



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Avance en la investigación de poblaciones bacterianas intestinales del *Cavia porcellus*

Darío Alejandro Romero Benavides

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias
Posgrado en Ciencias - Microbiología
Bogotá, Colombia
2024

Avance en la investigación de poblaciones bacterianas intestinales del *Cavia porcellus*

Darío Alejandro Romero Benavides

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título de:

Magíster en Ciencias - Microbiología

Director:

Ph.D. Alejandro Caro Quintero

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias

Posgrado en Ciencias - Microbiología

Bogotá, Colombia

2024

Para el desarrollo de este trabajo de tesis de maestría, se contó con el apoyo científico y técnico de Leyla Rios de Álvarez, Profesora Asistente en Extensión e Investigación enfocada en la Producción de Pequeños Rumiantes, Departamento de Ciencias Animales y Lácteas - Mississippi State University (MSState).

De igual manera, se contó con la colaboración del profesor Carlos Alberto Chaves, de la Universidad de Nariño, Médico veterinario Anatomopatólogo Veterinario FMVZ.

Declaración de obra original

Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.

Darío Alejandro Romero Benavides

Fecha: 26/01/2024

Agradecimientos

A mi mentor, el profesor Alejandro Caro Quintero líder del laboratorio Holobiontes del Instituto Max Planck, quien con su experiencia y visión transformó una pequeña idea, en un proyecto innovador con alto rigor científico, más allá de mis mejores expectativas.

A mi compañera de vida Adriana Elisabeth Orbes Villacorte Zootecnista, candidata doctoral en Biotecnología por el inmenso apoyo y la guía, y por caminar junto a mi este camino lleno de aprendizaje.

A mi madre María Emperatriz Benavides Sánchez, a mi hermano Gianni Romero Benavides, a mi cuñada Nelcy López, quienes me impulsaron en cada paso.

A mi amiga Wendy Lorena Ríos Guzmán Bacterióloga M.Sc., por su amistad, enseñanzas y su tiempo desde el primer día de posgrado.

A mis amigos, Diego Alejandro Gonzales Bello Ingeniero Agrónomo M.Sc., y Yesica Daniela Roa Pinilla Ingeniera Agrónoma por su todas sus consejos y enseñanzas.

A la profesora Esperanza Torres, por su apoyo desinteresado en el desarrollo de mis procesos de trabajo en su laboratorio. De igual manera, al Grupo de investigación Agrobiodiversidad y Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia y su semillero.

Al profesor Luis Fernando Cadavid y al Grupo de Investigación en Inmunología Evolutiva e Inmunogenética, por compartir sus conocimientos y permitirme un espacio en su laboratorio.

A las investigadoras Jadira y Meike, del departamento de Biología de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá por todo su apoyo y colaboración.

A Carlitos Bernal Zootecnista, M.Sc., por su amistad y su apoyo permanente en el desarrollo de esta investigación.

A la doctora Katia Romo Médico Veterinario, M.Sc., y a Jaime Quintana, por toda su guía y colaboración.

A la Universidad Nacional de Colombia y a mis profesores por su profesionalismo y entusiasmo por compartir su conocimiento.

A la Universidad de Nariño, por abrirnos sus puertas nuevamente en tiempos difíciles y permitirme desarrollar una parte significativa de este trabajo.

A la Convocatoria “Convocatoria Nacional para el Fortalecimiento de la Formación a través del Apoyo a Proyectos de Investigación, Creación Artística o Innovación de la Universidad Nacional de Colombia 2022-2024 Semilleros” por el financiamiento de este trabajo.

A cada uno de los productores de cuyes del municipio de Pasto, Nariño, por compartir con humildad su quehacer diario en la crianza de esta especie y con ello reafirmar nuestro compromiso de fortalecer desde las ciencias básicas y aplicadas este sostenible y eficiente sistema de producción.

Resumen

Avance en la investigación de poblaciones bacterianas intestinales del *Cavia porcellus*

El cuy (*Cavia porcellus*) es un pequeño mamífero monogástrico de la familia Caviidae originario de los Andes. Esta especie está distribuida en varios países de Sudamérica, donde ha ganado reconocimiento por su aptitud como especie de producción pecuaria promisoría y emergente. En Colombia, la cría de la especie se encuentra principalmente en el departamento de Nariño, lugar en donde forma parte importante de la cultura, diversidad gastronómica y el sustento económico de muchas familias tanto en el sector urbano como rural.

Esta investigación, da a conocer la primera caracterización del tracto gastrointestinal (TGI) del *Cavia porcellus* realizada en el municipio de Pasto, la cual toma como eje principal el ciego de los animales del sector productivo. Se enfoca en explorar una parte de la ecología bacteriana intestinal de la especie, la cual ha sido escasamente estudiada y tiene una profunda conexión en aspectos ecológicos y biológicos de la especie. Con este propósito, 288 cuyes (15-20 días de edad, exentos de antibióticos y alimento balanceado) fueron seleccionados de 14 de los 17 corregimientos de Pasto. De cada animal se obtuvieron muestras de segmentos del TGI y heces para construir 327 librerías (288: ciego, 29: tejidos) basadas en el gen ARNr 16S – V4. En cada lugar de muestreo (unidad productiva - UP) se realizó el levantamiento sistemático de información que permitió la caracterización de la producción de cuy en Pasto, y fue la base de la meta información empleada en el análisis bioinformático. Globalmente, este estudio determinó que las mujeres lideran la producción de cuy en Pasto (84%); el 64.9% de los productores tiene la capacidad de producir entre 41-200 animales/UP; en el 100% de las UP se utilizan pastos y forrajes como alimento principal y el 65.5% de los productores producen el pasto que suministran a los animales. En el aspecto sanitario, en el 72.2% de las UP se suministran antiparasitarios y en el 23.7% se administran productos que contienen Enrofloxacin.

Las variables con mayor peso sobre los índices de diversidad alfa en el ciego fueron la distancia geográfica (corregimiento), el uso de antiparasitarios, la presencia de otras especies y el tipo de forraje utilizado. Por su parte, a nivel de segmentos y heces, las variables género (machos y

hembras) y segmento (duodeno, yeyuno, íleon, colon y heces) fueron las que mayormente contribuyen con las diferencias significativas en cuanto a su alfa diversidad.

El análisis de beta diversidad (PERMANOVA y PcoA Unifrac ponderado), identificaron que la diversidad bacteriana del ciego está fuertemente influenciada por la distancia geográfica de los corregimientos y por las unidades productivas. La asignación taxonómica se identificó 14 filo en las muestras de ciego; Firmicutes y Bacteroidetes fueron los filos con mayor abundancia en las muestras. En cuanto a la significancia biológica, se encontró que está representada por 3 filos con LDA score < 2 (Firmicutes, Bacteroidetes y Fibrobacteres).

La beta diversidad del TGI, (PERMANOVA y PcoA Unifrac ponderado y no ponderado), identificó una marcada separación entre los segmentos del intestino delgado (ID) el intestino grueso (IG) y heces. A su vez identifico que los segmentos del ID son más similares entre ellos al igual que los segmentos del IG y las heces. Un patrón de expresión diferencial interesante surgió entre los segmentos del ID y el IG y las heces (LEfSe); cuando un filo se registró con un valor LDA score > 2 , en cualquier segmento del ID, de forma opuesta se observó su baja expresión en todos los segmentos del IG y las heces. Este patrón se también se identificó de forma contraria.

Finalmente, es posible concluir que el bacterioma intestinal del *Cavia porcellus* difiere en relación a los segmentos que lo componen. Especialmente el ciego, es una estructura que aloja un bacterioma relativamente estable, pero que puede ser afectado en mayor o menor grado por las variables que confluyen en los sistemas productivos.

Palabras clave: *Cavia porcellus*, Nariño, ciego, microbioma, bioinformática.

Abstract

Advances in research on intestinal bacterial populations of *Cavia porcellus*

The guinea pig (*Cavia porcellus*) is a small monogastric mammal of the Caviidae family, native to the Andes. This species is distributed in several countries in South America, where it has gained recognition for its suitability as a promising and emerging livestock production species. In Colombia, the breeding of the species is mainly found in the department of Nariño, a place where it forms an important part of the culture, gastronomic diversity, and the economic sustenance of many families in both the urban and rural sectors.

This research reveals the first characterization of the gastrointestinal tract (GIT) of *Cavia porcellus* carried out in the municipality of Pasto, which takes as its main focus the cecum of animals in the productive sector. It focuses on exploring a part of the intestinal bacterial ecology of the species, which has been poorly studied and has a deep connection to the ecological and biological aspects of the species. For this purpose, 288 guinea pigs (15-20 days old, free of antibiotics and balanced food) were selected from 14 of the 17 towns of Pasto. Samples of GIT segments and feces were obtained from each animal to construct 327 libraries (288: cecum, 29: tissues) based on the 16S rRNA gene – V4. In each sampling location (productive unit), a systematic collection of information was carried out that allowed the characterization of guinea pig production in Pasto and served as the basis for the meta-information used in the bioinformatic analysis.

Globally, this study determined that women lead guinea pig production in Pasto (84%); 64.9% of producers have the capacity to produce between 41-200 animals per productive unit. In 100% of the productive units, grasses and forage are used as the main food, and 65.5% of the producers grow the grass that they supply to the animals. In terms of health, 72.2% of the productive units administer antiparasitics, and in 23.7% products containing enrofloxacin are administered. The variables with the greatest weight on the alpha diversity indices in the cecum were geographical distance (township), the use of antiparasitics, the presence of other species, and the type of forage used. For its part, at the level of segments and feces, the variables gender (males and females) and segment (duodenum, jejunum, ileum, colon, and feces) were the ones that mostly contributed to the significant differences in terms of their alpha diversity.

The beta diversity analysis (PERMANOVA and weighted PCoA Unifrac) identified that the bacterial diversity of the cecum, is strongly influenced by the geographical distance of the townships and by the productive units. Taxonomic assignment was identified to 14 phyla in cecum samples; Firmicutes and Bacteroidetes were the phyla with the highest abundance in the samples. Regarding biological significance, it was found that it is represented by 3 phyla with an LDA score < 2 (Firmicutes, Bacteroidetes, and Fibrobacteres).

The beta diversity of the GIT (PERMANOVA and weighted and unweighted Unifrac PCoA) identified a marked separation between the segments of the small intestine (SI), the large intestine (LI), and feces. At the same time, it identified that the SI segments are more similar to each other, as are the LI segments and feces. An interesting differential expression pattern emerged between the SI and LI segments and feces (LEfSe). When a phylum was recorded with an LDA score value > 2 in any segment of the SI, its low expression was observed in all segments of the LI and feces. This pattern was also identified in the opposite way.

Finally, it is possible to conclude that the intestinal bacteriome of *Cavia porcellus* differs in relation to the segments that compose it. The cecum, in particular, houses a relatively stable bacteriome, but it can be affected to a greater or lesser degree by the variables present in production systems.

Keywords: *Cavia porcellus*, Nariño, cecum, microbiome, bioinformatics.

Contenido

	Pág.
Resumen.....	V
Lista de figuras	X
Lista de tablas	XI
Lista de símbolos y abreviaturas	XII
Introducción	17
1. Objetivos	20
1.1 Objetivo general	20
1.2 Objetivos específicos.....	20
2. Marco teórico	21
2.1 Cavia porcellus	21
2.2 Relación taxonómica y descripción biológica de la especie	22
2.3 Sistemas de producción de cuyes	24
2.4 Estudios de microbiota intestinal del Cavia porcellus	25
3. Pregunta de Investigación	28
4. Hipótesis.....	29
4.1 Hipótesis nula.....	29
4.2 Hipótesis alterna.....	29
5. Metodología	30
5.1 Muestras biológicas del estudio	30
5.2 Encuesta a las unidades productivas	31
5.3 Condiciones del transporte de los animales	33
5.4 Procesamiento de las muestras en el laboratorio.....	33
5.5 Obtención y conservación de las muestras.....	35
5.6 Muestras para análisis histológicos	36
5.7 Muestras para determinar presencia de parásitos	37
5.8 Extracción de ADN de las muestras.....	37

5.9	Preparación de la biblioteca de amplicones	38
5.9.1	Primera PCR (PCR-1).....	38
5.9.2	Electroforesis PCR-1	38
5.9.3	Limpieza y purificación de amplicones	38
5.9.4	Electroforesis de amplicones limpios	39
5.9.5	Segunda PCR (PCR-2 Barcoding).....	39
5.9.6	Electroforesis PCR-2	39
5.9.7	Limpieza y purificación de las librerías.....	40
5.9.8	Electroforesis de las librerías	40
5.9.9	Cuantificación de los productos de la PCR-2	40
5.10	Secuenciación de la biblioteca de amplicones.....	40
5.11	Análisis de secuencias y bioinformática.....	40
6.	Resultados.....	42
6.1	Caracterización de las unidades productivas.....	42
6.2	Análisis bioinformático de las secuencias de ARNr 16S – V4.....	49
6.2.1	Datos obtenidos de las secuencias de los ciegos del <i>C. porcellus</i>	49
6.2.2	Secuencias de la comunidad bacteriana para los tejidos de segmentos de intestino delgado y grueso y heces del <i>C. porcellus</i>	60
7.	Discusión	71
7.1	Dinámica Microbiana del Ciego (Alfa diversidad).....	71
7.2	Exploración taxonómica del bacterioma del <i>C. porcellus</i> a nivel de tejidos.	72
7.3	Exploración taxonómica del bacterioma del <i>C. porcellus</i> a nivel de ciego	74
7.4	Detección de posibles bacterias catalogadas como agentes patógenos en las muestras de ciego del <i>C. porcellus</i>	77
7.5	Estimación funcional del bacterioma intestinal del <i>C. porcellus</i>	79
8.	Conclusiones	81
9.	Recomendaciones	82
	Anexos.....	84
	Bibliografía.....	101

