



# La cebada y la interpretación de su efecto en el microbioma de los lechones de raza ibérica

Rafael Vázquez Caldito<sup>1</sup>, Alicia Gallego Aguilera<sup>2</sup>,  
Javier Gómez Román<sup>2</sup>, Eva Vázquez Amaro<sup>2</sup>,  
Ángela Lacombe Antonelli<sup>2</sup>, Pedro Rodríguez Medina<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Director Técnico, Servacal SPV Veterinarios, Proyecto Metapig, Badajoz, Extremadura (España).

<sup>2</sup>Laboratorios Larrasa, Proyecto Metapig, La Albuera, Extremadura, (España).

<sup>3</sup>Departamento de Nutrición Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Extremadura, Cáceres (España).

## RESUMEN

Poco se sabe hasta el momento de las interacciones existentes entre los cambios de la composición del microbioma intestinal de los lechones de raza ibérica y el huésped. En la actualidad, se considera destacada, por no decir de crucial importancia, la búsqueda de nuevas alternativas a la corrección de los estados de disbiosis intestinal en las etapas primeras del desarrollo de los cerdos. Existe la necesidad de encontrar alternativas al uso de antibióticos como promotores de crecimiento que puede desembocar en la aparición de resistencias microbianas. La utilización de prebióticos y probióticos en la alimentación de los cerdos puede ser una de ellas. Para hacer realidad una alimentación que favorezca la salud intestinal de los lechones, el estudio del microbioma puede ser una herramienta eficaz. En el presente trabajo se evidenció que *Prevotella hominis* fue la bacteria del microbioma de los lechones que generó las mayores diferencias significativas en abundancia entre los cerdos que superaron un estado de disbiosis intestinal provocado por *E. coli* enterotoxigénico y los que no sufrieron diarrea.

**Palabras clave:** lechones, microbioma, *Prevotella hominis*, diarrea.

## INTRODUCCIÓN

El microbioma intestinal está muy relacionado en su composición tanto en cerdos (Surendran Nair *et al.*, 2019) como en los humanos con cambios patológicos o fenotípicos en el hospedador. Las composiciones del microbioma tienen una relación directa con funcionalidades de los microorganismos que lo componen, que provocan tanto beneficios como perjuicios al huésped.

La falta de alternativa frente a la patología digestiva, sobre todo en el posdestete de los lechones, marca

un camino interesante en el estudio de estas interrelaciones entre la ecología microbiana intestinal y esta disbiosis de los cerdos en las primeras etapas de su desarrollo.

Una posibilidad de evitar estas diarreas en periodos tan sensibles de los cerdos es el uso de prebióticos y probióticos (Valeriano *et al.*, 2017) en las primeras etapas de la vida de estos animales.

En el caso que nos ocupa, la investigación de una sencilla diarrea provocada por *E. Coli* enterotoxigénico, muestra los escenarios que surgen al evaluar la ecología microbiana intestinal. Este análisis, llevado a cabo con el problema intestinal de los lechones, está dentro del proyecto de estudio del microbioma intestinal del cerdo ibérico denominado *Metapig*, que intenta aclarar la influencia de las composiciones del microbioma de estos animales en relación a estados fenotípicos de los lechones de menos de tres meses de vida.

Un grupo de lechones destetados de 50 días de edad fueron alimentados solamente con cebada con cáscara y de grano entero con la intención de eliminar el estado de disbiosis intestinal en el que se encontraban. Esta cebada se les administró como alimento único. En el cerdo ibérico, esta costumbre de alimentar a los lechones con grano de cebada cuando existe disbiosis o enfermedad de los edemas es relativamente frecuente.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La granja de la que se tomaron las muestras es una explotación porcina en extensivo y posee 160 reproductoras de raza Ibérica. Los sementales machos también eran de la misma raza. La explotación porcina está situada en la provincia de Badajoz, en Extremadura. Los reproductores de la explotación se inmunizaban frente a la enfermedad de Aujeszky, virus PPV y mal rojo porcino en la sistemática de la aplicación del programa sanitario de la explotación. La granja no posee medidas de bioseguridad para evitar la transmisión de enfermedades, circunstancia que es frecuente en este tipo de explotaciones en extensivo. Las cerdas paren en salas de parto con suelo de rejilla de plástico y los lechones se destetan en habitaciones de destete con el mismo tipo de suelo. Las patologías más frecuentes, que son conocidas y recurrentes en la explotación, son las relacionadas con los trastornos neumónicos, ileítis, disentería porcina y mal rojo.

