

EFEECTO DE TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS EN LAS ESPONJAS DE SINCRONIZACIÓN SOBRE LA MICROBIOTA VAGINAL DE OVEJAS DE RAZA ASSAF Y SU IMPACTO EN LA TASA DE PREÑEZ POR INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

Reinoso-Peláez, E.L., González-Recio, O., González, C., Saura, M., López-García, A., Saborío-Montero, A., Serrano, M.

INIA, 28040 Madrid; edgar.reinoso@inia.es

INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas más importantes de los programas de mejora genética en el ganado ovino de leche es la baja fertilidad obtenida por inseminación artificial (IA), 30 a 50% según la raza, a pesar del importante avance de las técnicas de inseminación y preparación de las dosis seminales. Estudios previos de nuestro grupo (Serrano *et al.*, 2020) demostraron que la abundancia diferencial de algunos géneros microbianos del tracto vaginal de las ovejas son responsables de la variabilidad de la tasa de preñez por IA. Este trabajo tiene como objeto estudiar el efecto del uso de probióticos y antibióticos sobre la composición de la microbiota del tracto vaginal en ovino y su posible asociación con el resultado de la IA, utilizando técnicas metagenómicas.

MATERIAL Y MÉTODOS

En 4 lotes de 13 ovejas/lote de un rebaño de raza Assaf, se probaron tratamientos alternativos en las esponjas de sincronización: (a) control (esponja sin aditivo), (b) antibiótico (Framycetina), (c) probiótico (*Lactobacillus rhamnosus*), (d) excipiente del probiótico (Maltodextrina). Se tomaron muestras de exudado vaginal con hisopos antes de poner la esponja y el día de la inseminación. El ADN bacteriano se extrajo utilizando el Real Microbiome Vaginal DNA kit (Real Laboratory). La secuenciación del metagenoma se realizó mediante tecnología de nanoporos (MinION, Oxford Nanopore). El tratamiento informático de las secuencias microbianas se llevó a cabo con el software SqueezeMeta para asignar la taxonomía (Tamames y Puente-Sánchez, 2019; Zhou *et al.*, 2010). Para determinar las diferencias de microbiota entre tratamientos se realizó un análisis de componentes principales (PCA) y un análisis de varianza (PERMANOVA) con los datos transformados (CLR). Para una exploración preliminar de taxones asociados al tratamiento de la esponja, se llevó a cabo un análisis de abundancia relativa (AR) mediante el software DEseq2 (Love *et al.*, 2014).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La clasificación taxonómica del metagenoma vaginal identificó 906 géneros, 425 familias, 230 órdenes, 125 clases y 69 phylum. Los análisis de los datos composicionales sugieren la existencia de diferencias en la microbiota vaginal por efecto de la esponja de sincronización ($p \leq 1e-04$). La proporción de la varianza explicada por los PCAs 1 a 5 a nivel de filo fue de 9,2%, 6,7%, 5,7%, 5,2% y 4,6%, respectivamente. No se observaron diferencias significativas en la composición de la microbiota vaginal entre ovejas preñadas y no preñadas utilizando las muestras recogidas tras retirar la esponja. El análisis AR mostró una asociación significativa en la proporción de algunos taxones antes y después de poner las esponjas ($|\log_2\text{Fold-Change}| \geq 1,5$; FDR 10%). Los phyla Actinobacteria y Firmicutes fueron menos abundantes antes de poner la esponja y los phyla Fusobacteria y Proteobacteria menos abundantes tras la retirada de la misma. No obstante, no se observó un patrón claro que asocie la fertilidad por IA a las diferencias en microbiota debidas al tipo de tratamiento administrado en la esponja de sincronización.

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos parecen indicar que los tratamientos administrados en las esponjas modifican en distinto grado la composición de la microbiota vaginal de las ovejas, aunque el patrón asociado a cada uno de ellos en particular es difuso. No se ha detectado asociación entre la tasa de preñez por IA y la composición de la microbiota vaginal. No obstante, es necesario confirmar estos resultados con otro tipo de aproximaciones, así como explorar con más detalle el filtrado y normalización de los datos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Serrano M, Climent E *et al.* 2020. High-Throughput 9, 16. • Tamames J, Puente-Sánchez F. 2019. Front Microbiol 24; 9: 3349. • Love MI, Huber W, Anders S 2014. Genome Biology, 15, 550.

Agradecimientos: GOR Castilla-León 001958/G02 Convenio INIA-GENOVIS CON19-043; proyecto RTI-2018-096487-R-C33 (MCIU); OVIGEN, ASSAF.E y José Antonio Requejo de Pago Los Vivales; Centro de Supercomputación de Galicia (CESGA).