

Diversidad y abundancia de la microbiota vaginal asociada a diferentes razas de ovino

E. L. Reinoso-Peláez^{1,2}, M. Saura¹; C. González¹, O. González-Recio¹, A. Fernández¹; M. Ramón³; J.H. Calvo⁴; I. Beltrán de Heredia⁵; M. Serrano¹

¹Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA-CSIC), Ctra. de La Coruña, km 7.5, 28040 Madrid, España

edgar.reinoso@inia.csic.es (Corresponding Author)

²Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid, España

³ Instituto Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario y Forestal de Castilla-La Mancha (IRIAF), Avda. del Vino s/n, 13300 Valdepeñas

⁴Unidad de Producción y Sanidad Animal, Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA) - Instituto Agroalimentario de Aragón (IA2), Avenida Montañana, 50059 Zaragoza, Spain

⁵ NEIKER, Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, BRTA Basque Research and Technology Alliance. Campus Agrolimentario de Arkaute s/n E-01192 Arkaute.

Resumen

La baja tasa de fertilidad por inseminación artificial (IA) en el ganado ovino representa un importante reto para los programas de mejora genética de esta especie. Aunque se han descrito causas morfológicas y fisiológicas asociadas, el conocimiento de otros factores potencialmente involucrados, como el efecto de la microbiota vaginal, es todavía muy escaso.

En este trabajo se ha caracterizado el microbioma del tracto reproductivo de ovejas de cuatro razas españolas, genéticamente diferenciadas y sujetas a distintos sistemas de producción. El objetivo consistió en evaluar diferencias en la diversidad y abundancia de la microbiota entre las distintas razas, con el fin de establecer un *core* microbiota específico de raza que pueda estar potencialmente relacionado con la tasa de fertilidad por IA.

Se disponía de muestras de exudado vaginal de 96 ovejas (24 por raza) pertenecientes a las razas Assaf, Latxa, Manchega, y Rasa Aragonesa. La secuenciación del metagenoma completo se realizó utilizando la técnica de Nanoporos (MinION). Tras realizar el base-calling (Guppy 4.2.2, <https://nanoporetech.com/community>), se realizó un primer filtrado para eliminar contaminación con secuencias del hospedador (BBMap, <https://bio.tools/bbmap>). Las secuencias retenidas se analizaron con SqueezeMeta 1.1.0 (Tamames and Puente-Sánchez, 2019) y posteriormente se aplicaron filtros para eliminar secuencias no clasificadas y aquellos taxones con una abundancia relativa < 0,1%. La diversidad y abundancia de la microbiota se evaluaron a través de las estimas de alfa (Observada, Chao1, Shannon e InvSimpson) y beta (PERMANOVA, PCA y análisis de abundancia diferencial) diversidad, implementándose una normalización CLR previa en el caso de la diversidad beta.

Los resultados revelaron una diversidad alfa significativamente mayor en la raza Manchega que en las demás razas, seguida de la Rasa Aragonesa. Los PCA evidenciaron una mayor diferenciación de la raza Manchega con respecto a las demás. Los análisis de abundancia diferencial mostraron diferencias significativas entre las cuatro razas. Así, Assaf presentó una mayor abundancia de los filos Chloroflexi y Gemmatimonadetes, mientras que en Laxta, los filos más abundantes con respecto a las demás razas fueron Fusobacteria, Tenericutes, y

Proteobacteria. Esta fue también la raza con mayor abundancia del género *Lactobacillus*, previamente descrito en humanos por su efecto probiótico debido a su capacidad acidificante (Bernabeu et al., 2019). Los filos más abundantes en Manchega fueron Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, y Fusobacteria, destacando por una mayor abundancia de los géneros *Fusobacterium*, *Sneathia*, *Mycoplasma*, y *Streptobacillus*, previamente asociados a problemas de preñez en un trabajo previo de nuestro grupo (Serrano et al., 2020). La raza Rasa Aragonesa presentó mayor abundancia de los filos Fibrobacteres, Euryarchaeota, y Candidatus Melainabacteria al comparar con las otras tres razas, con niveles de *Bifidobacterium*, *Dietzia*, y *Corynebacterium*, diferencialmente más abundantes. Estos géneros se han relacionado previamente en rumiantes con un efecto probiótico (Yilmaz et al., 2011).

Estos resultados preliminares sientan las bases para determinar la influencia de la genética de la raza, así como del sistema de manejo en la composición de la microbiota vaginal y su potencial efecto sobre la tasa de fertilidad por IA.

Palabras Clave: razas ovino, metagenoma vaginal, fertilidad.

Referencias:

- Bernabeu, A., B. Lledo, M.C. Díaz, F.M. Lozano, V. Ruiz, A. Fuentes, A. Lopez-Pineda, B. Moliner, J.C. Castillo, J.A. Ortiz, J. Ten, J. Llacer, C. Carratala-Munuera, D. Orozco-Beltran, J.A. Quesada, and R. Bernabeu. 2019. Effect of the vaginal microbiome on the pregnancy rate in women receiving assisted reproductive treatment. *J. Assist. Reprod. Genet.* 36:2111–2119. doi:10.1007/S10815-019-01564-0/FIGURES/5.
- Serrano, M., E. Climent, F. Freire, J.F. Martínez-Blanch, C. González, L. Reyes, M.C. Solaz-Fuster, J.H. Calvo, M.Á. Jiménez, and F.M. Codoñer. 2020. Influence of the ovine genital tract microbiota on the species artificial insemination outcome. A pilot study in commercial sheep farms. *High-Throughput* 9:1–17. doi:10.3390/ht9030016.
- Tamames, J., and F. Puente-Sánchez. 2019. SqueezeMeta, A Highly Portable, Fully Automatic Metagenomic Analysis Pipeline. *Front. Microbiol.* 9:3349. doi:10.3389/FMICB.2018.03349.
- Yilmaz, Ö.T., G. Kaşıkçı, and M.C. Gündüz. 2011. Benefits of pregnant sheep immunostimulation with *Corynebacterium cutis* on post-partum and early newborn's life IgG levels, stillbirth rate and lamb's weight. *Small Rumin. Res.* 97:146–151. doi:10.1016/J.SMALLRUMRES.2011.03.002.