Se tomaron al azar muestras de heces para la obtención de la composición del microbioma intestinal de 48 lechones. La totalidad de lechones en este estudio, cuyas edades estaban comprendidas entre los 0 días de vida y los 90, se agrupó en cerdos que tenían diarrea y aquellos que no la tenían. Entre los lechones que ya no tenían diarrea, siete de estos animales sanos, en el momento de la toma de muestras, habían sido alimentados con cebada en grano únicamente y utilizada para corregir la disbiosis intestinal previa de los



mismos. El trastorno intestinal de los animales estuvo provocado por *E. coli* enterotoxigénico. Las secuencias del ADN de las muestras se obtuvieron con el uso de secuenciadores *MiSeq* y *Novaseq 6000* de la empresa Illumina. La interpretación de los datos se implementó con paquetes del lenguaje R, fundamentalmente con el denominado *Phyloseq* (McMurdie & Holmes, 2013) y con el software *STAMP* (Parks et al., 2014). Los siete cerdos sanos anteriormente referenciados eran de raza pura Ibérica y a los tres días de la alimentación de la cebada en grano las diarreas desaparecieron. Estas diarreas se instauraron en los animales a los 4 o 5 días tras el destete.

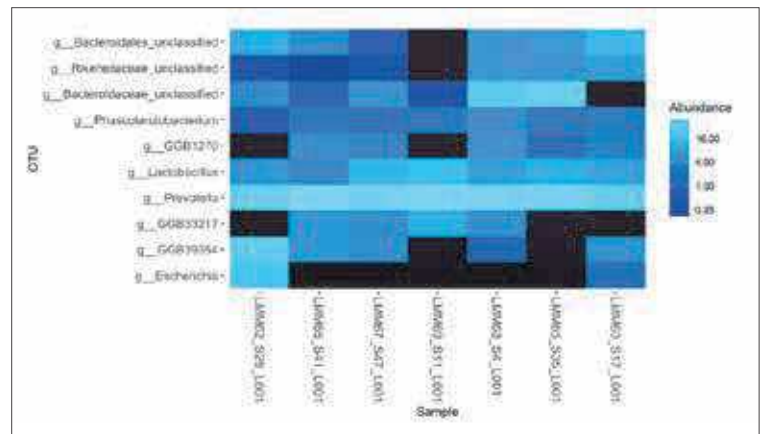
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Existe una clara relación entre la composición del microbioma fecal de estos animales y la desaparición del estado de disbiosis intestinal en ellos.

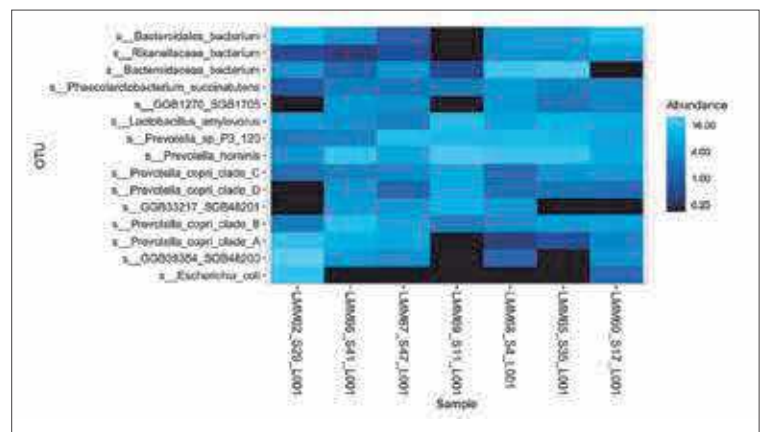
Existen estudios en los que se relaciona una disminución de la inflamación de la mucosa intestinal en dietas que favorecen el crecimiento de géneros como *Prevotella* (Amat et al., 2020).

Estos géneros de *Prevotella* (Ren et al., 2021) son eminentemente **sacarolíticos** y **productores de ácidos grasos volátiles de cadena corta (SCFA)** que son los responsables de la ausencia de la expresión de genes reguladores de los procesos inflamatorios intestinales. Se adjuntan dos gráficas (Yinglin Xia et al., 2018) en las que se puede observar cuáles son los géneros (Figura 1) y las especies (Figura 2) más abundantes en las muestras de los lechones alimentados con cebada en grano. En esta figura se observa como en estos lechones que no tienen diarrea disminuye la concentración de *E. coli*.