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1 Mapa de los corregimientos visitados del municipio de Pasto.....	31
Figura 2 Delimitación de zonas del laboratorio para el muestreo	34
Figura 3 Proceso de disección del cuy	35
Figura 4 Corregimiento vs Productores Hombres o Mujeres	42
Figura 5 Tipos de instalaciones y alojamientos utilizados en la producción de cuyes	43
Figura 6 Datos relacionados con las instalaciones y su capacidad animal	44
Figura 7 Datos del origen del forraje y su frecuencia en el suministro	45
Figura 8 Datos del manejo sanitario en las producciones de cuyes visitadas	47
Figura 9 Datos de la limpieza y desinfección en las producciones de cuyes visitadas.....	48
Figura 10 Curvas de rarefacción categorizadas por corregimiento	50
Figura 11 Índices de diversidad alfa	51
Figura 12 Análisis de componentes principales (PcoA) construido a partir de las distancias obtenidas de UNIFRAC	54
Figura 13 Núcleo bacteriano a nivel de género de los grupos 1 y 2	55
Figura 14 Análisis de componentes principales (PcoA) entre las unidades productivas del corregimiento de Catambuco	56
Figura 15 Análisis discriminante lineal (LEfSe) entre dietas de gramíneas.....	57
Figura 16 Curva de saturación de riqueza discriminada por segmento evaluado (Duodeno, Yeyuno, Íleon, Ciego, Colon y Heces)	61
Figura 17 Índices de alfa diversidad (filo y género) y división de los segmentos intestinales....	64
Figura 18 Distribución taxonómica a nivel de filo entre el intestino delgado y grueso	65
Figura 19 Análisis de componentes principales (PcoA) entre intestino delgado y grueso.....	66
Figura 20 Tamaño del efecto del análisis discriminante lineal (LEfSe) entre segmentos	69
Figura 21 Vías metabólicas predichas por Tax4Fun y anotadas en KEGG en los segmentos del TGI y las heces.....	70
Figura 22 Abundancia diferencial de las vías metabólicas predichas por Tax4Fun, categorizada por segmentos del TGI y heces	70

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1 Tipo y número de muestras procesadas	30
Tabla 2 Encuesta a productores de cuyes de Pasto, Nariño	32
Tabla 3 Índices de diversidad alfa con significancia estadística a nivel de filo y género.....	51
Tabla 4 Significancia biológica de taxones en cada variable.....	52
Tabla 5 Análisis de Varianza Permutacional Multivariante de la Dispersión (PERMANOVA) para las variables de estudio	57
Tabla 6 Análisis de Varianza Permutacional Multivariante de la Dispersión (PERMANOVA) para las variables corregimientos, localización UP, alimentación.....	58
Tabla 7 Índices de alfa diversidad a nivel de filo y género para todas las variables evaluadas...	62
Tabla 8 Índices de alfa diversidad a nivel de filo y género. Categorías de variables con diferencias significativas.....	63
Tabla 9 Análisis de Varianza Permutacional Multivariante de la Dispersión (PERMANOVA) para las variables segmento evaluado y género	67

Lista de símbolos y abreviaturas

Abreviatura	Término
TGI	Tracto gastrointestinal
UP	Unidad productiva
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARNr	Ácido ribonucleico ribosómico o ribosomal
OTU	Operational Taxonomic Unit (Unidad Taxonómica Operativa)
CAT	Catambuco
ENC	El Encano
CAL	La Caldera
MOC	Mocondino
CAB	Cabrera
SFER	San Fernando
LAG	La Laguna
SBAR	Santa Barbará
MOR	Morasurco
MAP	Mapachico
JAM	Jamondino
OBO	Obonuco
JON	Jongovito
GEN	Genoy
D	Duodeno
Y	Yeyuno
IL	Íleon
CO	Colon
H	Heces
Ap	Alimento principal
Núm	Número
Vit	Vitaminas
Min	Minerales
MC	Medidas de control
iver	Ivermectina
enro	Enrofloxacin
cipro	Ciprofloxacina
antipara	Antiparasitarios
nat	Naturales
B	Binaria
M	Múltiple
PCR	Polymerase chain reaction (Reacción en cadena de la polimerasa)
ASV	Amplicon Sequence Variant (Variante de secuencia del amplicón)

PcoA	Principal Coordinate Analysis (Análisis de coordenadas principales)
LEfSe	Linear discriminant analysis Effect Size (Análisis discriminante lineal - tamaño del efecto)
μl	Microlitros
ml	Mililitro

Introducción

Los estudios de las comunidades de microorganismos que viven en asociación con distintos animales, han aumentado exponencialmente debido principalmente, a la cada vez más clara relación del microbioma en la salud. Estos estudios, han permitido entender la profunda conexión e interdependencia entre el hospedero y su microbioma. En los últimos 15 años, el estudio del microbioma gastrointestinal, principalmente de humanos, ha explorado la relación entre la composición taxonómica de las comunidades microbianas y parámetros asociados a la nutrición, salud y el comportamiento del hospedero (Franklin & Ericsson, 2017; Knowles et al., 2019). En consecuencia, se ha logrado estimar el papel de los microorganismos sobre funciones biológicas como el desarrollo y mantenimiento de la función inmunológica, la síntesis de vitaminas, el procesamiento de nutrientes de difícil asimilación para el huésped (Lee-Sarwar et al., 2020).

Los análisis comparativos entre individuos sanos y enfermos han ayudado a identificar relaciones entre la salud y los cambios de la comunidad microbiana (Lee-Sarwar et al., 2020). Es así que se ha demostrado que algunas enfermedades en humanos como la colitis ulcerosa, la enfermedad de Crohn (Qin et al., 2010), el síndrome de fatiga crónica (Frémont et al., 2013), artritis reumatoide (Zhang et al., 2015) y la diabetes (Brown et al., 2011), tienen una clara relación con cambios drásticos en la composición de la microbiota intestinal. A pesar de que estas enfermedades tienen diferentes manifestaciones, algunos patrones parecen ser recurrentes a nivel de microbiota como los son, la disminución de la diversidad taxonómica, la inestabilidad de la comunidad y la disminución de bacterias productoras de butirato como *Faecalibacterium prausnitzii* que parecen estar correlacionadas negativamente con la actividad de la enfermedad inflamatoria intestinal (Ferreira-Halder et al., 2017). Estos estudios de relación entre microbiota y salud también se han expandido a animales que hacen parte de sistemas productivos, debido a su importancia económica y de seguridad alimentaria.

En los estudios del microbioma gastrointestinal de especies animales de interés pecuario, se pueden encontrar diversas interacciones ecológicas entre el hospedero y su microbiota. Los rumiantes son un claro ejemplo de esta asociación, ya que presentan un ecosistema intestinal

variado conformado por hongos (10^3 a 10^4 organismos/ml), protozoos (10^5 a 10^6 organismos/ml) y arqueas (10^8 a 10^9 organismos/ml) (Newbold & Ramos-Morales, 2020), también cuenta con un grupo dominante de bacterias como *Prevotella*, *Butyrivibrio*, *Ruminococcus*, *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae*, *Bacteroidales* y *Clostridiales* que están relacionadas con la transformación de celulosa, hemicelulosa, pectina, ácidos orgánicos y proteínas que son los principales sustratos para la obtención de energía y el crecimiento microbiano (Henderson et al., 2015).

Está claro que los sistemas pecuarios han sido objeto de investigación por su importancia en la producción de alimentos, sin embargo, también existen especies menos conocidas, de pequeño tamaño (microganado) no convencionales con potencial en la producción de proteína como el *Cavia porcellus* también conocido como guinea pig, cobayo o cuy. Este sistema productivo, ha presentado un avance limitado en el estudio de su microbioma aun cuando hace parte de diferentes regiones de Latinoamérica. Sin embargo, en países donde esta especie es utilizada como mascota o modelo animal, se ha reportado que su microbiota intestinal estuvo dominado por los filos Bacteroidetes, Firmicutes, y una cantidad sobresaliente de *Akkermansia* con función sobre la degradación de mucina (Hildebrand et al., 2012).

Por su parte en Colombia, el primer y tal vez único estudio de poblaciones bacterianas intestinales del cuy, se realizó mediante técnicas de siembra y cultivo, el cual registró un 86.4% de bacterias Gram negativas como *Shigella* sp., *Escherichia coli*, *Yersinia* sp., y un 15.4% de bacterias Gram positivas como *Staphylococcus dorado* y *Staphylococcus viridans* (Caycedo, 2000). Estos estudios, que, si bien aportan información valiosa, aún carecen de datos relevantes para los sistemas de producción, como la presencia de bacterias patógenas circulantes en el sistema gastrointestinal que pueden afectar la salud del animal y el consumidor.

Con base en lo mencionado, y teniendo en cuenta que el *C. porcellus* consume polisacáridos vegetales, aprovechados a nivel del ciego en procesos de fermentación produciendo ácidos orgánicos por acción de enzimas celulolíticas (Palakawong Na Ayudthaya et al., 2019) se hace necesario realizar estudios que permitan comprender el microbioma de esta región y los posibles agentes patógenos que aún no han sido plenamente identificados.

Finalmente, a nivel pecuario los resultados de este estudio podrían contribuir a la mejora de planes sanitarios y con ello el incremento del conocimiento de la composición microbiana intestinal de esta especie.

1. Objetivos

1.1 *Objetivo general*

Caracterizar la microbiota bacteriana cecal de poblaciones de *Cavia porcellus* en corregimientos del municipio de Pasto-Nariño, con el fin de identificar los factores que influyen en su estructura y composición taxonómica.

1.2 *Objetivos específicos*

- Generar y secuenciar las librerías del marcador molecular ARNr 16S a partir de muestras de ciego del *C. porcellus*.
- Comparar por medio de herramientas bioinformáticas la composición taxonómica de las comunidades bacterianas presentes en distintos animales para identificar los parámetros que influyen sobre su composición.
- Detectar la presencia de posibles bacterias catalogadas como agentes patógenos y la relación de su presencia con las condiciones de la producción.

2. Marco teórico

2.1 *Cavia porcellus*

Importancia cultural y económica. El *C. porcellus* se ha convertido en una de las especies pecuarias más representativas el departamento de Nariño, debido a que forma parte de la herencia y la cultura de los países andinos, y que su producción y comercialización conforma un renglón destacado en el ingreso de las familias campesinas e indígenas de Nariño. Paralelamente, se estima que su producción, es un generador de empleo e ingresos en el 86% de los municipios; especialmente de las subregiones Centro, Guambuyaco y Exprovincia de Obando, apoyando alrededor de 30.000 familias quienes se dedican a la crianza de esta especie (Gobernación de Nariño, et al., 2019).

Distribución poblacional y geográfica. A nivel geográfico el *C. porcellus* se encuentra distribuido en la región andina de América Latina, con mayor proporción, en la provincia de Azuay en Ecuador, en el departamento de Cajamarca en Perú, Cochabamba en Bolivia y en el departamento de Nariño en Colombia (Aviles Esquivel, 2016).

En cuanto al número de animales por país, se estima que existe una población de más de 100 millones de cuyes en Latinoamérica, en donde Perú registra la población más grande de animales (65 millones), seguida por Ecuador (47 millones) y Bolivia (3 millones) (Patiño et al., 2019). Por su parte, el inventario de cuyes en Colombia, está distribuido minoritariamente en los departamentos de Cauca, Putumayo, Huila y Boyacá y mayoritariamente en Nariño, con una población animal de 3.007.270 (Consolidado Agropecuario del departamento de Nariño, 2017).

En el departamento Nariño la producción de cuy, se ha manejado bajo tres sistemas: familiar o tradicional, familiar-comercial y comercial en los cuales, los animales se disponen en galpones, su alojamiento es en pozas o jaulas, empleando comederos para el alimento y utilizando cuyes mejorados (Caycedo 2000). Al respecto, la mayoría de productores (61,4 %) tienen animales resultado del cruzamiento de cuyes criollos con razas mejoradas como la Andina y la Perú (Patiño et al. 2019).

2.2 Relación taxonómica y descripción biológica de la especie

Clasificación y relación taxonómica. La clasificación taxonómica de la especie *C. porcellus*, fue dada a finales de siglo 18 por el naturalista Johann Christian Erxleben, la cual corresponde a la clasificación de la especie domesticada: Reino: animal; Filo: cordado; Clase: mamífero; Orden: roedor; Suborden: histicomorfo; Familia: caviidae; Subfamilia: caviinae; Género: *Cavia*; Especie: *porcellus* (Pritt, 2012).

Dentro de la familia Caviidae, se agrupan cinco géneros y 23 especies de roedores sudamericanos. Todos sus miembros, se identifican por tener cuatro dedos en las patas delanteras, tres dedos en las traseras, ausencia de pelo en las plantas de los pies y uñas cortas y afiladas. Adicionalmente, los animales del género *Cavia*, presentan un cuerpo robusto, cabeza grande, extremidades y orejas cortas y una cola vestigial (Shomer et al., 2015). De igual forma, el *C. porcellus*, forma parte del suborden histicomorfo (mamíferos roedores parecidos a puercoespines, chinchillas, capibaras) quienes se caracterizan por presentar un arco cigomático donde el hueso yugal forma el bloque central (Pritt, 2012).

En cuanto a su relación con otras especies, el *C. porcellus* tiene más cercanía con chinchillas y puercoespines que con ratones y ratas (Hargaden & Singer, 2012), y paralelamente está fuertemente relacionado con otras especies de caviomorfos como *Cavia aperea*, *Cavia cutleri*, *Cavia fulgida* y *Cavia tschudii*, los cuales aún existen como animales de vida silvestre en áreas de Argentina, Uruguay, Bolivia, Perú y Brasil, viviendo en pastizales en pequeños grupos alimentándose de la vegetación residente (Pritt, 2012).

Clasificación según su anatomía gastrointestinal. De acuerdo a su fisiología, el *C. porcellus* se clasifica como un animal herbívoro, monogástrico simple de fermentación post-gástrica similar al conejo. En su etapa adulta, se han descrito procesos de fermentación mixta y una capacidad degradadora de celulosa, similares a los animales poligástricos en lugar de monogástricos estrictos. En el estómago se inicia su digestión enzimática, la cual continuar en un ciego funcional, en donde se lleva a cabo la fermentación bacteriana.

Las características anatómicas generales del TGI de la especie *C. porcellus* es similar a las de otros roedores. (Imam et al., 2021) definieron al realizar un estudio morfológico y morfométrico del TGI de esta especie, que el estómago ocupaba la porción superior izquierda de la cavidad abdominal, en gran parte oculta a la vista por el hígado. Presenta un color rosado externamente y se subdivide en tres áreas: cardias, fondo y píloro. Por su parte, el intestino delgado tiene tres regiones: duodeno, yeyuno e íleon. El duodeno está en contacto con la región pilórica del estómago proximalmente (unión gastroduodenal) y continua con el yeyuno distalmente, mientras que el yeyuno continúa con el íleon distalmente y este termina uniéndose al ciego en la unión ileo-cecal. Finalmente, el intestino grueso tiene tres regiones distintas: ciego, colon y recto. El ciego es prominente y dilatado, de paredes delgadas, que presenta tres bandas delgadas a lo largo de toda su longitud, generando haustras de la pared intermedia. El recto se parece al colon, pero es más corto y está ubicado medialmente en la cintura pélvica.

