

UN AMBIENTE ENRIQUECIDO DURANTE EL PERÍODO DE LACTACIÓN ES CAPAZ DE MODIFICAR LA MICROBIOTA DEL LECHÓN TRAS EL DESTETE

Saladrigas-García, M., Heng-Lun, K., Llonch, P., Pérez, JF. y Martín-Orúe, S.M.

Servicio de Nutrición y Bienestar Animal, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra. Email: mireia.saladrigas@uab.cat

INTRODUCCIÓN

Las causas y consecuencias del síndrome post-destete en lechones en la práctica comercial son bien conocidas. El conjunto de cambios ambientales, dietéticos y sociales a los que son sometidos los lechones en el momento del destete, junto con su inmadurez, tanto intestinal como inmunitaria, producen alteraciones en la función y estructura intestinal que con frecuencia se asocian con la aparición de diarreas (Lallès *et al.*, 2004; Moeser *et al.*, 2007). Para controlar dichas patologías es común el uso de antibióticos y ZnO; sin embargo, la futura abolición del uso farmacológico del ZnO (EMA, 2016), así como la necesidad de reducir el uso de antibióticos para preservar su efectividad, tanto en medicina animal como humana, hacen necesario buscar alternativas. Entre ellas, modificar el manejo de las camadas durante el período de lactación está siendo objeto de estudio. En ese sentido, aplicar prácticas de socialización de los lechones durante el período de lactancia ha mostrado resultados prometedores mejorando la adaptación social del lechón en el momento del destete (Figueroa *et al.*, 2012; Morgan *et al.*, 2014; de Ruyter *et al.*, 2017; Salazar *et al.*, 2018). Así pues, el objetivo del presente estudio fue el de determinar el posible impacto de ciertas prácticas de enriquecimiento ambiental y social, durante el período de lactancia, sobre el patrón de colonización microbiana intestinal del lechón con la finalidad de mejorar su respuesta al destete.

MATERIAL Y MÉTODOS

En una granja comercial, se asignaron aleatoriamente 14 cerdas lactantes y sus camadas a dos tratamientos: un tratamiento de control (CTR), con el manejo habitual, es decir sin contacto entre las camadas, y un tratamiento enriquecido (ENR) en el que se permitió que los lechones de dos camadas se relacionaran 14 días después del parto mediante la eliminación de las vallas de separación entre dos boxes. En estas camadas también se introdujeron objetos colgantes en los boxes de maternidad desde el momento del parto como enriquecimiento ambiental. Tras el destete (a los 28 días) los lechones de diferentes camadas se mezclaron siguiendo la rutina de la granja, pero respetando en la nueva distribución los tratamientos experimentales. A lo largo del estudio se realizaron dos muestreos de heces; el primero durante la lactación a día 26 de vida; y el segundo tras el destete, a día 31 de vida y 3 post-destete. Se recogieron muestras de un lechón por cerda (el animal macho de peso intermedio) ($n = 14$) mediante estimulación rectal. La extracción de ADN se llevó a cabo utilizando el kit comercial QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen, West Sussex, Reino Unido). El análisis de microbiota se llevó a cabo mediante secuenciación masiva de la región V3-V4 del gen 16S RNA (Illumina MiSeq®). El análisis bioinformático incluyó el procesado de los datos primarios mediante QIIME (Caporaso *et al.*, 2010) y el análisis bioestadístico, con el programa R v3.5.2. empleando, entre otros, los paquetes phyloseq, vegan y metagenomeSeq (McMurdie & Holmes, 2013; Paulson *et al.*, 2013). La significación se estableció en $\alpha < 0,05$ y la tendencia en $\alpha < 0,10$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observaron diferencias ni en el número de unidades taxonómicas operativas (OTU) ni en el número de lecturas por muestra (riqueza) relacionadas con el manejo diferencial ni tampoco con el destete ($P > 0,1$). Tampoco se observaron diferencias en los índices de diversidad *alfa* (Shannon-Wiener (Shannon, 1948), Simpson y Simpson inverso (Simpson, 1949)) en relación al manejo diferencial, pero sí se observó una tendencia a incrementar tras el destete (4,5 vs. 4,7, $P = 0,09$; 0,97 vs. 0,98, $P = 0,13$; y 38,7 vs. 53,8, $P = 0,06$; para los índices de Shannon, Simpson y Simpson inverso, respectivamente). En cuanto a la

diversidad *beta* (índice de Whittaker (Whittaker, 1960)) no se observaron diferencias en ningún caso.