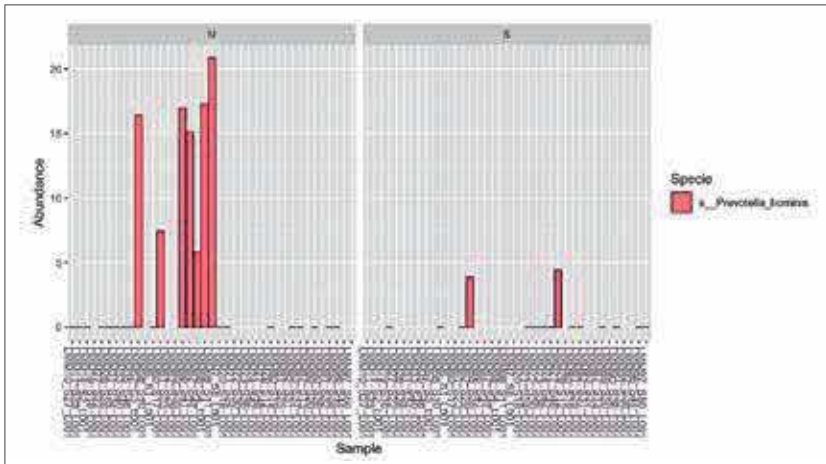
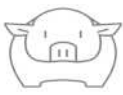
El microorganismo que generó las mayores diferencias significativas en abundancias entre el resto



**Figura 1.** Géneros más abundantes en las muestras de los lechones que fueron alimentados con cebada en grano. Como se puede apreciar en el diagrama de calor el género *Prevotella* es el más abundante en la microbiota de estos animales alimentados con cebada en grano. Existe una gran diferencia en abundancia con el resto de géneros representados en el diagrama.

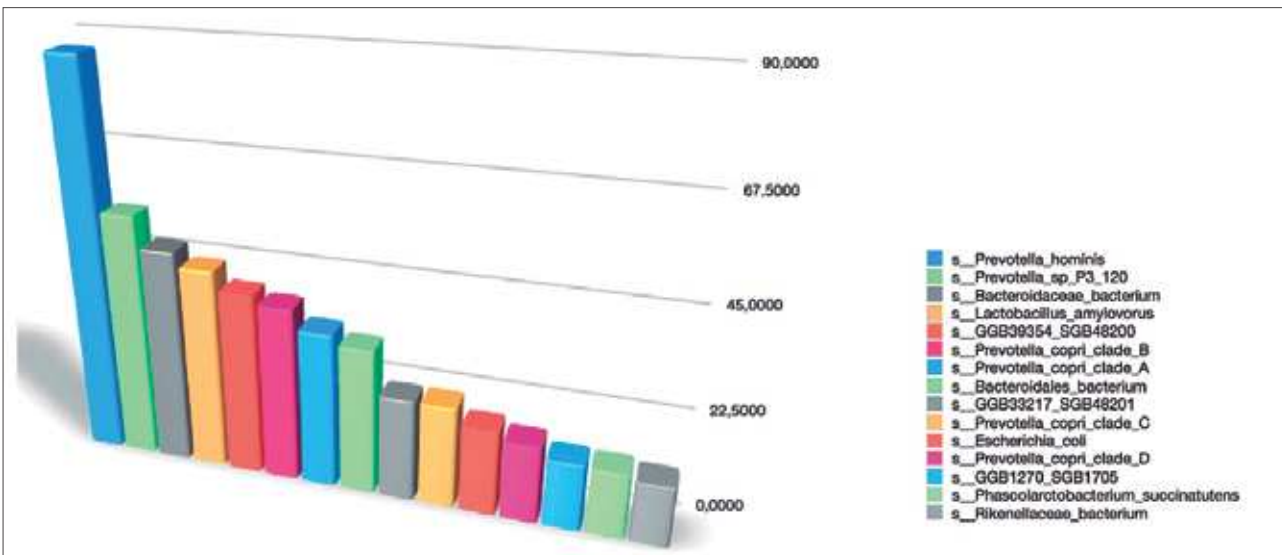


**Figura 2.** Especies más abundantes en las muestras de los lechones que fueron alimentados con cebada solamente. En este gráfico de calor se puede observar con claridad que las especies que más abundan en la composición de la microbiota intestinal de los lechones alimentados con cebada son *Prevotella hominis* y *Prevotella sp P3 120*.