En el *C. porcellus*, el ciego ocupa la mayor parte de la cavidad abdominal ventral, es grande, semicircular y de paredes delgadas, tiene numerosas haustras laterales y una apariencia saculada. La presencia de tres bandas musculares blancas a lo largo de su longitud, con disposición medial, lateral y ventral conducen a la formación de haustras, además las dos uniones, es decir, la unión ileocecal y la unión cecocólica, están a poca distancia entre sí (Stan, 2018).

Además, el ciego en esta especie es importante para la absorción de nutrientes y la fermentación del material vegetal ingerido por el animal. La capacidad de fermentación en el cuy es más significativa que en otros roedores (ratas y hámsteres) y conejos (Frías et al., 2023a). Ciego y colon ocupan el mayor volumen (35 y 23 %) y el mayor peso (35.59 y 26.0 g) comparativamente con las demás fracciones del tubo digestivo, además, estos animales con respecto a la capacidad fermentativa, alcanza valores de 46 % en el ciego y 29 % en el colon (Caycedo 2000).

El ciego en los cuyes, presenta cadenas cortas de ácidos grasos en concentraciones similares a las del rumen; paralelamente, el metabolismo de este compartimiento tiene una función significativa en la síntesis microbiana de vitamina K y la mayoría de las vitaminas del grupo B (Sandoval, 2013). Al igual que el conejo, realiza la ingestión de cecotrofos (cecotrofia), que le permite aprovechar la proteína de las células bacterianas presentes en el ciego. Este comportamiento, que

es nocturno, le permite reutilizar el nitrógeno proteico que no consiguió ser digerido en regiones anteriores (Sandoval, 2013).

2.3 Sistemas de producción de cuyes

La producción de cuyes en el departamento de Nariño, presenta diferentes características relacionadas con el número de animales, el tipo de alimentación suministrada y su tecnificación. Por lo general, en las regiones productoras de esta especie, se encuentran 3 tipos de crianza:

Crianza familiar o tradicional. Este tipo de crianza no tiene ningún grado de tecnificación, los cuyes se encuentran en el piso de la cocina y, por lo tanto, solo se maneja un solo grupo correspondiente a machos, hembras, crías y adultos. En promedio se manejan de 10 a 40 animales por familia. Debido a este manejo, se presenta alta mortalidad en crías por aplastamiento, deficiencias nutricionales y presencia de enfermedades producidas por bacterias y parásitos que se encuentran en el piso. La alimentación es basada a los residuos de cocina y forrajes (Caycedo, 2000).

Crianza familiar-comercial. El manejo se realiza en galpones pequeños o instalaciones fuera de la cocina con una capacidad hasta de 200 animales los cuales se encuentran separadas, de acuerdo a su edad o etapa productiva. Se utilizan para el alojamiento de los cuyes pozas en el piso o jaulas de uno, dos o tres pisos, empleando canastillas para el pasto y comederos de arcilla o cemento para el suministro de concentrado/balanceado. La producción de esta especie es para el consumo familiar y para su comercialización (Caycedo, 2000).

Crianza comercial. Se manejan más de 500 animales, aplicando prácticas de manejo tecnificadas con galpones comerciales con pozas o jaulas. La alimentación está constituida por pastos cultivados y concentrados con diferentes niveles de proteína. Su producción tiene fines comerciales y obtención de pie de cría garantizado (Caycedo, 2000).

2.4 Estudios de microbiota intestinal del *Cavia porcellus*

La comprensión de la microbiota bacteriana asociada al lumen intestinal, la cual es esencial para comprender procesos como la respuesta inflamatoria en el intestino y la fermentación, ha conducido a desarrollar investigaciones que buscan dilucidar su composición. Se ha determinado en varios estudios que el microbioma del TGI de los animales de producción influye en la salud, el desarrollo, la absorción nutricional, el metabolismo y la productividad del huésped (Frias et al., 2023a).

A nivel de ciego, por ejemplo, la secuenciación de fragmentos de ADN, reveló la presencia y la distribución heterogénea de *Ruminococcus*, *Treponema* y *Clostridium polysaccharolyticum* a lo largo de este segmento y del colon proximal, lo cual podría ser importante para la degradación de la fibra dietética y la interacción entre la microbiota y el sistema inmunológico de las mucosas (Takahashi et al., 2005).

Por otra parte, dado que existe homología entre la glicoproteína E-cadherina presente en humanos y el *C. porcellus*, la cual hace de esta especie un mejor modelo para el estudio de condiciones médicas, como la infección causada por *Listeria monocytogenes* (Lecuit et al., 1999); también se ha optado por realizar estudios comparativos entre la composición taxonómica intestinal del humano y el *C. porcellus*. Los resultados de estas investigaciones, reportaron que la microbiota fecal dominante de ambas especies, estuvo compuesta por los Filos Bacteroidetes y Firmicutes; sin embargo, los Filos con menor abundancia en humanos, fueron más abundantes en el *C. porcellus* (Hildebrand et al., 2012).

Paralelamente, se registraron 320 géneros significativamente diferentes entre la microbiota de las dos especies, de los cuales 225 fueron más abundantes en el *C. porcellus*. También se observó que la población constituida por *Verrucomicrobia*, fue cinco veces mayor en el *C. porcellus*, lo cual puede explicarse ya que, dentro de este filo se identificaron bacterias pertenecientes al género *Akkermansia*, quienes son degradadores de mucina (Hildebrand et al., 2012).

También se han realizado intentos por estimar la similitud del microbioma de especies que al igual que el *C. porcellus* comparten estrategias digestivas como la cecotrofia (Crowley et al., 2017). En esta investigación se identificaron seis Filos bacterianos (Actinobacteria, Bacteroidetes, Fibrobacteres, Firmicutes, Proteobacterias, y Tenericutes) en donde la mayoría de las OTU de estos Filos, estuvieron representados principalmente por Bacteroidetes (32,3% en conejos y 67,3% en cobayas) y Firmicutes (29,0% en conejos y 9,3% en cobayas) (Crowley et al., 2017).

La densidad de OTU pertenecientes a Bacteroidetes y específica de cada especie fue mayor en el *C. porcellus* (136 OTU) que en conejos (20 OTU); por su parte, los OTU asociados a Firmicutes fue de 208 conejos y 73 en el *C. porcellus*. Adicionalmente, una menor cantidad de OTU fue detectada para proteobacterias con valores de 5 OTU para el *C. porcellus* y 6 OTU para conejos; y porcentajes muy bajos de Actinobacterias se registraron en las dos especies con valores de 0,8% en conejos y 0,06% en el *C. porcellus*. Particularmente, únicamente se reportó una única OTU de *Fibrobacteres* al igual que una sola secuencia Tenericutes específicamente en *C. porcellus* (Crowley et al., 2017).

Mediante la secuenciación del gen ARNr 16S, Tang et al., (2022) determinaron la composición microbiana diferentes segmentos intestinales de cuyes (duodeno, yeyuno, íleon, ciego, colon y recto), utilizando 32 muestras de contenido intestinal. El análisis de diversidad alfa mostró que la abundancia microbiana aumentó con la extensión del intestino, y la cantidad de características del intestino grueso fue mayor que la del intestino delgado. Además, las principales especies microbianas en cada segmento intestinal fueron similares a nivel de filo. Sin embargo, a nivel de género, la composición microbiana de cada segmento intestinal era bastante diferente y todos los segmentos compartían un solo microorganismo dominante. Entre los microbios predominantes, Proteobacteria y Actinobacteria fueron significativamente más abundantes en el intestino delgado que en el intestino grueso, mientras que Firmicutes y Spirochaetes fueron más abundantes en el intestino grueso.

Por su parte, un estudio del microbioma del ciego del cuy, teniendo en cuenta las tres razas: Andina, Inti y Perú, realizado por Frias, et al., (2023), se determinó que las razas compartían cuatro filos principales: Bacteroidota, Firmicutes, Spirochaetota y Synergistota, sugiriendo que la

genética del huésped podría ser un factor en la estructura y composición del microbioma del ciego de esta especie. Además, encontraron géneros únicos para cada raza. Para la raza Andina, algunos de los géneros únicos identificados fueron *Harryflintia*, *Lachnospira* y *Faecalibacterium*; para la raza Perú, los géneros fueron *Alloscardovia* y *Saccharofermentans* y para la raza Inti, algunos de los géneros únicos fueron *Flavonifractor*, *Odoribacter*, *Ruminiclostridium* y *Parabacteroides*: Todos estos grupos de géneros pueden producir AGCC como productos finales de la fermentación.

La microbiota y su relación con las condiciones medioambientales del sistema productivo. Se ha identificado que la microbiota intestinal puede estar influenciada por muchas interacciones entre los microorganismos, el huésped, la dieta y las condiciones de alojamiento de los animales. El conocimiento de los factores que afectan la diversidad y el funcionamiento de la microbiota intestinal es esencial para facilitar el desarrollo de nuevas estrategias para mejorar la salud, reducir el uso de antibióticos y mejorar el rendimiento productivo (Kers, et al., 2019).

Sin embargo, estudios relacionados con este tema en la especie *Cavia porcellus*, son escasos, de igual forma, (Kers, et al., 2019) refieren que el conocimiento sobre cómo esos factores y sus interacciones dan forma a la microbiota intestinal en los pollos de engorde es limitado, pero es importante para el diseño y la interpretación de experimentos, especialmente para la nutrición de las especies animales.

3. Pregunta de Investigación

¿Qué variables específicas asociadas a las unidades productivas en los corregimientos del municipio de Pasto influyen en la composición taxonómica del bacterioma cecal del *Cavia porcellus*?

4. Hipótesis

4.1 Hipótesis nula

La composición taxonómica del bacterioma cecal en *Cavia porcellus* no se ve influenciada por ninguna de las variables específicas asociadas a las unidades productivas de cuyes, como pueden ser las condiciones ambientales, alimentación, prácticas de manejo y genética.

4.2 Hipótesis alterna

Existe un conjunto de variables asociadas a las unidades productivas de cuyes, como los factores ambientales, dietéticos, de manejo y genéticos, que ejercen una influencia significativa sobre la composición taxonómica del bacterioma cecal en *Cavia porcellus*.

5. Metodología

5.1 Muestras biológicas del estudio

Las muestras de los segmentos del tracto gastrointestinal de la especie *C. porcellus*, de este estudio, hacen parte de la tesis de investigación de la candidata doctoral en Biotecnología de la Universidad de Antioquia, Adriana Elisabeth Orbes Villacorte. El proyecto presentó el aval del Comité de Ética en Investigación, con acta de aprobación número 028-2021 de la Universidad de Nariño, lugar donde se llevó a cabo todo el proceso de muestreo de los animales.

En la Tabla 1 se describe el tipo y número de muestras que se procesaron teniendo en cuenta los segmentos que comprenden el intestino delgado y grueso del *C. porcellus*.

Tabla 1 Tipo y número de muestras procesadas

Tipo de muestra	No. Muestras
Muestras de contenido del ciego (intestino grueso)	288
Muestras de tejido de colon (intestino grueso)	8
Muestras de heces (intestino grueso)	7
Muestras de tejido de duodeno (intestino delgado)	8
Muestras de tejido de yeyuno (intestino delgado)	8
Muestras de tejido de íleon (intestino delgado)	8
Muestras totales	327

Se muestrearon un total de 288 cuyes provenientes de producciones familiares-tradicionales de 14 corregimientos con los mayores porcentajes de producción de cuyes del municipio de Pasto (Anexo A).

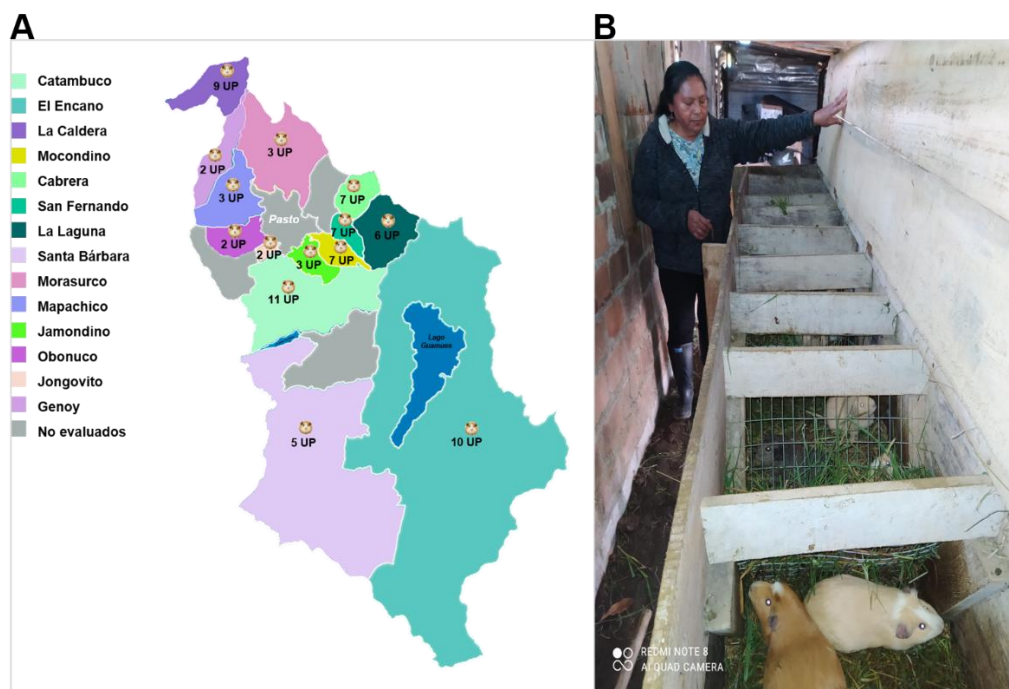
Este número de animales se determinó con base a la población cuyícola del municipio de Pasto (1.150.000), según el Consolidado Agropecuario de Nariño (2017) de la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, la cual es una población representativa del departamento de Nariño.

Los criterios de inclusión para la selección de los cuyes fueron: cuyes aparentemente sanos, en la etapa productiva de destete (entre 15 a 20 días de edad) y con una dieta basada únicamente en forraje/pasto, sin la adición de alimento balanceado y/o antibióticos.

5.2 Encuesta a las unidades productivas

Para la selección de corregimientos, unidades productivas y número de animales, se visitaron 14 corregimientos (Figura 1), donde se realizaron encuestas a los dueños de las unidades productivas. Este paso fue fundamental para establecer una línea base de la información, debido a que actualmente no hay una base de datos actualizada y disponible para consultar esta información. Las encuestas contemplaron la información general de la producción, información geográfica y ambiental, características de la producción e identificación de los animales, prácticas de alimentación y sanidad y una descripción de las instalaciones de producción (Tabla 2).