En relación a la estructura del ecosistema (índice de disimilitud de Bray-Curtis) no se apreciaron diferencias entre los dos grupos experimentales durante la lactación ($P_{envfit} > 0,1$) pero sí tras el destete ($P_{envfit} = 0,04$). Asimismo, y como cabría esperar, también se observó una tendencia al cambio promovido por el destete ($P_{envfit} = 0,08$) (Figura 1). El análisis de similitud o ANOSIM, muestra unos resultados muy similares: no se detecta desemejanza entre los dos tratamientos durante la lactación ($P > 0,1$), pero sí se observa una tendencia significativa en la dispersión de las OTU tras el destete ($P = 0,06$) y como resultado del efecto principal del destete ($P = 0,03$).

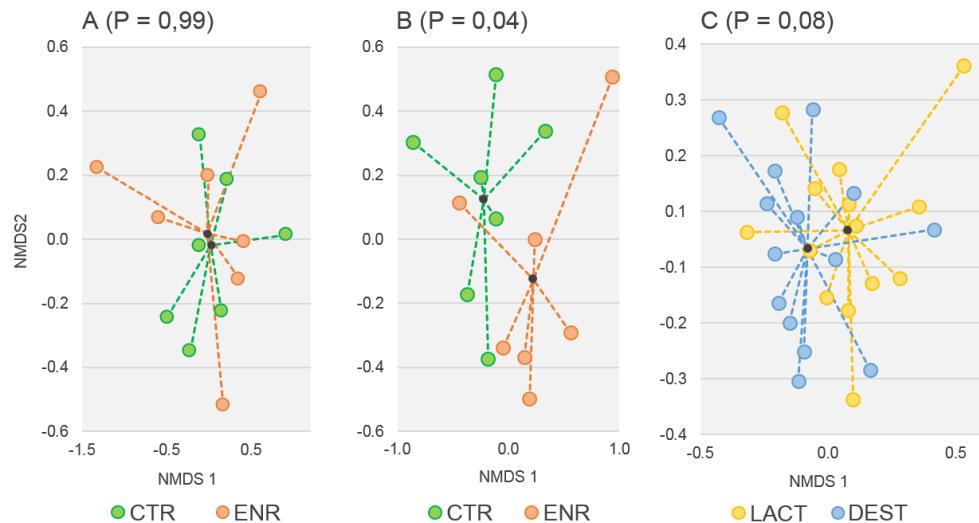


Figura 1. Gráficos de la estructura de la microbiota fecal basados en el escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) de las abundancias relativas de unidades taxonómicas operativas (OTU) agrupadas por tratamiento experimental (CTR: grupo control; ENR: grupo enriquecido) o etapa de los lechones (LACT: día 26 de lactación; DEST: día 3 post-destete). Los gráficos se corresponden a la disimilitud entre los tratamientos experimentales en lactación (A), tras el destete (B), y con el destete como efecto principal (C).

En relación a los posibles cambios promovidos por el manejo diferencial en grupos microbianos concretos, en lactación no se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa para ningún nivel taxonómico ($P > 0,1$). Tras el destete, tampoco se detectó ninguna diferencia significativa entre grupos a nivel de filo o familia ($P > 0,1$) aunque merece destacarse la mayor abundancia numérica del filo Proteobacteria registrada en los animales del grupo ENR (13,30% vs. 4,86%). Añadir también la tendencia observada para una mayor abundancia relativa del género *Odoribacter* en el grupo ENR (0,26% vs. 0,04%; $P = 0,06$).