**Figura 3.** En el cuadro de la izquierda se representan las muestras de microbiota intestinal de los animales que estaban sanos, sin diarrea, en referencia a la abundancia de la especie *Prevotella hominis*. La especie *Prevotella hominis* representada en el gráfico es muy abundante en los animales alimentados con cebada exclusivamente. En la derecha se representan las muestras de microbiota intestinal de los lechones que sí tenían diarrea con referencia de las abundancias de *Prevotella hominis* únicamente.

de las muestras del estudio y la de los animales que fueron alimentados única y exclusivamente con cebada en relación con la composición de su microbioma intestinal fue *Prevotella hominis* (Liou et al., 2020). De hecho existió una muestra de uno de los animales que fue alimentado solo con cebada pero que aún tenía diarrea y *Prevotella hominis* no se encontró en la composición de su microbioma intestinal. Esta muestra fue la que poseía la denominación LMM62\_S29\_L001. En la gráfica adjunta (Figura 3) se pueden observar las abundancias de *Prevotella hominis* en las muestras fecales de los animales que fueron alimentados con cebada. En ella se pueden diferenciar animales que tenían diarrea de los que no la tenían.



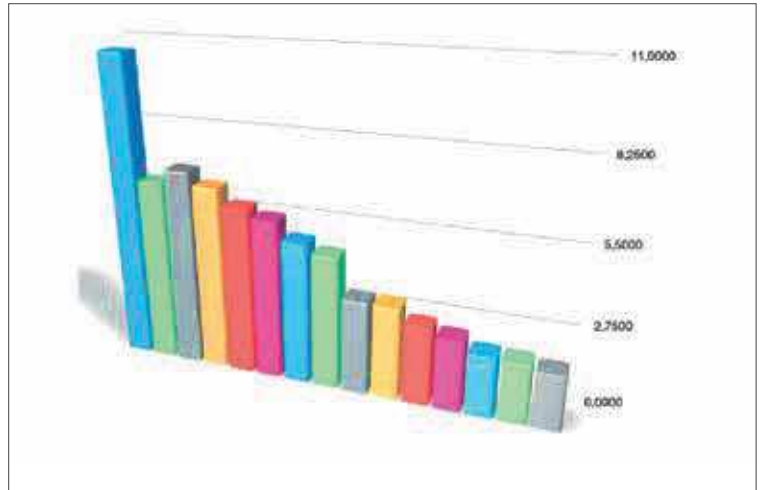
**Figura 4.** Géneros más abundantes de las muestras de los lechones alimentados con cebada en grano. Abundancias acumuladas. Al ser abundancias acumuladas en relación a las muestras de los 7 animales alimentados con cebada se puede observar claramente cual es la especie más abundante en las muestras de microbiota. Esta especie fue *Prevotella hominis*.