Figura 1 Mapa de los corregimientos visitados del municipio de Pasto



Nota. Ubicación geográfica de los corregimientos, señalando el respectivo número de unidades productivas (UP), visitadas en cada región (A); Productora de cuyes del corregimiento de Cabrera, municipio de Pasto (B).

Se visitó un total de 77 unidades productivas (UP), en cada una de ellas, se recolectó información relevante del sistema productivo, que corresponde a la metainformación del estudio, además, permitió una caracterización actualizada del tipo de crianza que tiene esta especie en la región.

Tabla 2 Encuesta a productores de cuyes de Pasto, Nariño

No.	Parámetros	Descripción
1.	Datos preliminares de la producción	-Fecha de visita -Corregimiento/sector -Nombres y apellidos del productor -Nombre de la producción -Celular
2.	Información geográfica y ambiental	-Localización (GPS) -Temperatura -Altitud
3.	Características de la producción e identificación de los animales	-Capacidad de animales de la producción -Cantidad de animales al momento de la visita -Tipo de animales que maneja -Tiempo al destete -Identificador de los animales
4.	Identificación de prácticas de alimentación y sanidad:	-Tipo de pasto/forraje -Otro tipo de alimentación -Como es el suministro del pasto -Frecuencia del suministro del pasto -Origen del pasto que suministra -Suministro de agua -Presentación de enfermedades en la producción -Uso de medidas de control sanitario -Los cuyes tienen contacto con otro tipo de animales -Capacitaciones en manejo y prácticas sanitarias
5.	Instalaciones de la producción	-Alojamiento: galpón/caseta/cocina -Materiales de fabricación del alojamiento general -Tipo de alojamiento: jaula/poza/mixto -Materiales de fabricación del alojamiento -Uso de pediluvio en la producción -Limpieza (barrer y/o lavar) el alojamiento -Uso de productos para la desinfección del alojamiento -Participación en asociaciones de productores de cuy

A partir de esta información obtenida mediante el formato de encuesta, se crearon cada una de las variables correspondiente a la metainformación, necesaria para los posteriores análisis estadísticos.

5.3 Condiciones del transporte de los animales

Los animales que cumplieron los criterios de inclusión del estudio, fueron identificados, ubicando una etiqueta en una de sus extremidades. Luego fueron transportados en guacales, garantizando el bienestar de los animales, con disponibilidad permanente de forraje y agua.

Los guacales empleados se acondicionaron con una base metálica para aislar a los animales del suelo, evitando su contacto con orina, heces y residuos en general, teniendo en cuenta las recomendaciones de la Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio (National Research Council, 2017) y la normatividad colombiana como el Estatuto Nacional de Protección de los Animales (Ley 84 de 1989 modificada mediante la Ley 1774 del 2016), y la Resolución 8430 de 1993, la cual establece los lineamientos para el uso y cuidado de animales vivos en experimentos e investigación biomédica.

5.4 Procesamiento de las muestras en el laboratorio

Esta actividad se desarrolló en el laboratorio de Fisiología y Reproducción Animal y el laboratorio de Microbiología y Parasitología Animal, de la Universidad de Nariño, los cuales fueron adaptados para cumplir con los protocolos necesarios para la recolección y procesamiento de las muestras. Dentro del laboratorio se definieron las siguientes 6 zonas que corresponden a:

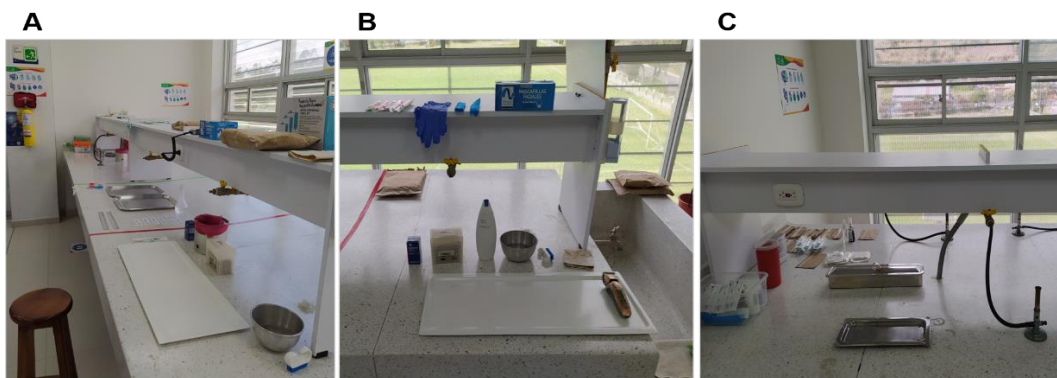
- 1. ZONA A. Pre-procesamiento:** en esta área se realizó recepción de los animales, pesaje, toma de temperatura e inspección física general de cada animal. Los datos se reportaron en formatos dispuestos para cada animal.
- 2. ZONA B. Eutanasia:** en esta área se efectuó el sacrificio humanitario de los animales, a cargo de un médico veterinario, mediante punción intracardiaca con jeringa insulínica, utilizando Eutanex.
- 3. ZONA C. Limpieza:** inmediatamente después de la eutanasia se realizó, corte del pelo del área ventral del animal. Posteriormente, una limpieza del área con una solución de agua y jabón desinfectante para eliminar contaminaciones externas.

Se ubicó a cada animal en una bandeja metálica, con previa desinfección. Se colocaron rótulos con los datos para la identificación de cada animal y se tomó un registro fotográfico.

4. **ZONA D1. Elementos de bioseguridad:** en esta área estaban dispuestos elementos como la bata, guantes, tapabocas y gorro estériles para las dos personas encargadas de la toma de muestras. Con previa limpieza y desinfección de manos.
5. **ZONA D2. Toma de muestras:** en las bandejas el animal se encontraba en posición decúbito dorsal, de esta manera se efectuó un embrocado quirúrgico utilizando Isodine solución y alcohol a 70°. Posteriormente, se llevó a cabo la disección del animal. Se encontraban disponibles tubos falcón (15 ml) y tubos eppendorf (2 ml) previamente etiquetados, para la ubicación de las muestras del tracto gastrointestinal del animal.
6. **ZONA E. Toma de muestras en formol:** en esta área, se tomaron muestras de heces directamente de la porción final del intestino grueso. Además, todas las partes restantes del animal fueron depositadas en un recipiente con formol buferado al 10%, con el fin de conservar la mayor cantidad de muestras.

En las distintas zonas mencionadas, se aplicaron protocolos de limpieza y desinfección, antes y después del procesamiento de cada animal, garantizando que las muestras tomadas no fueron contaminadas por el ambiente o los materiales usados. El instrumental quirúrgico y los elementos de bioseguridad utilizados en cada proceso, fueron previamente esterilizados (Figura 2).

Figura 2 Delimitación de zonas del laboratorio para el muestreo

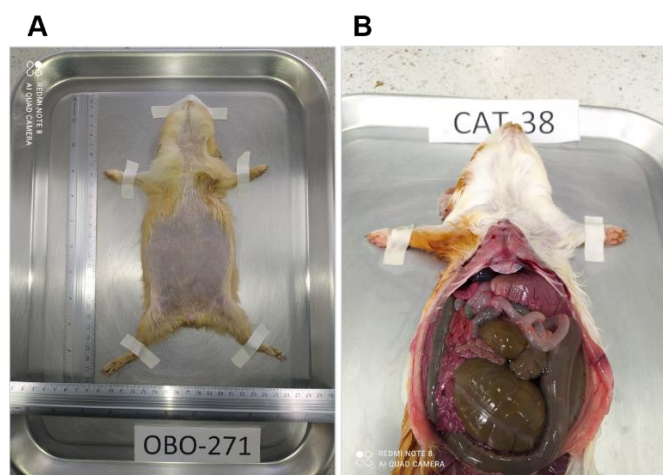


Nota. Zona B. Eutanasia (A). Zona C. Limpieza (B) y Zona D2. Toma de muestras

5.5 Obtención y conservación de las muestras

Para la obtención de las muestras se realizó la disección del animal, teniendo en cuenta la técnica de necropsia en cuyes (Astaiza et al., 2013). La disección inició con una primera incisión, abarcando únicamente la piel y se procedió a separar la piel cuidadosamente. Posteriormente se realizó un corte en la base del esternón, evitando la perforación de los órganos de la cavidad abdominal (Figura 3).

Figura 3 Proceso de disección del cuy



Nota. En la imagen A, se muestra el animal listo para la disección, posterior a los protocolos de limpieza y desinfección. Imagen B, disección del animal, con el tracto intestinal expuesto

A continuación, se procedió con una inspección macroscópica, de cada uno de los órganos y segmentos intestinales; cada hallazgo encontrado fue debidamente descrito y fotografiado. Luego, se identificó cada uno de los segmentos que comprenden el intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon) e intestino grueso (ciego y colon) y finalmente se tomó asépticamente cada una de las muestras definidas.

En los segmentos del intestino delgado y del colon, se realizaron cortes de tejido y se depositaron inmediatamente, en cada uno de los tubos preparados. Las muestras obtenidas de contenido cecal, fueron obtenidas utilizando una jeringa estéril de 5 ml; de igual manera este contenido se depositó en los tubos disponibles.

Los tubos de microcentrífuga utilizados para la conservación de las muestras contenían 1.5 ml de buffer NAP (Camacho et al., 2013). Este buffer contiene EDTA, citrato de sodio 3H₂O y sulfato de amonio, los cuales permiten la preservación y mantenimiento de ácidos nucleicos, para su posterior extracción. Todos los tubos fueron refrigerados a una temperatura de -20 °C.

Finalmente, las muestras fueron transportadas en hielo seco hasta el laboratorio de Agrobiotecnología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá y almacenadas a -20 °C hasta su procesamiento.

5.6 Muestras para análisis histológicos

A partir de las muestras fijadas en formol, se seleccionó un grupo de 8 animales que correspondía, a animales aparentemente sanos y el segundo a animales con algún hallazgo histológico teniendo en cuenta, la descripción macroscópica del tracto intestinal señalado anteriormente. Posteriormente, se realizaron cortes de los segmentos del tracto gastrointestinal (duodeno, yeyuno, íleon, ciego y colon) y fueron ubicadas en cassettes para inclusión de tejidos debidamente rotulados y se almacenaron en recipientes con formol buferado al 10%.

Seguidamente, estas muestras fueron procesadas mediante la técnica de inclusión en parafina y coloración de Hematoxilina y Eosina (H/E) y se efectuó la descripción microscópica, por un Anatomopatólogo Veterinario, teniendo en cuenta la metodología empleada por el Laboratorio de Patología Veterinaria de la Universidad Nacional de Colombia considerando los siguientes aspectos: reconocimiento histológico del órgano, evaluación en los objetivos de 4X 10X y 40X en el microscopio y finalmente su descripción histológica.

Respecto a los hallazgos encontrados en la descripción microscópica de los segmentos intestinales, para enteritis (intestino delgado) y colitis (colon) fue clasificada según su grado de severidad como leve, moderada o severa, teniendo en cuenta lo relacionado por Paz Calvache, (2022).

5.7 Muestras para determinar presencia de parásitos

Para determinar la presencia de parásitos internos en los cuyes, se evaluaron las heces, tomadas directamente del recto de cada animal. Esta evaluación se realizó mediante la técnica universal de McMaster, siguiendo los protocolos de la Clínica Veterinaria “Carlos Martínez Hoyos” de la Universidad de Nariño. Para este procedimiento se utilizó 1 gramo de muestra de heces de cada animal, agregando una solución saturada de azúcar, esta solución se filtró, y se tomó una muestra para su lectura en la cámara de McMaster y se contabilizó los huevos de parásitos observados en el interior de los límites de las dos cuadrículas o rejillas de la cámara. Esta variable se definió únicamente como presencia y ausencia para las evaluaciones posteriores.

5.8 Extracción de ADN de las muestras

Para la extracción de ADN, se procesaron 288 muestras de ciegos, para evaluar los cambios de composición de la comunidad con respecto a las distintas variables, mientras que para establecer la composición de la diversidad entre tejidos del TGI se evaluaron en total 32 muestras de duodeno, yeyuno, íleon y colon y 7 muestras de heces.

Antes de realizar la extracción de ADN y considerando que las muestras de contenido cecal se encontraban protegidas en el buffer de preservación NAP descrito por Camacho et al., (2013), todas las muestras fueron sometidas a un proceso de limpieza utilizando agua de grado molecular y centrifugación, para eliminar el buffer de preservación.

Para la extracción de ADN de las muestras de ciego y heces se utilizó el kit comercial DNeasy® PowerSoil® Pro Kit (QIAGEN), siguiendo las recomendaciones del fabricante. Respecto a las muestras de tejido de los demás segmentos (duodeno, yeyuno, íleon y colon), se empleó el kit EZ-10 Spin Column Genomic DNA Minipreps Kit, Animal Sample (BIO BASIC), siguiendo las instrucciones del fabricante, con previa eliminación del buffer NAP de las muestras.

La calidad del ADN total extraído de cada muestra se determinó utilizando NanoDrop™ 1000 (Thermo Fisher Scientific), la integridad mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 % (p/v) a 75 voltios, durante 50 minutos y la concentración con Qubit 2.0 (Invitrogen).

5.9 Preparación de la biblioteca de amplicones

El análisis de las comunidades bacterianas asociadas al contenido del ciego, tejido y heces del *C. porcellus* se realizó mediante la amplificación de la región hipervariable V4 del gen del ARNr 16S. Las bibliotecas de ADN bacteriano se prepararon siguiendo la metodología de Faith et al., (2013) en un procedimiento de PCR de dos pasos.

5.9.1 Primera PCR (PCR-1)

La primera PCR, se realizó por triplicado en volúmenes de reacción de 25 µl y se emplearon los cebadores modificados 515F (GTGCCAGCMGCCGCGGTAA) y 806R (GGACTACHVGGGTWTCTAAT) (Caporaso et al., 2010) para bacterias; la modificación del cebador contiene una región enlazadora en el extremo 5' del cebador.

Cada reacción contenía 0.25 µl de Phusion High Fidelity DNA Polymerase (New England Biolabs), 0.5 µl de cada cebador 515F y 806R modificados, 0.5 µl de dNTPs, 5 µl de 5X Phusion HF buffer y 1 µl de ADN de las muestras.

Los ciclos de la primera PCR consistieron en una desnaturalización inicial a 98 °C durante 30 segundos, seguida de 30 ciclos de desnaturalización a 98 °C por 10 segundos, el anillamiento a 55 °C durante 30 segundos, un paso de extensión a 72 °C por 30 segundos y una extensión final a 72 °C durante 5 minutos. Este proceso se desarrolló, en un termociclador (T100 BIO-RAD).