En relación al posible impacto del destete, a nivel taxonómico, se encontraron tendencias estadísticas en algunas familias ($P < 0,1$). Así la familia *Lactobacillaceae* disminuyó drásticamente tras el destete (2,28% vs. 0,74%) y las familias *Erysipelotrichaceae* (1,72% vs. 3,55%) y *Coriobacteriaceae* (0,20% vs. 0,38%) incrementaron. A pesar de no detectarse diferencias significativas a nivel de género ($P > 0,1$), cabe destacarse la menor abundancia relativa en términos numéricos de *Lactobacillus* en los lechones tras el destete (2,28% vs. 0,74%) y el incremento del género *Roseburia* (0,73% vs. 2,14%).

En conclusión, el enriquecimiento de los boxes de maternidad y el manejo diferencial de las camadas no alteró la microbiota intestinal de los lechones durante la lactación, pero sí que generó la aparición de cambios en la estructura de ecosistema del intestino tras el destete, aunque dichos cambios no pudieron relacionarse con cambios significativos en taxones concretos. Estos cambios observados podrían estar relacionados en mayor medida con una mejor adaptación al estrés social del destete y no tanto al cambio en la exposición ambiental durante la lactación. Por otro lado, el efecto del destete *per se* fue evidente con incrementos en la diversidad alfa, y cambios en la estructura del ecosistema que, a nivel taxonómico, se reflejó en un claro descenso en la familia *Lactobacillaceae* tras el destete.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Caporaso, J.G. *et al.* 2010. *Nat. Methods.* 7(5), 335-336. • de Ruyter, E.M. *et al.* 2017. *Appl Anim Behav Sci.* 193: 43-50 • EMA (2016). Meeting CVMP 6-8 December 2016. EMA/794393/2016 • Figueroa *et al.* 2012. Proceedings of the 46th Congress of the International Society for Applied Ethology. 31 July – 4 August 2012. pp.116 • Lallès J-P. *et al.* 2004. *Anim. Res.* 53(4): 301–16 • McMurdie, P.J. & Holmes, S. 2013. *PLoS One.* 8(4), e61217 • Moeser A.J. *et al.* 2007. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 292(1): G173–G181. • Morgan, T. *et al.* 2014. *Appl Anim Behav Sci.* 158, 23-33 • Paulson, J.N. *et al.* 2013. Bioconductor package 1.0 • Salazar, L.C. *et al.* 2018. *Appl Anim Behav Sci.* 206: 25-31. • Shannon, C.E. 1948. *Bell Syst. Tech. J.* 27: 379–423. • Simpson, E.H. 1949. *Nature.* 163, 688. • Whittaker, R.H. 1960. *Ecol Monogr.* 30: 279-338.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (proyecto AGL2016-75463-R).

ENVIRONMENTAL ENRICHMENT DURING LACTATION: AN OPPORTUNITY TO MODULATE PIGLETS' GUT HEALTH AFTER WEANING

ABSTRACT: Hypothesis: changes in the handling of piglets during lactation could modulate the maturation of intestinal microbiota at weaning. In a commercial farm, 48 maternity sows and their litters were allotted to two treatments: a control treatment (CTR) with no contact between litters; and an enriched treatment (ENR) in which piglets from two litters were mixed 14 days post-partum by removing the separating fences. Moreover the farrowing pen was fitted with hanging objects. Piglets from different litters were mixed after weaning (28 days) as in commercial practice, being experimental treatments respected. Faecal samples were collected from 7 piglets/treatment before (d26) and after (d31) weaning. Faecal microbiome was analyzed by sequencing the 16S RNA gene (Illumina MiSeq®) and data analysis performed with QIIME and R program. No significant changes promoted by treatments were found in microbiota during lactation. However, dissimilarities were observed after weaning ($P_{envfit} = 0.04$) although no significant changes were detected in particular taxons. Weaning had an evident impact in the microbiota structure with increases in α -diversity and a clear decrease in *Lactobacillaceae* family. These results confirm that differential handling during lactation is able to modulate the piglets' gut ecology after weaning most probably by an improvement coping social stress.

Keywords: Weaning, microbiota, social stress, piglets.