O., ... Sánchez J.P. 2018. Rabbit microbiota changes throughout the intestinal tract. *Frontiers in Microbiology* 9:2144.

Whiteside S.A., Razvi H., Dave S., Reid G., Burton J.P. 2015. The microbiome of the urinary tract--a role beyond infection. *Nat. Rev. Urol.* 12: 81-90.

Zeng B., Han S., Wang P., Wen B., ... Li Y. 2015. The bacterial communities associated with fecal types and body weight of rex rabbits. *Sci. Rep.* 5: 9342.

Zubiri-Gaitán A., Martínez-Álvaro M., Casto-Rebollo C., Blasco A., Hernández P. 2019. Rabbit microbiome analysis through compositional data analysis techniques. 70th Annual Meeting of the European Association of Animal Science. Ghent 26-30 August 2019.