5.9.2 Electroforesis PCR-1

Los amplicones obtenidos de la PCR-1 se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa (Agarosa Froggarose LE, Frogga Bio) al 1.5 %, después de teñir con DNA Fluorescent Staining Dye (SMOBIO), con un voltaje de 75 voltios, y una duración del proceso de 50 minutos. Se pudo visualizar una banda cercana entre los 250 - 270 pb. Confirmada la amplificación de cada muestra se procedió a realizar una limpieza con perlas magnéticas.

5.9.3 Limpieza y purificación de amplicones

Todos los productos de PCR fueron purificados siguiendo el protocolo de Agentcourt® Ampure® XP (Beckman Coulter, Brea, CA, EE.UU.). Para ello se utilizaron perlas magnéticas (Speedbead

magnetic carboxylate, CYTIVA), etanol fresco al 80 % y un rack magnético el cual permitió una eficiente limpieza de cada amplicón.

5.9.4 Electroforesis de amplicones limpios

Para la verificación de limpieza realizada con las perlas magnéticas, se resolvieron las muestras limpias mediante una electroforesis en gel de agarosa al 1.5 %, bajo las mismas condiciones anteriormente mencionadas.

5.9.5 Segunda PCR (PCR-2 Barcoding)

Durante esta PCR-2, se agregaron los códigos de barras a los amplicones de ARNr 16S, así como las regiones Illumina i5 e i7 (Caro-quintero & Ochman, 2015). En este caso, se seleccionó una permutación específica de primers Forward y Reverse, que permitió una única combinación para cada muestra que se desea secuenciar, en el Anexo C se muestran las secuencias de los primers Forward y Reverse, que permitieron realizar las permutaciones para elaborar las librerías.

Esta PCR, se llevó a cabo en volúmenes de reacción de 25 μ l, agregando 5 μ l de producto purificado, 1 μ l (10 μ M) de cada uno de los cebadores indexados hacia adelante y hacia atrás, 0.1 μ l Platinum™ Taq DNA Polymerase High Fidelity (Invitrogen), 0,75 μ l de MgSO₄ 50 mM, 2,5 μ l de tampón 10X, 0,5 μ l de dNTP 10 mM (conjunto de dNTP 100 mM, Invitrogen).

Las condiciones de la PCR consistieron en una desnaturalización inicial a 98 °C durante 30 segundos, seguida de 20 ciclos de desnaturalización a 98 °C por 10 segundos, el anillamiento a 57 °C durante 30 segundos, un paso de extensión a 72 °C por 30 segundos y una extensión final a 72 °C durante 5 minutos.

5.9.6 Electroforesis PCR-2

La unión correcta de códigos de barras y regiones Illumina (i5 e i7) a los amplicones, se verificó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5 %. En este gel se resolvió una muestra purificada de amplicones de PCR-1 seguida en los demás carriles de las muestras obtenidas en la PCR-2. El resultado fue positivo, cuando se observó que las bandas de la PCR-2 se situaron ligeramente por encima de la muestra de la PCR-1.

5.9.7 Limpieza y purificación de las librerías

Posterior a la validación por electroforesis, se efectuó una nueva rutina de limpieza con perlas magnéticas y etanol de los productos obtenidos en la PCR-2, como se mencionó anteriormente.

5.9.8 Electroforesis de las librerías

La verificación de la limpieza realizada con las perlas magnéticas de los productos de la PCR-2, se logró mediante una electroforesis en gel de agarosa al 1.5 %, a las mismas condiciones anteriormente señaladas.

5.9.9 Cuantificación de los productos de la PCR-2

Los productos de la PCR-2 purificados fueron cuantificados utilizando un espectrofotómetro NanoDrop One (Thermo Fisher Scientific) y un fluorómetro Qubit™ 4 (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific) utilizando el kit Qubit™ 1X dsDNA HS Assay (Invitrogen) para su preparación, teniendo en cuenta las instrucciones del fabricante.

5.10 Secuenciación de la biblioteca de amplicones

Se obtuvieron un total de 327 librerías, para su secuenciación se efectuó un proceso de normalización de cada librería a una concentración de 4 micromolar. A partir de ello, se hicieron dos pools, el primero comprende 163 muestras y el segundo por 164 muestras.

Posteriormente los dos pools fueron enviados para su secuenciación al Institute for Genomics, Biocomputing & Biotechnology de la Universidad de Mississippi State, en el Estado de Mississippi, Estados Unidos de América. Estos fueron secuenciados en la plataforma Illumina Miseq utilizando lecturas pareadas de 250 pb. Finalmente, se recibieron los datos de secuenciación MiSeq para cada librería en archivos Fastq, en ambos sentidos (Forward y Reverse) para ser analizados bioinformáticamente.

5.11 Análisis de secuencias y bioinformática

El análisis del bacterioma en este estudio, se realizó mediante las secuencias obtenidas en ambos sentidos del marcador molecular ARNr 16S – V4. Estas secuencias fueron importadas al software

Quantitative Insights Into Microbial Ecology 2 (QIIME 2) versión 2022.11 (Bolyen et al., 2019). Este programa y sus complementos fueron instalados en el servidor local para el análisis de datos bioinformáticos del Instituto de Max Planck Tandem Groups del Grupo Holobiontes – Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá.

El flujo de trabajo bioinformático inicio con la demultiplexación de las secuencias sin procesar, seguido por el proceso de eliminación de adaptadores, secuencias ambiguas, duplicadas, de baja calidad y quimeras al igual que la asignación de ASV (Amplicon Sequences Variantas) mediante el complemento q2-demux seguido por un denoising con DADA2 (Callahan, et al., 2016). Las variantes de secuencia de amplicones (ASV) de alta calidad se clasificaron con la base de datos SILVA v. 138 (Quast, et al., 2013) y el clasificador sklearn, obteniendo las tablas de taxonomía.

Los índices de alfa diversidad (Chao1, Shannon; Simpson y Fisher) se calcularon y graficaron mediante la plataforma para el análisis de microbiomas MicrobiomeAnalyst (versión 2.0) con los siguientes parámetros, Data source: Original Data, Taxonomy level: phylum-Genus, Statistical method:Mann-Whitney/Kruskal-Wallis, Posthoc pairwise comparisons.

El Análisis de Varianza Permutacional Multivariante de la Dispersión (PERMANOVA) se realizó mediante la plataforma QIIME 2 (Bolyen et al., 2019) utilizando la matriz Unifrac Weighted-Unweighted. También se estimaron métricas de diversidad beta, UniFrac ponderado (Lozupone, et al. 2007), UniFrac no ponderado (Lozupone et al. 2005), y el análisis de coordenadas principales (PCoA) se estimaron utilizando la diversidad q2.

La predicción del potencial funcional de las comunidades bacterianas identificadas se realizó con TAX4Fun (Aßhauer, et al., 2015). Las funcionales se asignaron utilizando la base de datos de la Enciclopedia de Genes y Genomas de Kioto (KEGG) para generar tablas de conteo funcional por muestra (Kanehisa y Goto, 2000).

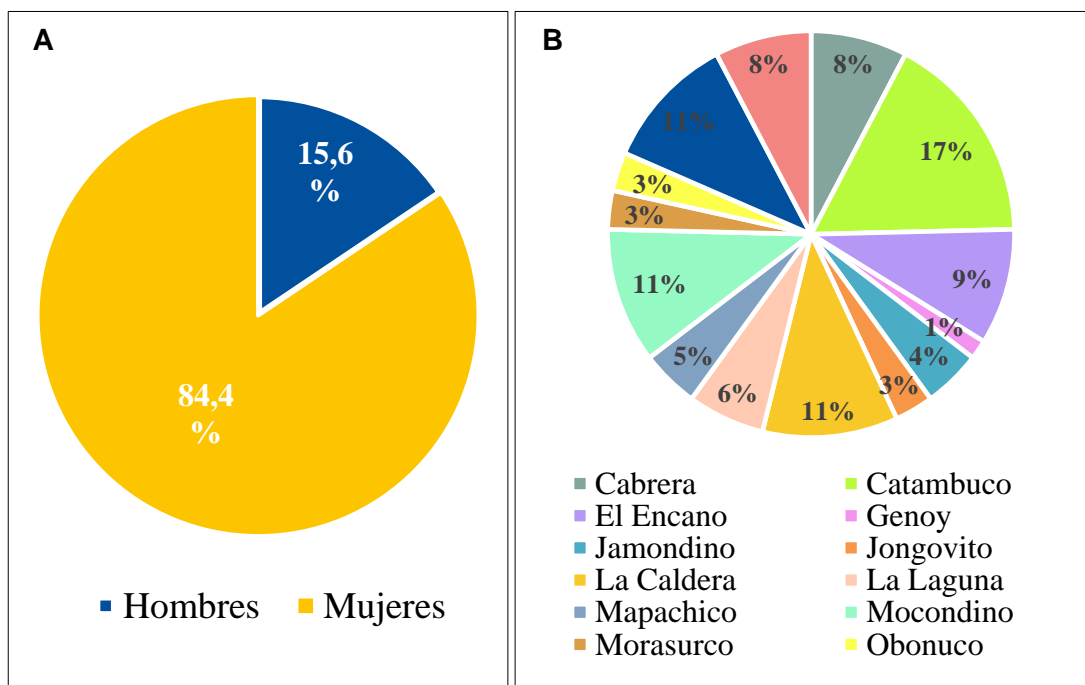
6. Resultados

6.1 Caracterización de las unidades productivas

La encuesta de caracterización de las unidades productiva de cuy en los corregimientos del municipio de Pasto, permitió obtener una evaluación actual de las condiciones y el manejo que el productor desarrolla para esta especie, y la base para la metainformación del análisis bioinformático (Anexo B). A continuación, se describen las variables más relevantes, obtenidas con el análisis de la encuesta:

- **Datos del corregimiento en relación con el género del productor**

Figura 4 Corregimiento vs Productores Hombres o Mujeres



Es importante destacar que la producción de cuyes, como se muestra en la Figura 4-A, continúa siendo un sistema productivo liderado por mujeres con un 84,4 % con respecto al 15,6 % liderado

por hombres. Son las mujeres las que se encargan de todas aquellas actividades que se derivan del manejo de los cuyes, como la compra del pie de cría, la búsqueda diaria del pasto/forraje, la limpieza de las instalaciones, hasta su venta directa, como producto final. Esta pequeña producción les ha permitido a las mujeres obtener recursos económicos importantes, que permiten solventar los gastos del hogar.

En todos los corregimientos del estudio, la producción de cuyes la encabezan las mujeres, destacándose los sectores de Catambuco, Mocondino, La Caldera y El Encano (Figura 4-B). Además, muchas mujeres en estas zonas, conforman pequeñas asociaciones o grupos que les permiten compartir conocimientos respecto al manejo de esta especie y el establecimiento de relaciones comerciales dentro de la región.

- **Datos del tipo de instalación y el alojamiento en el que se encuentran los cuyes, y la capacidad de cuyes de las unidades productivas (UP)**

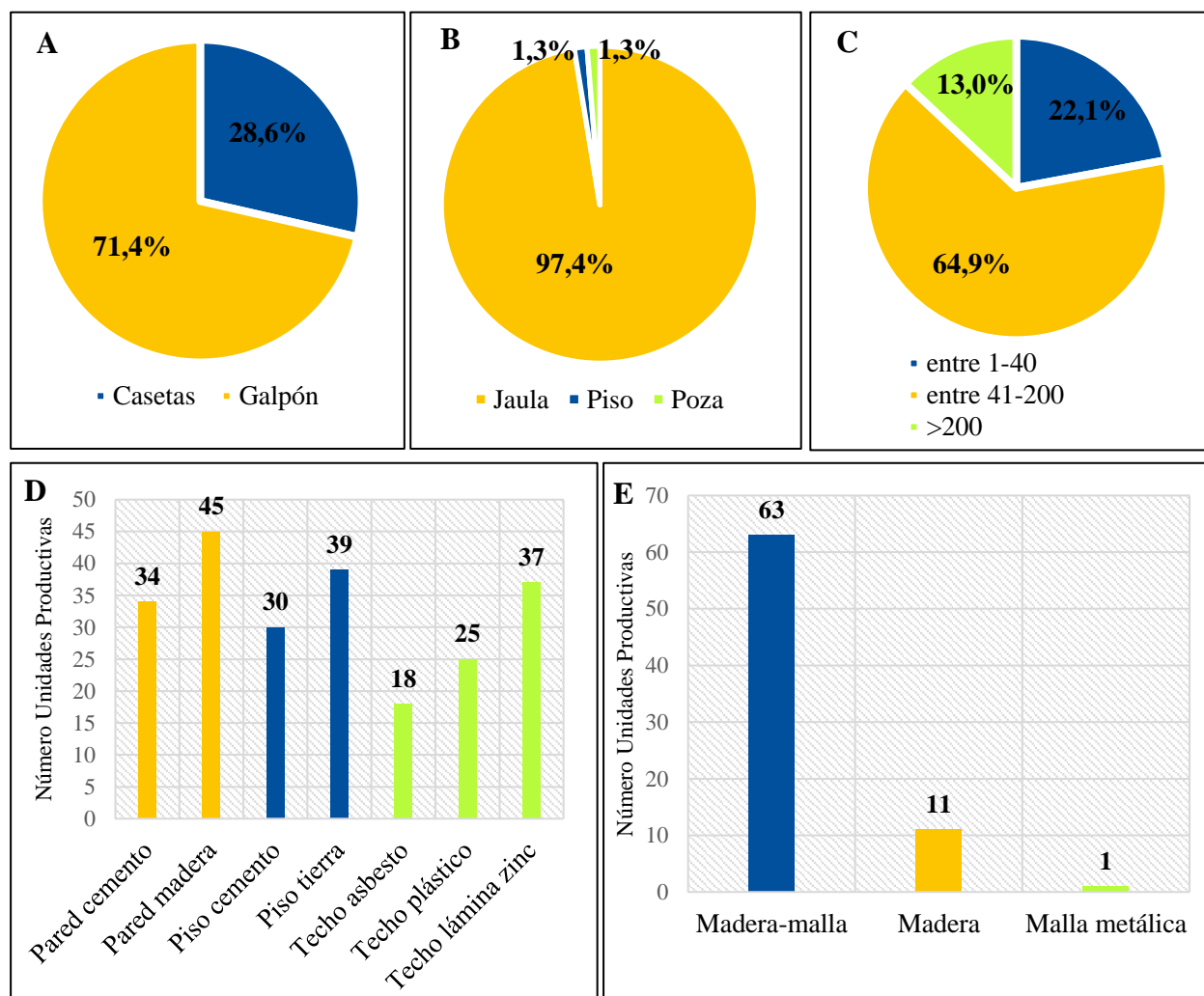
En la Figura 5, se muestran los tipos de instalaciones y alojamientos comúnmente usados por los productores para la producción de cuyes. También se puede observar los materiales empleados para su elaboración.