Barley sample	Species	Means	TOTALS	LMM62_S17_L001	LMM62_S29_L001	LMM62_S35_L001	LMM62_S41_L001	LMM62_S47_L001	LMM62_S4_L001	LMM62_S11_L001
s__	<i>Prevotella_hominis</i>	10,0747	87,2625	7,4253	3,9003	16,9409	15,1361	5,7710	17,2992	20,8377
s__	<i>Prevotella_sp_P3_120</i>	8,4122	55,1864	8,2127	1,9921	10,0903	2,3429	12,4894	10,7014	10,7545
s__	<i>Bacteroidaceae_bacterium</i>	0,9150	48,4089	0,0000	3,9606	22,1264	0,9898	4,0825	17,2388	0,2911
s__	<i>Lactobacillus_amylovorus</i>	6,4721	45,3049	7,3741	4,8358	8,9999	3,2694	2,2108	5,7540	13,0411
s__	<i>GGB39354_SGB48200</i>	3,8752	41,1267	4,5070	25,1263	0,0000	5,0783	4,5876	1,2275	0,0000
s__	<i>Prevotella_copri_clade_B</i>	5,6137	39,2960	6,2605	2,0500	4,9692	14,5081	6,0713	3,2588	2,1772
s__	<i>Prevotella_copri_clade_A</i>	4,9984	34,9750	3,2643	14,5094	0,5188	8,7363	7,2874	0,2311	0,0000
s__	<i>Bacteroidales_bacterium</i>	4,8602	32,7616	11,1931	8,3661	4,8969	3,3163	0,7222	4,2570	0,0000
s__	<i>GGB33217_SGB48201</i>	3,2798	22,9586	0,0000	0,0000	0,0000	4,9599	4,1778	4,4469	5,3740
s__	<i>Prevotella_copri_clade_C</i>	3,2647	22,8530	5,0024	1,4984	3,9094	2,3455	2,7843	1,1702	6,1369
s__	<i>Escherichia_coli</i>	2,7489	19,2420	1,8264	17,6157	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
s__	<i>Prevotella_copri_clade_D</i>	2,4963	17,4744	1,5598	0,0000	1,6042	4,1641	1,0647	1,4408	7,6407
s__	<i>GGB1270_SGB1705</i>	2,1489	15,0280	2,7986	0,0000	1,6004	3,0829	2,3713	4,0667	0,0000
s__	<i>Phascolarctobacterium_succinatutens</i>	2,0839	14,6572	2,6314	0,6138	2,1758	1,9490	1,6502	3,6488	1,9884
s__	<i>Rikenellaceae_bacterium</i>	1,9411	13,5874	5,5706	0,3261	3,8349	0,1746	0,3233	3,5577	0,0000

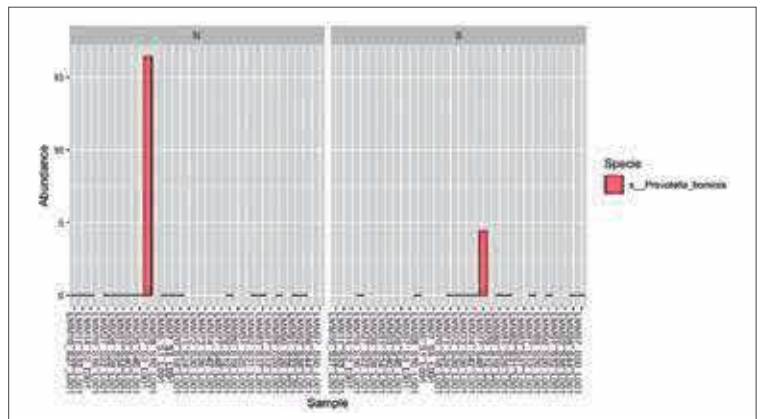
**Tabla 1.** Representación de los 15 géneros más abundantes en las muestras de microbioma fecal de los lechones que fueron alimentados con cebada en grano.

En la gráfica y tabla que se adjuntan se describen tanto las abundancias acumuladas como las medias de los 15 géneros más abundantes en las heces de las muestras de microbiota de los lechones que fueron alimentados con cebada en grano (Tabla 1) (Figuras 4 y 5).

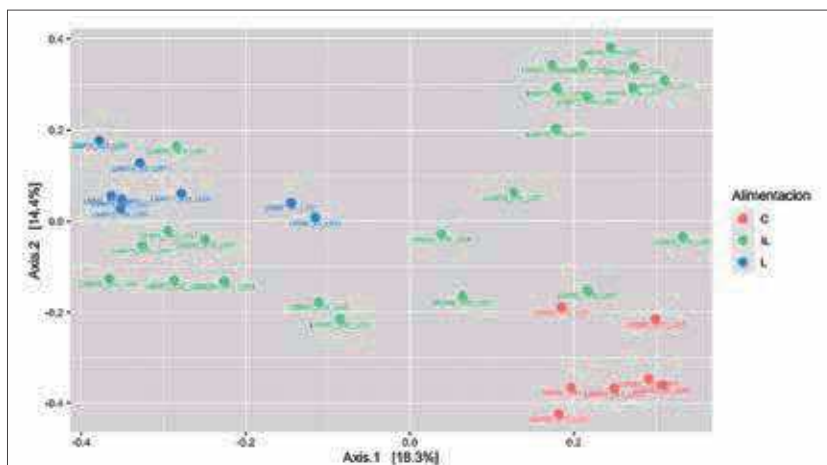
La composición del microbioma de estos animales alimentados con cebada en relación a la de los animales que fueron alimentados con un pienso comercial y con la leche de la madre fue muy diferente entre sí. *Prevotella hominis* es una especie que ha sido descubierta hace poco en el intestino de los humanos (Liou et al., 2020) con lo que se hace evidente la relación entre la salud de estos y el cerdo. También fue importante la conclusión del estudio que se refirió a que la abundancia de *Prevotella hominis* existente en las muestras de microbioma intestinal no generó diferencias significativas entre los grupos de animales que sufrían disbiosis intestinal por *E. coli* enterotoxigénico y los que no la padecían y no fueron ninguno de los dos grupos de lechones alimentados con la cebada en grano. Esta conclusión se quiso obtener debido a que no se tenía claro en el estudio si *Prevotella hominis* podía afectar a lechones que no tenían diarrea frente a los que sí la padecían, pero siempre entre los animales que no habían sido alimentados con cebada en grano. Se adjunta una gráfica (Figura 6) al respecto en la que se obtienen las concentraciones de *Prevotella hominis* en animales sin alimentación a base de cebada en grano y que poseían diarrea frente a los que no sufrían esta disbiosis. Se aclara que las muestras que poseían *Prevotella hominis* fueron las que correspondían a lechones cuyo ingrediente de la ración que aportaba la mayor parte de los carbohidratos era la cebada.



