

Caracterización del microbioma y del resistoma en deyecciones y purines de vacuno de leche en Cantabria

Coordinación

Athanasía Varsaki

Equipo

*Ibtissam Nejjam
Beatriz Montolio Conde
Desirée Bermúdez Martínez
Verónica Miguel Pérez*

Introducción

El sector ganadero de bovino de leche genera cada día cantidades importantes de purín y estiércol (unos 55 l/día/vaca) que, gracias a su alto nivel agronómico, puede sustituir de manera parcial o total a los abonos químicos. Sin embargo, tienen un impacto tanto ambiental (eutrofización, emisión de gases de efecto invernadero, concentración odorífera, etc.), como biológico (potenciales portadores de agentes patógenos) que es mayor cuando no se aplican de acuerdo a los códigos de buenas prácticas agrarias.

En el presente proyecto se estudian las diferencias del microbioma y del resistoma de los purines entre tres sistemas de producción lechera: intensivo, pastoreo convencional y pastoreo ecológico. El objetivo final es la recomendación de una gestión transversal y estrategias que puedan mejorar la seguridad alimentaria, así como la sostenibilidad y rentabilidad de los tres tipos de producción estudiadas. Este proyecto aplica las poderosas herramientas del análisis de secuenciación masiva para comprender la relación entre los factores que influyen en la difusión de genes de resistencia en antibióticos y cómo estos factores se ven afectados por el sistema de producción. Adicionalmente se estudiarán las diferencias entre los tres sistemas de producción en bacterias metanogénicas presentes en las deyecciones y así determinar el potencial de la microbiota intestinal

en la producción de metano entérico, uno de los gases de efecto invernadero.

Materiales y métodos

Se han realizado 21 encuestas destinadas a ganaderías de bovino de leche de Cantabria, cuyo objetivo es tener información suficiente para determinar las tipologías de las ganaderías y establecer relaciones entre las prácticas de manejo del ganado y la microbiota fecal. En cada ganadería se han recogido heces de vacas en producción por vía rectal y purines del estercolero. Las muestras se han conservado en nitrógeno líquido justo después de su recolección y se han llevado al laboratorio donde se guardaron en los -80°C hasta su análisis. El análisis consiste en la determinación de sus parámetros físico-químicos, extracción de ADN, cuantificación y control de calidad del ADN, la constitución de librerías y secuenciación masiva mediante la tecnología en nanoporos.

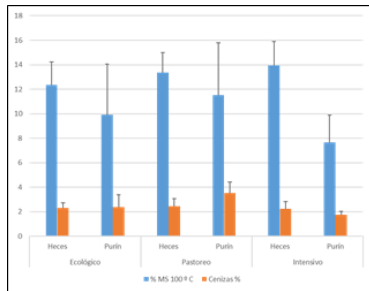
Resultados y conclusiones

1. Análisis físico-químico

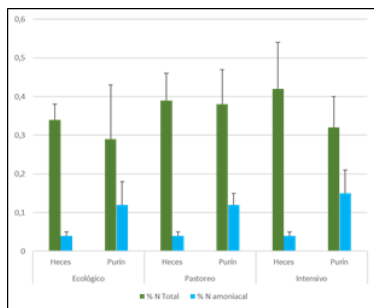
Los parámetros físico-químicos que se han analizado son pH, conductividad eléctrica (CE), densidad, sólidos totales (TDS), materia seca (MS), cenizas), contenido en nitrógeno (total y amoniacal), macrominerales (Ca, Mg, K y P) y microminerales (Fe, Mn, Cu y Zn). Como se puede ver en la figura 1, las muestras tienen una gran variabilidad tanto entre las explotaciones como entre los sistemas de producción.

Figura 1: Parámetros físico-químicos. A: materia seca (MS) y cenizas; B: contenido en nitrógeno (total y amoniacal); C: contenido (% MS) en macrominerales (Ca, Mg, K y P); D: contenido (ppm) en microminerales (Fe, Mn, Cu y Zn).

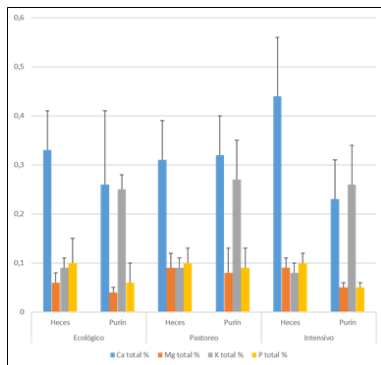
A.



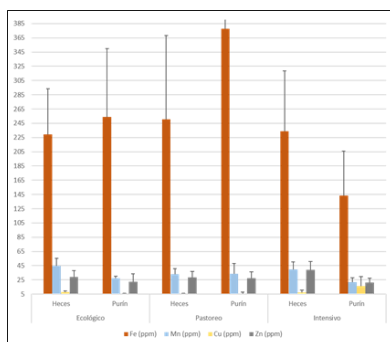
B.



C.



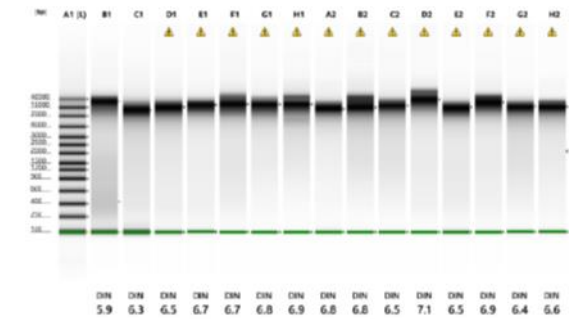
D.



2. Análisis molecular y secuenciación

La cuantificación del DNA extraído y el control de su calidad indican que las muestras tienen la cantidad y calidad adecuada para la secuenciación. En cuanto a la integridad, el ADN tiene un número de integridad (DIN) que varía entre 5,9 y 7,1 (Figura 2) lo que refleja una buena integridad de las muestras analizadas. Esas muestras han sido objeto de la construcción de las librerías para secuenciación masiva.

Figura 2. Integridad del ADN extraído.



El próximo paso es el uso de herramientas bioinformáticas para el análisis de las secuencias y la búsqueda de una posible asociación entre los sistemas de producción de vacas lecheras y los microbiomas y resistomas estudiados. El proceso contiene los siguientes pasos: predicción de los ORF (CDS), búsqueda de homología contra bases de datos taxonómicas y funcionales, asignación taxonómica de genes, asignación funcional de genes, estimación de taxones y abundancias de funciones, asignación de genes de resistencia en antibióticos utilizando la base de datos CARD.