Figura 5 Tipos de instalaciones y alojamientos utilizados en la producción de cuyes



Nota. Instalaciones-casetas (A). Instalaciones-galpones (B). Alojamientos para grupos de cuyes (C-D)

Figura 6 Datos relacionados con las instalaciones y su capacidad animal



Al sistema familiar-comercial pertenecen, en su mayoría, los animales que hicieron parte del estudio. Las instalaciones y alojamientos de este sistema se han cambiado y fortalecido constantemente, como se pudo observar en las visitas realizadas.

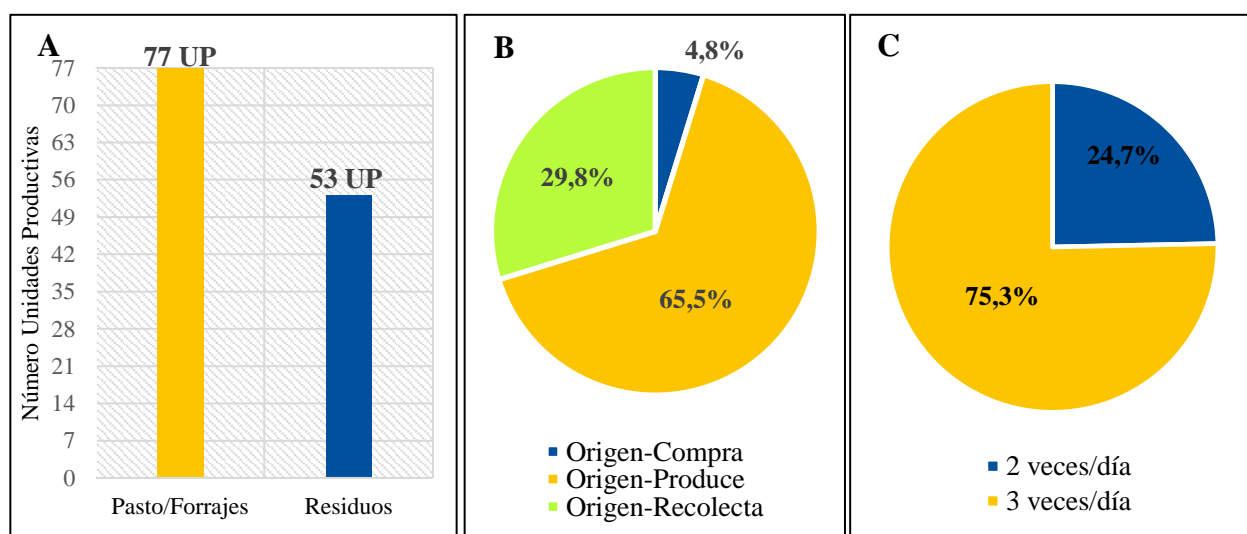
Esta producción se desarrolla, en su mayoría en casetas (71,4 %), las cuales son pequeños espacios, destinados para la crianza de los cuyes, que se encuentran junto a la vivienda familiar. El uso de galpones (28,6 %) corresponde a un área mucho mayor, que permite albergar más animales (Figura 6-A).

Lo anterior se relaciona con la capacidad que tienen las producciones de alojar animales. En este caso, la mayor parte de los productores manejan entre 41 y 200 cuyes (64,9 %), como se muestra en la Figura 6-C. Cabe resaltar que el número de animales, depende de la época del año, por ejemplo, en temporada seca, su número reduce, dado que los productores dependen de los pastos/forrajes frescos que siembran o buscan en su sector.

Respecto a los alojamientos de cada grupo de cuyes (Figura 6-B), en relación con su etapa productiva (destete, levante, engorde, reproducción), se utilizan en su mayoría jaulas (97,4 %), elaboradas a partir de madera-malla (63 UP) (Figura 6-E). Se usan mayormente este tipo de materiales, dado que son fáciles de conseguir, económicos y duraderos (normalmente se cambian o refuerzan cada año). Por lo general, se utiliza la madera, para proteger a los animales de las condiciones climáticas de la región. De igual manera, con las instalaciones generales, se emplean diferentes tipos de materiales para la pared, piso y techo (Figura 6-D) que dependerán de su disponibilidad en la zona.

- **Datos relacionados con el origen del forraje y la frecuencia con la que se suministra a los cuyes**

Figura 7 Datos del origen del forraje y su frecuencia en el suministro



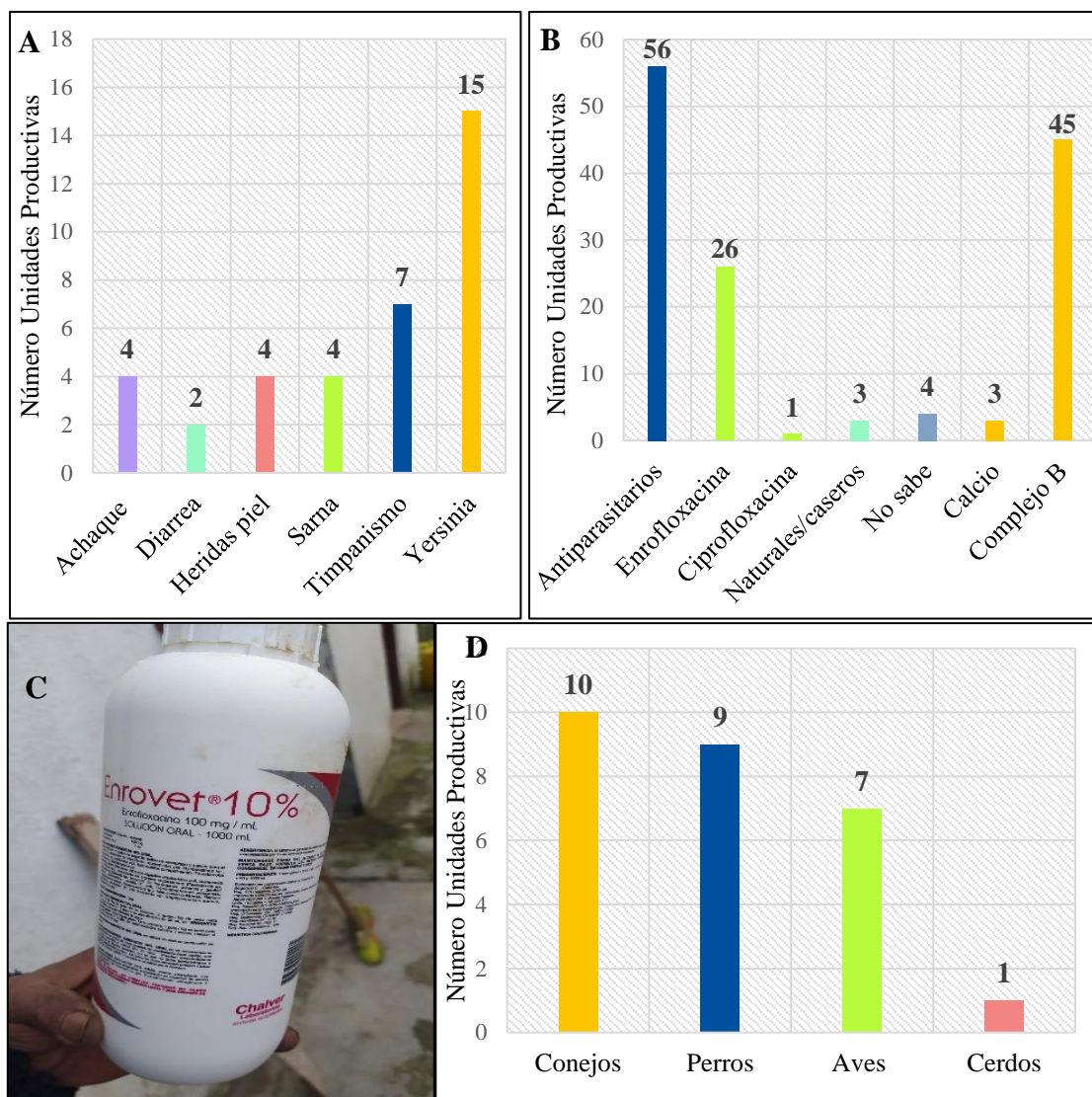
En la Figura 7-A se puede identificar que la alimentación de los cuyes se basa principalmente en pastos/forrajes, con diferentes especies de gramíneas como ray-grass (*Lolium perenne*), kikuyo (*Pennisetum clandestinum*), saboya (*Panicum maximum*), brasilero (*Phalaris* sp), caña forrajera (*Saccharum officinarum*) y leguminosas como trébol blanco (*Trifolium repens*) y alfalfa (*Medicago sativa*). Sin embargo, varios productores adicionan a la dieta de estos animales residuos orgánicos, como hojas de repollo, lechuga, cáscaras de frutas y de papa con previa cocción. También se brindan otros tipos de productos como mogolla o salvado de trigo, que se utiliza en la alimentación de bovinos, con el fin de lograr mayor ganancia de peso en poco tiempo.

Es importante resaltar que el mayor número de productores (65,5 %) siembra diferentes tipos de pasto/forraje en su predio para garantizar un alimento constante a los cuyes. El 29,8 % de los productores lo recolecta de lugares cercanos, dado que no cuentan con el espacio suficiente para su cultivo (Figura 7-B). El suministro del alimento durante el día también ha cambiado. Su administración se realiza tres veces al día (75,3 % UP), lo que ha permitido un rápido desarrollo de los animales (Figura 7-C).

- **Datos relacionados con el manejo sanitario general de las producciones**

En el aspecto sanitario, las producciones de cuyes del municipio de Pasto han presentado distintas problemáticas (Figura 8-A), especialmente la incidencia de enfermedades que afectan a la mayoría de los animales del sistema. Se ha observado la presencia de infecciones bacterianas como la yersiniosis (15 UP) y otras alteraciones digestivas como el timpanismo (7 UP), que se manifiesta en la época de lluvias debido a la imposibilidad de secar u orear el pasto/forraje. También se han registrado otros problemas en la piel característicos en este tipo de animales, como la sarna (4 UP).

Adicionalmente, con la encuesta se pudo determinar que el uso de distintos tipos de medicamentos es constante, sin una formulación veterinaria específica (Figura 8-C-D). Los medicamentos mayormente usados corresponden a antiparasitarios (56 UP) y antibióticos (27 UP) (Figura 8-C). Como antiparasitarios se usan distintas marcas, tanto para parásitos externos como internos, los cuales tienen como componente principal ivermectina, fenbendazol o albendazol; estos se administran tanto oralmente como en solución tópica.

Figura 8 Datos del manejo sanitario en las producciones de cuyes visitadas

Respecto a los antibióticos, los productos veterinarios utilizados, tienen como componente la Enrofloxacina y en algunos productos la ciprofloxacina. Se presentan en soluciones inyectables y en gotas.

Sin embargo, este tipo de medicamentos administrados a los cuyes, están indicados para su uso en bovinos, equinos, caprinos, porcinos, ovinos, caninos y felinos, para el tratamiento y control del parasitismo interno y externo. Además, su dosis está determinada por su peso en kilogramos.

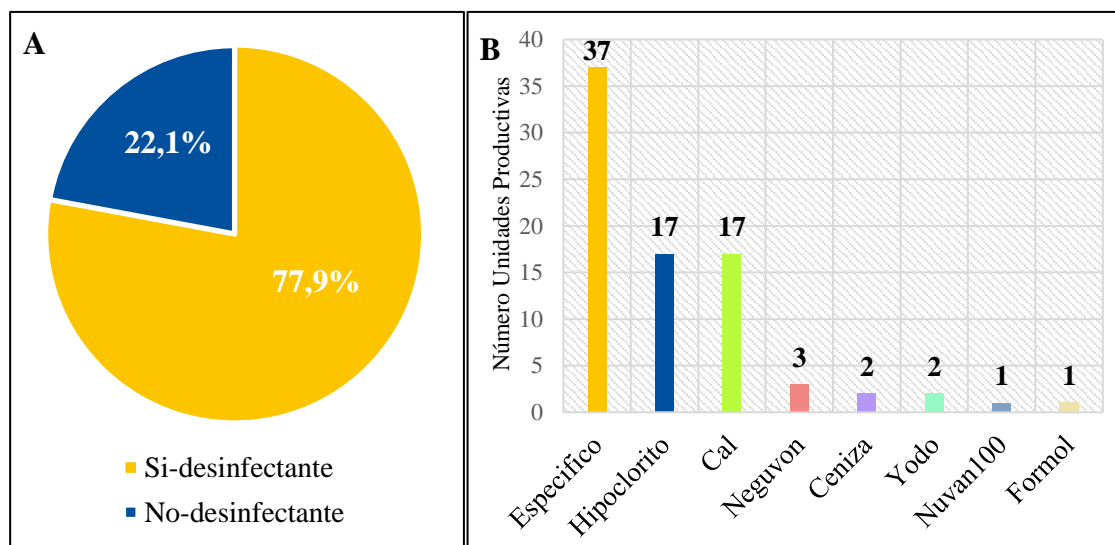
Otras medidas de control que los productores utilizan son la administración de vitaminas como el complejo B (45 UP), y de minerales como el calcio (3 UP). El cual se administra vía oral o inyectable, al inicio de su etapa de levante (Figura 8-B).

Por otra parte, otro factor que puede influir en la incidencia de problemas sanitarios, es la presencia de especies diferentes en la caseta o galpón (Figura 8-D). En varias de las producciones, los alojamientos de los cuyes son compartidos con conejos (10 UP) y aves (7 UP). Además, en algunos casos los perros (9 UP), también pueden estar en contacto directo con los cuyes, en el momento de la alimentación o la limpieza de las instalaciones.

▪ Datos relacionados con la limpieza y desinfección de las instalaciones

Otro aspecto importante de las instalaciones y alojamientos de los animales, es la limpieza y desinfección de estas áreas. Todas las producciones visitadas realizan limpieza general (barrer y eliminar material orgánico y heces) una o dos veces en la semana y muy pocas producciones lo hacen diariamente (Figura 9).

Figura 9 Datos de la limpieza y desinfección en las producciones de cuyes visitadas



En la Figura 9-A, se observa que la desinfección de las instalaciones lo realizan un 77,9 % de los productores. Utilizando diferentes productos como específico (37 UP), hipoclorito (17 UP) y cal

(17 UP). Por lo general, el proceso de desinfección se realiza una vez al mes o dos veces al año, dependiendo de la presentación de problemas infecciosos o parasitarios. No obstante, únicamente usan un solo producto y no aplican protocolos de rotación de los mismos. El específico o creolina, el producto mayormente usado, es una emulsión que contiene fenol y está indicado para la desinfección de instalaciones pecuarias (Figura 9-B).