**Figura 5.** Géneros más abundantes en relación a las muestras de los lechones alimentados con cebada en grano. Medias de abundancias de estos géneros.

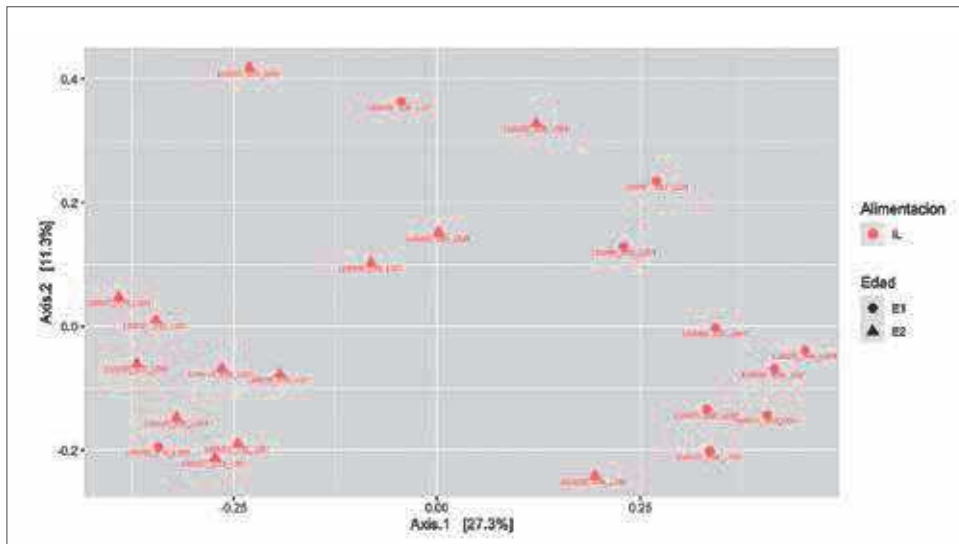


**Figura 6.** Gráfica de la abundancia de *Prevotella hominis* en las muestras de lechones que no fueron alimentados con cebada en grano en la que se diferencian las muestras que proceden de animales con y sin diarrea. Esta comparativa se llevó a cabo en el estudio para poder concluir que la abundancia de *Prevotella hominis* está relacionada con la alimentación con cebada en grano. Las muestras con abundancia de esta especie en animales con y sin diarrea representadas en la gráfica pertenecían a animales cuya alimentación estaba muy dominada composicionalmente por la cebada.



**Figura 7.** Beta diversidad de las muestras de los distintos tipos de alimentación de los lechones. C: cebada en grano solamente como dieta; IL: dieta compuesta por pienso comercial y leche de la madre; L: animales alimentados solamente con alimentación láctea. Las muestras de los animales alimentados solamente con cebada se distancian taxonómicamente del resto.

