ANÁLISIS DEL MICROBIOMA DE LA LECHE MANCHEGA: ILLUMINA *VS*. PACBIO

Heddi[1*], I., Estellé[2], J., Garzón[3], A., Ramon[4], M., Martinez-Priego[5], L.l., Manzano[5], I. y Arias[1], R.

[1]IRIAF, Cersyra, Av. Vino 10, 13300 Valdepeñas, España; [2]Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, GABI, 78350 Jouy-en-Josas, Francia; [3]Universidad de Córdoba, Dpto. de Producción Animal, Ctra. Madrid-Cádiz km 3, 14071 Córdoba, España; [4]INIA-CSIC, Mejora Genética Animal, Crta. Coruña Km 7,5; 28040 Madrid, España; [5]FISABIO Sequencing and Bioinformatics Service. Avenida de Cataluña 21, 46020 València, España
*iheddi@jccm.es

INTRODUCCIÓN

El estudio del microbioma ha adquirido una relevancia significativa en diversas áreas de la biología y la medicina, ofreciendo perspectivas esenciales sobre la composición, diversidad y funciones de los microorganismos en diversos ecosistemas. Entre los temas de interés, el microbioma de la leche de oveja Manchega destaca debido a sus potenciales implicaciones en procesos como la coagulación láctea y la calidad del queso Manchego. El desarrollo de las tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS), como Illumina y PacBio, ha transformado la capacidad de analizar el microbioma con una resolución sin precedentes. No obstante, estas plataformas presentan diferencias significativas en varios aspectos, lo que puede influir en la interpretación de los resultados. Por lo tanto, en este estudio, se compararon las plataformas de secuenciación Illumina y PacBio para el análisis del microbioma de la leche de oveja Manchega, utilizando el marcador 16S rRNA.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se recogieron muestras de leche de cinco ovejas de raza Manchega, de las cuales se extrajo el ADN utilizando el kit DNeasy PowerFood (Qiagen, Hilden, Germany) siguiendo las instrucciones del fabricante. Las regiones del gen 16S rRNA fueron amplificadas y secuenciadas mediante las plataformas Illumina y PacBio en la Fundació Fisabio, y las secuencias obtenidas se procesaron utilizando el paquete estadístico DADA2 de R, que permitió realizar un control de calidad exhaustivo, corregir errores y realizar la anotación taxonómica en la base de datos SILVA (versión 132)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La comparación entre las plataformas Illumina y PacBio en términos de control de calidad y resolución taxonómica reveló diferencias importantes. Durante las etapas de filtrado y recorte, se conservaron el 71% de las secuencias originales con Illumina, en comparación con el 49% con PacBio. Sin embargo, tras el proceso de denoising, ambas plataformas mostraron porcentajes similares de conservación de lecturas, con un 96% para Illumina y un 98% para PacBio. En la eliminación de quimeras, PacBio presentó una proporción extremadamente baja (0,2%), mientras que con Illumina se conservaron solo el 57,4% de las secuencias originales tras este paso. En términos de ASV, PacBio detectó un total de 557 ASV, mientras que Illumina identificó 5.525. A pesar de esta mayor capacidad para detectar ASV por parte de Illumina, esta técnica asignó un porcentaje significativamente menor de lecturas al nivel de géneros en comparación con PacBio (66,23% frente al 93,90%, respectivamente). Además, ambas plataformas asignaron una baja proporción de lecturas al nivel de especies, con un 5,21% para PacBio y un porcentaje aún más bajo (0,14%) para Illumina. En cuanto a la diversidad taxonómica, Illumina permitió identificar un mayor número total de taxones. Específicamente, 182 géneros y 192 especies fueron detectados exclusivamente con Illumina, mientras que únicamente 35 géneros y 60 especies se identificaron con PacBio. Los géneros más abundantes fueron consistentes entre ambas plataformas; sin embargo, se observaron diferencias significativas en la frecuencia relativa de algunos géneros. Por ejemplo, *Staphylococcus* fue más frecuente en PacBio (9,09% frente al 6,86% en Illumina). Destaca especialmente el caso de *Romboutsia*, que mostró una frecuencia notablemente mayor en PacBio (21,27%) en comparación con Illumina (0,98%).

CONCLUSIÓN

La comparación entre Illumina y PacBio revela que ambas plataformas tienen fortalezas complementarias. Illumina destaca por su capacidad para identificar una mayor diversidad genética y un número más amplio de taxones, mientras que PacBio ofrece una mayor precisión en la resolución taxonómica y una mejor calidad en la eliminación de artefactos, como las quimeras. Esto sugiere que la elección de la plataforma depende de los objetivos específicos de cada estudio.

Agradecimientos: Al INRAE, a la Fundació Fisabio y a AGRAMA. Este estudio está enmarcado en el Proyecto de Investigación PID2020-118031RR-C21.