Finalmente, un elemento importante a considerar para su inclusión en las producciones es el uso de pediluvios en la entrada a las instalaciones, únicamente el 2,6 % de los productores cuentan con este elemento. Los pediluvios, generalmente contienen una solución desinfectante como cal, lo que permite retener la entrada de contaminantes a la producción.

6.2 Análisis bioinformático de las secuencias de ARNr 16S – V4

6.2.1 Datos obtenidos de las secuencias de los ciegos del *C. porcellus*

▪ Perfil de secuenciación

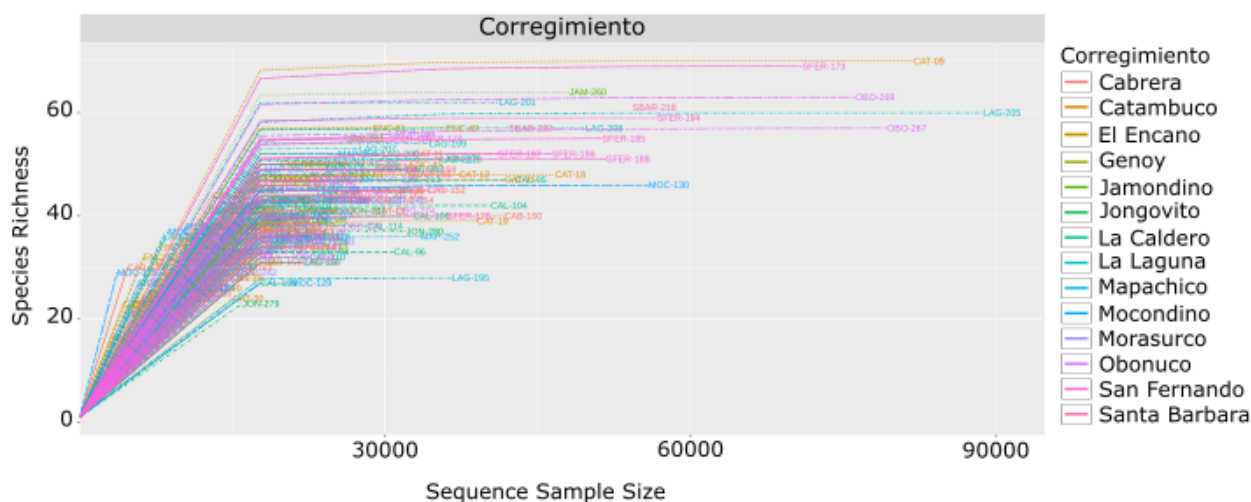
En este estudio se prepararon 288 librerías utilizando el gen ARNr 16S-V4. El número total de lecturas (Forward y Reverse) generadas en el proceso de secuenciación fue de 19.211.230, con valores máximos y mínimos de 276.068 y 10.902. Luego de realizar el control de calidad sobre las lecturas pareadas y eliminar primers y adaptadores se obtuvieron 18.605.982 lecturas. Finalmente, utilizando la herramienta Dada2 se eliminaron las lecturas quiméricas y se realizó la asignación de variantes de secuencia de amplicones (ASV). En total se obtuvieron 6,021,399 lecturas con valores máximos y mínimos de 88,805 y 3,105 las cuales se asignaron a 10,953 ASVs. Únicamente, una de las librerías (SBAR-232) obtuvo recuento muy bajo para ser incluida en el análisis bioinformático, por lo cual se eliminó del estudio.

▪ Curvas de rarefacción: Diversidad alfa

El flujo de trabajo bioinformático comenzó con la evaluación de las curvas de rarefacción con el fin de estimar si se alcanzó la cobertura completa de la diversidad bacteriana. En todas las librerías

se observó un patrón consistente en alcanzar una asíntota sostenida, lo que indica que se logró la saturación de especies en cada caso. Adicionalmente se observaron que algunas muestras con mayores valores de riqueza (CAT-09, SFER-173 y JAM-260), y menores valores (ENC-76, ENC-71, MOC-125) también alcanzaron la saturación bajo la profundidad de secuenciación obtenida (Figura 10).

Figura 10 Curvas de rarefacción categorizadas por corregimiento



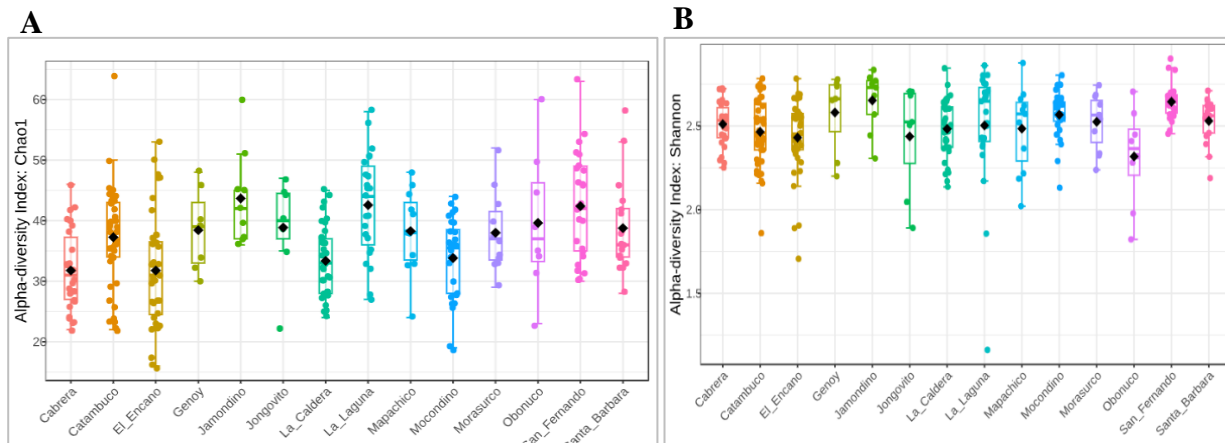
▪ Índices de diversidad alfa

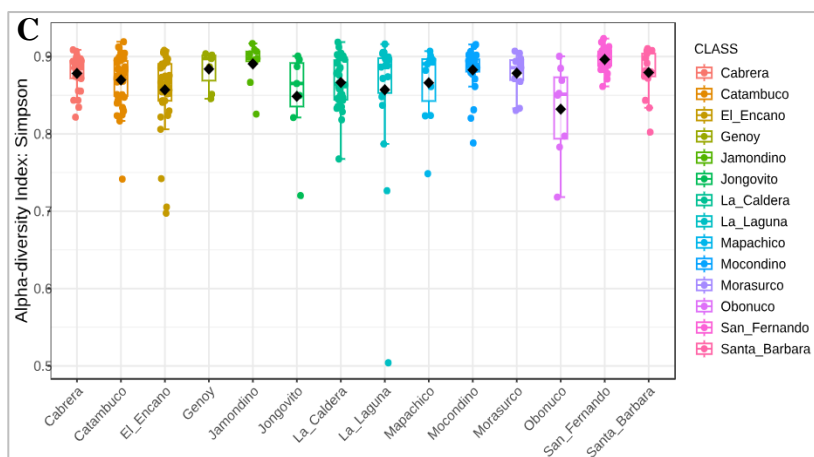
La evaluación de la diversidad bacteriana en las muestras de ciego del *Cavia porcellus* se realizó mediante los índices Chao1, Shannon y Simpson (Figura 11), considerando dos niveles taxonómicos: filo y género. El 51.8% de las variables analizadas, no presentaron diferencias significativas ni a nivel de filo ni a nivel de género (Anexo E). En contraste, el 48.2% de las variables, presentaron diferencias significativas para algunos de los niveles taxonómicos. Para el nivel de filo, cuatro variables mostraron diferencias, entre estas Desinfección, MC-Nat, Otras-especies y Vit/Min, mientras que a nivel de género las variables que mostraron diferencias fueron, Corregimiento, MC-Ive, Otras-conejos y Ap-caña (Tabla 3). Se observó que la variable con mayor efecto sobre la riqueza, diversidad y dominancia fue la variable corregimientos a nivel de género y MC- iver nivel de filo.

Tabla 3 Índices de diversidad alfa con significancia estadística a nivel de filo y género

Índice	Filo p-valor > 0.05			Género p-valor > 0.05		
	Chao1	Shannon	Simpson	Chao1	Shannon	Simpson
Corregimiento	9.6728e-05	0.1510	0.1390	6.120e-07	0.0019	0.0037
Pediluvio	0.7885	0.0213	0.0106	0.5506	0.1349	0.1184
Desinfección	0.0096	0.0096	0.0735	0.6419	0.6650	0.5096
Enfermedades	0.2834	0.2061	0.3837	0.0656	0.0410	0.0076
MC-iver	0.0317	0.2779	0.4439	0.0705	0.0756	0.0259
MC-Nat	0.0289	0.0001	0.0013	0.0002	0.0100	0.2514
Otras-especies	0.0014	3.6958e-06	0.0003	2.453e-06	0.0069	0.3513
Otras-conejos	0.2109	0.0222	0.1618	0.0003	0.0224	0.0437
Ap-ryegrass	0.0610	0.1111	0.2857	0.0039	0.0301	0.1577
Ap-alfalfa	0.1518	0.0399	0.057	0.0104	0.0487	0.1080
Ap-caña	0.2639	0.0817	0.1594	0.0118	0.0451	0.0201
Vit/Min	0.0024	0.0042	0.0304	0.0006	0.1550	0.4791

Figura 11 Índices de diversidad alfa





Nota. Índices de diversidad alfa a nivel de género para los corregimientos evaluados. (A): Chao1; (B): Shannon; (C): Simpson

▪ **Análisis de la distribución taxonómica del ciego**

Globalmente se observó que la frecuencia relativa de los filos Firmicutes y Bacteroidetes fue la más alta en todas las muestras de ciego. Adicionalmente, los filos Fibrobacteres y Proteobacteria estuvieron en una notablemente abundantes en la mayoría de las muestras (Anexo C).

Por otra parte, con el fin de determinar aquellos taxones bacterianos diferencialmente enriquecidos entre las variables, se analizó el tamaño del efecto del análisis discriminante lineal (LEfSe), considerando un umbral superior a 1, a nivel de filo y género. En este análisis se encontraron 6 variables asociadas a uno o dos niveles taxonómicos (Tabla 4). Entre estas variables, cuatro presentaron taxones identificados tanto a nivel de filo como de género.

Tabla 4 Significancia biológica de taxones en cada variable

Variable	Filo		Género	
	Taxones	LDA score	Taxones	LDA score
Alojamiento	Elusimicrobia	1.29 (poza)	<i>Epulopiscium</i>	2.0 (jaula)
			<i>Parabacteroides</i>	1.68 (poza)
Pediluvio	-	-	<i>Bulleidia</i>	1.06 (No)
			<i>Oscillospira</i>	1.4 (No)
Desinfección	Bacteroidetes	1.89 (No)	-	-
MC-Nat	Bacteroidetes	1.91 (No)	<i>Parabacteroide</i>	1.1 (No)
	Fibrobacteres	1.65 (No)		

Otras-especies	Bacteroidetes	2.0 (No)	<i>Parabacteroides</i>	1.14 (No)
	Fibrobacteres	1.58 (No)		
Núm-forrajes	-	-	<i>Bifidobacterium</i>	1.74 (5 forrajes)
			<i>Oscillospira</i>	1.34 (4 forrajes)

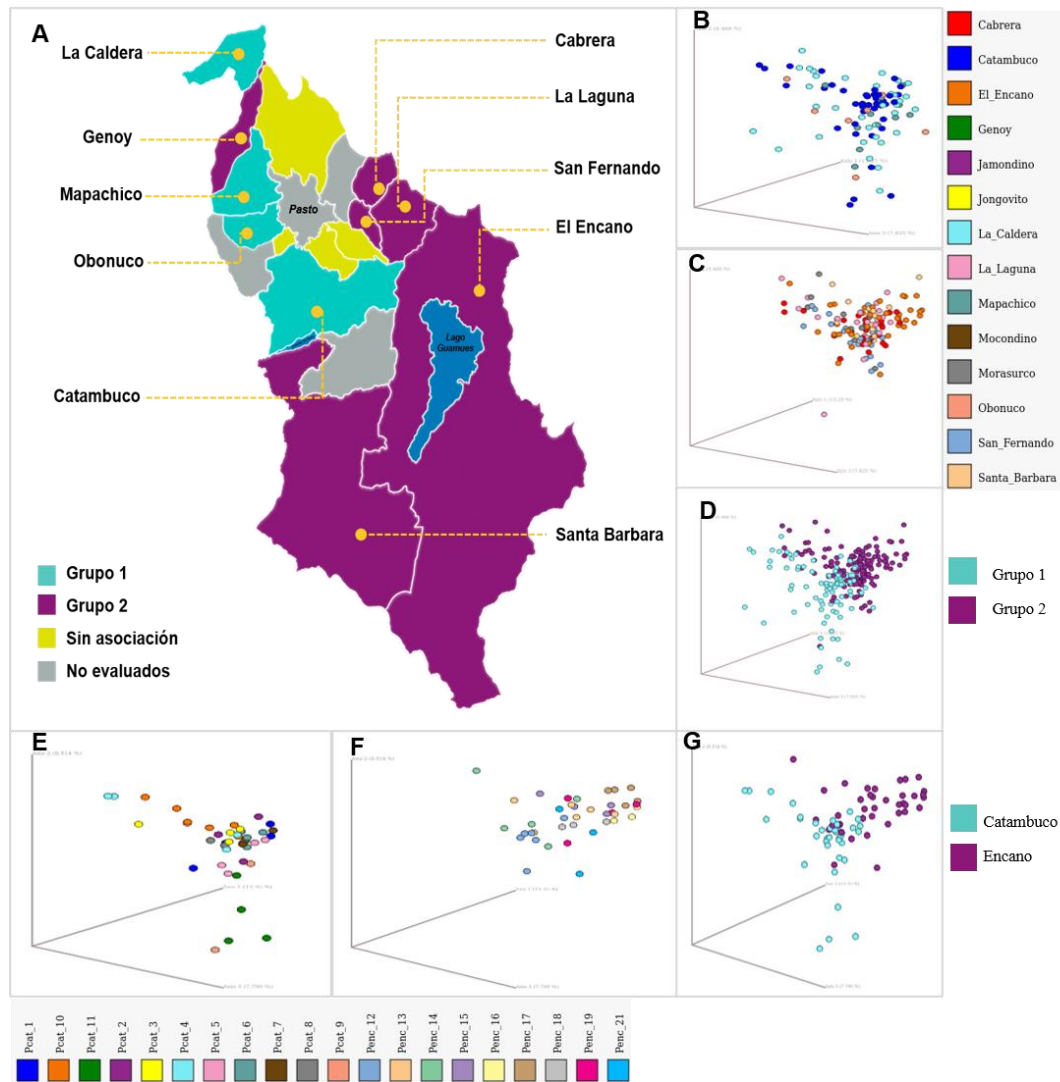
Nota. La información entre paréntesis junto al valor de LDA score, representa la categoría de la variable en la cual se observó la significancia de taxones

▪ Índices de diversidad beta

Para estimar la variación en la composición de especies entre las muestras de ciego y garantizar la robustez en los resultados, se aplicó un criterio de selección basado en la equidad de la distribución de datos entre las categorías de las variables, minimizando el riesgo de falsos positivos asociados a distribuciones desiguales. En este contexto, las variables corregimientos (Anexo F), localización UP y alimentación fueron analizadas teniendo en cuenta los valores estadísticos y la equitatividad de sus datos.