La beta diversidad (Figura 7) de las muestras de microbioma de los animales alimentados con cebada únicamente y la de aquellas pertenecientes a los lechones cuya dieta consistió en un pienso comercial y la leche materna por un lado y, por otro, en leche de las cerdas exclusivamente, fue estadísticamente diferente. Esto evidenció que las muestras, en relación a las comunidades microbianas que la componen, se consideraron estadísticamente diferentes. El método



**Figura 8.** Beta diversidad de las muestras de microbioma de un mismo tipo de alimentación y de dos edades diferentes.

empleado para la consecución del estudio de la beta diversidad de las muestras y la gráfica que la acompaña fue el de las distancias de Bray – Curtis del paquete *Phyloseq* de R (McMurdie & Holmes, 2013). Independientemente de estas diferencias entre los tipos de alimentación de los lechones de las muestras recogidas, se evidenció también que el microbioma fecal de los animales era diferente según la edad de los mismos (Figura 8). En esta gráfica se evidenció un mismo tipo de alimentación (IL: pienso comercial y lactación materna) en muestras pertenecientes a lechones de dos edades diferentes (E1 y E2) obteniéndose beta diversidades distintas (distribuciones espaciales claramente distantes entre unos grupos y otros). El tramo de edad E1 correspondió a animales entre 0 y 15 días de vida, mientras que el nivel E2 del factor edad se le atribuyó a lechones de entre 15 y 30 días de vida (Zhao et al., 2015).

## CONCLUSIONES

La composición del microbioma intestinal es el responsable de cambios fenotípicos y fisiológicos en el huésped. La composición de este microbioma intestinal está directa, clara y estrechamente relacionada con la disminución de la inflamación de la mucosa intestinal de los lechones y con la desaparición del estado de disbiosis en los mismos (Ren et al., 2021).

Se considera interesante el enfoque de la investigación de la composición de este microbioma con el objetivo de descubrir su relación con los estados de salud y enfermedad de los lechones de raza Ibérica. Se deben de llevar a cabo más estudios para poder dilucidar cómo afectan estas composiciones a la salud intestinal de los cerdos de poca edad. Entre estos estudios, se engloban todos aquellos relacionados con el uso de aditivos en la alimentación porcina. Las fases productivas posteriores

al destete sin el uso de antibióticos son un claro ejemplo de estos posibles ensayos. ■

## BIBLIOGRAFÍA

- Amat S, Lantz H, Munyaka PM, Willing BP (2020). Prevotella in Pigs: The Positive and Negative Associations with Production and Health. *Microorganisms*, 8(10), 1584. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101584>
- Liou JS, Huang CH, Ikegama N, Lee AY, Chen IC, Blom J, Chen CC, Chen CH, Lin YC, Hsieh SY, Watanabe K, Sakamoto M (2020). *Prevotella hominis* sp. Nov., isolated from human faeces. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(8), 4767–73. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004342>
- McMurdie PJ, Holmes S (2013). *Phyloseq*: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *Plos One*, 8(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>
- Parks DH, Tyson GW, Hugenholtz P, Beiko RG (2014). STAMP: statistical analysis of taxonomic and functional profiles. *Bioinformatics*, 30(21), 3123–4. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu494>
- Ren W, Yan H, Yu B, Walsh MC, Yu J, Zheng P, Huang Z, Luo J, Mao X, He J, Chen, D, Luo Y (2021). Prevotella-rich enterotype may benefit gut health in finishing pigs fed diet with a high amylose-to-amylopectin ratio. *Animal Nutrition*, 7(2), 400–11. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.08.007>
- Surendran Nair M, Eucker T, Martinson B, Neubauer A, Victoria J, Nicholson B, Pieters M (2019). Influence of pig gut microbiota on *Mycoplasma hyopneumoniae* susceptibility. *Veterinary Research*, 50(1), 86. <https://doi.org/10.1186/s13567-019-0701-8>
- Valeriano VDV, Balolong MP, Kang DK (2017). Probiotic roles of *Lactobacillus* sp. in swine: insights from gut microbiota. *Journal of Applied Microbiology*, 122(3), 554–67. <https://doi.org/10.1111/jam.13364>
- Yinglin Xia JS, Ding Geng C (2018). Statistical Analysis of Microbiome Data with R.
- Zhao W, Wang Y, Liu S, Huang J, Zhai Z, He C, Ding J, Wang J, Wang H, Fan W, Zhao J, Meng H (2015). The Dynamic Distribution of Porcine Microbiota across Different Ages and Gastrointestinal Tract Segments. *Plos One*, 10(2), e0117441. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117441>.