Inicialmente, la distribución de las muestras de ciego en el espacio de coordenadas (PcoA), permitió observar que la variable “corregimientos” destacó por su tendencia a formar agrupaciones distintivas con base en el origen de las muestras (Figura 12). Paralelamente, dos grupos de corregimientos se identificaron por presentar una aproximación en el espacio de coordenadas; el grupo 1, conformado por 4 corregimientos (La Caldera, Mapachico, Obonuco y Catambuco) y el grupo 2 constituido por 6 corregimientos (Cabrera, La Laguna, San Fernando, El Encano, Genoy y Santa Barbara). Luego de analizar el origen de las muestras en cada grupo, también se observó una aproximación en el espacio geográfico entre los corregimientos (Figura 12-A)

Figura 12 Análisis de componentes principales (PcoA) construido a partir de las distancias obtenidas de UNIFRAC

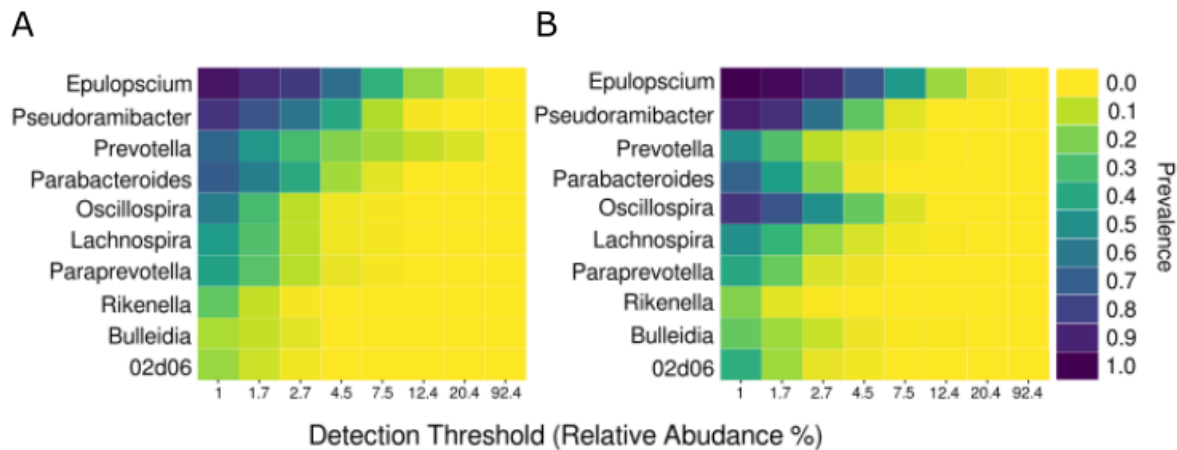


Nota. Análisis de Coordenadas Principales (PcoA – Weighted Unifrac) para la variable Corregimiento y UP (Unidades productivas). Localización geográfica de los diferentes grupos de corregimientos identificados (A). Ordenación de corregimientos: Catambuco, La Caldera, Mapachico y Obonuco (B); Ordenación de corregimientos: Cabrera, El Encano, Genoy, La Laguna, San Fernando y Santa Bárbara (C); Ordenación de los corregimientos B más C (D). Unidades productivas del corregimiento Catambuco (E); Unidades productivas del corregimiento El Encano (F). Ordenación de las unidades productivas, según dos corregimientos E más F (G)

Seguidamente, se analizó el núcleo bacteriano de cada grupo, con el propósito de identificar los géneros comunes y dominantes y tener una visión de los componentes esenciales del bacterioma.

Como se aprecia en la figura 13, el núcleo de los grupos 1 y 2, estuvo compuesto por los mismos géneros, sin embargo, *Prevotella* fue más prevalente en el grupo 1 y *Oscillospira* en el grupo 2.

Figura 13 Núcleo bacteriano a nivel de género de los grupos 1 y 2

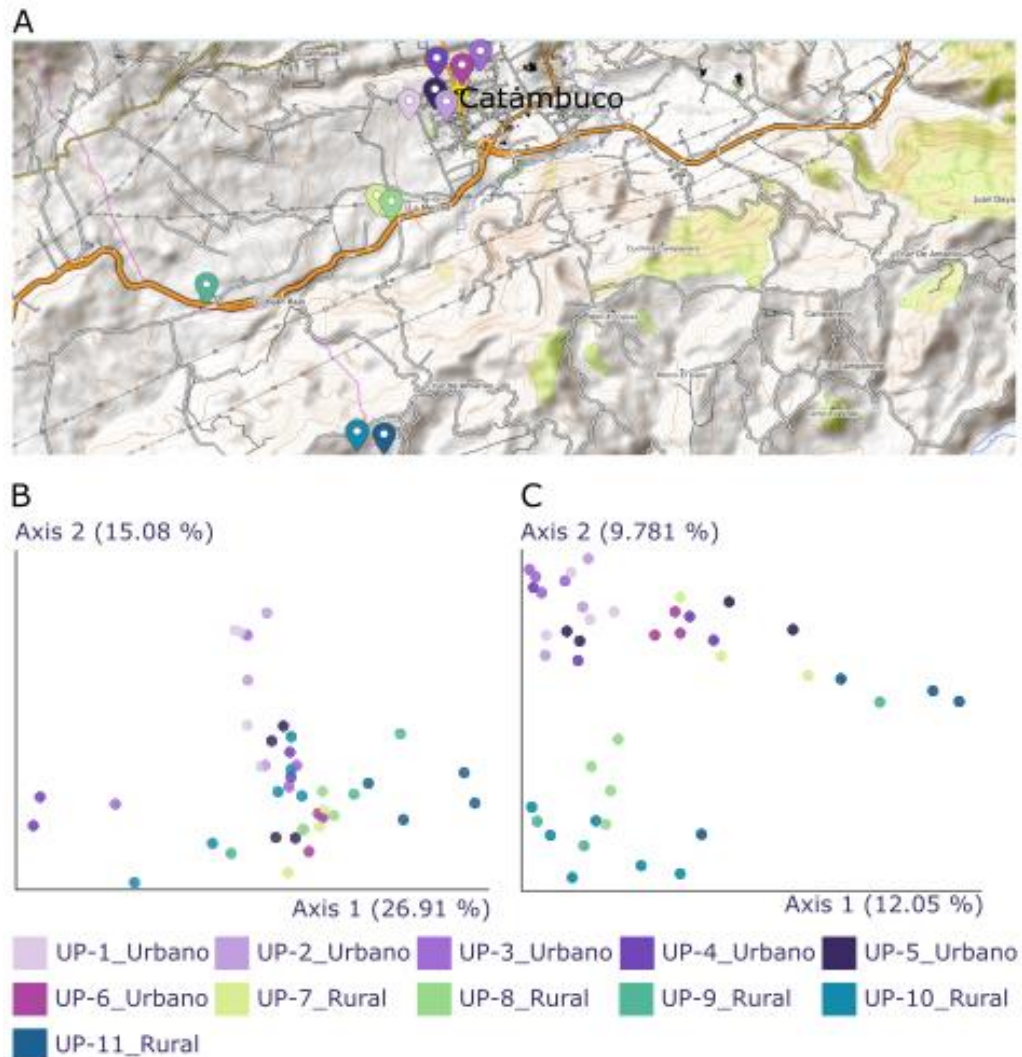


Nota. Núcleo bacteriano del grupo 1 (A); Núcleo bacteriano del grupo 2 (B)

Luego de haber explorado el efecto global en relación a la variable “corregimientos”, el paso siguiente fue analizar el efecto de las unidades productivas como tal. Con este propósito, se seleccionó a Catambuco considerando que fue el corregimiento con el mayor número de unidades productivas muestreadas (Figura 14-A). Adicionalmente, las unidades productivas se localizaron en las zonas urbana y rural del corregimiento.

En seguida, el análisis de coordenadas principales permitió observar una ligera agrupación entre los puntos que representan cada unidad productiva, y una agrupación más robusta entre las dos zonas del corregimiento (Figura 14-B-C), de forma similar a lo observado en la variable corregimientos.

Figura 14 Análisis de componentes principales (PcoA) entre las unidades productivas del corregimiento de Catambuco

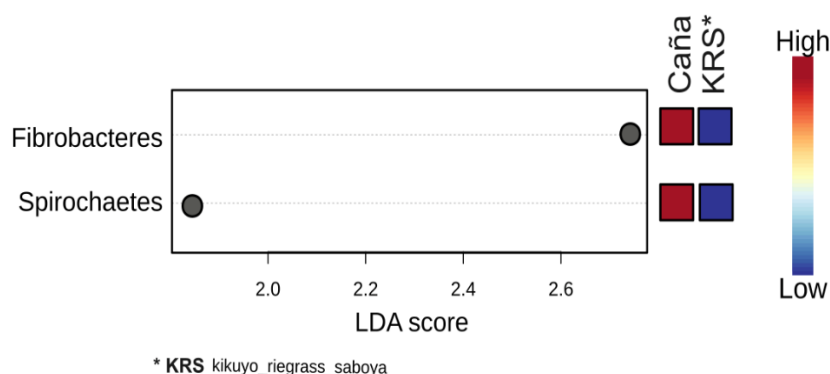


Nota. Mapa topográfico del corregimiento de Catambuco (A); análisis de coordenadas principales entre las muestras de la zona urbana y rural (B, C); PcoA UniFrac ponderado (B); PcoA UniFrac No ponderado (C)

Posteriormente, para determinar en qué grado la alimentación influye en el bacterioma cecal del *C. porcellus*, se analizaron dos tipos de dietas encontradas en los corregimientos, una basada únicamente en una gramínea (*Saccharum officinarum* – caña forrajera) y la otra formada por una mezcla de tres gramíneas comúnmente utilizadas en los corregimientos (*Pennisetum clandestinum*

- Kikuyo, *Lolium spp* - Ryegrass, *Panicum maximun* - Saboya). El análisis discriminante lineal determinó que Fibrobacteres y Spirochaetes, fueron los filos mayormente enriquecidos diferencialmente cuando se utilizó caña forrajera como dieta principal (Figura 15).

Figura 15 Análisis discriminante lineal (LEfSe) entre dietas de gramíneas



Las diferencias significativas entre las muestras de ciego de *C. porcellus*, se evaluaron mediante el análisis de varianza permutacional multivariante de la dispersión (PERMANOVA), utilizando la versión ponderada y no ponderada del índice UNIFRAC, para todas las variables de estudio. Inicialmente, los resultados registraron diferencias significativas (p -valor < 0.05) en tres grupos de variables: unidades productivas, alimentación y prácticas sanitarias (Tabla 5). Sin embargo, como se mencionó inicialmente, en este estudio consideraron particularmente 3 variables (corregimientos, localización UP, alimentación) teniendo en cuenta la equitatividad de sus datos (Tabla 6).

Tabla 5 Análisis de Varianza Permutacional Multivariante de la Dispersión (PERMANOVA) para las variables de estudio

Unweighted Unifrac		Weighted Unifrac	
Diferencias significativas ($p < 0.05$)		Diferencias significativas ($p < 0.05$)	
Variable	p-valor	Variable	p-valor
Variables asociadas a las unidades productivas			
Corregimiento	0.001	Corregimiento	0.001

Instalación	0.023	Instalación	0.006
Pediluvio	0.001	Pediluvio	0.001
Otras-especies	0.001	Otras-especies	0.001
Otras-conejos	0.001	Otras-conejos	0.001
Otras-perros	0.001	Otras-perros	0.001
Otras-aves	0.026	-	-
VARIABLES ASOCIADAS A LA ALIMENTACIÓN			
Ap-kikuyo	0.001	Ap-kikuyo	0.001
Ap-saboya	0.003	Ap-saboya	0.001
Ap-brasilero	0.017	Ap-brasilero	0.019
Ap-trebol	0.001	Ap-trebol	0.026
Ap-maralfalfa	0.001	Ap-maralfalfa	0.014
Ap-caña	0.001	Ap-caña	0.001
Ap-alfalfa	0.005	-	-
Frecuencia-Ap	0.001	Frecuencia-Ap	0.001
Núm-forrajes	0.001	Núm-forrajes	0.003
Vit/Min	0.001	-	-
VARIABLES ASOCIADAS A PRÁCTICAS SANITARIAS			
Desinfección	0.003	Desinfección	0.002
Enfermedades	0.001	Enfermedades	0.023
MC-Iver	0.001	MC-Iver	0.001
MC-enro	0.004	-	-
MC-cripro	0.006	-	-
MC-antipara	0.004	-	-
-	-	MC-fixa	0.001
-	-	MC-des	0.003
MC-nat	0.001	MC-nat	0.001
VARIABLES ASOCIADAS A SEGMENTOS Y HALLAZGOS			
Parásitos	0.010	-	-

Tabla 6 Análisis de Varianza Permutacional Multivariante de la Dispersión (PERMANOVA) para las variables corregimientos, localización UP, alimentación

Unweighted Unifrac		Weighted Unifrac	
Diferencias significativas ($p < 0.05$)		Diferencias significativas ($p < 0.05$)	
Variable	p-valor	Variable	p-valor
VARIABLES ASOCIADAS A LAS UNIDADES PRODUCTIVAS			
Corregimiento	0.001	Corregimiento	0.001
Localización UP	0.001	Localización UP	0.001
VARIABLES ASOCIADAS A LA ALIMENTACIÓN			
Alimentación (caña vs 3 gramíneas)	0.005	Alimentación (caña vs 3 gramíneas)	0.001

- **Detección de posibles bacterias catalogadas como agentes patógenos en las muestras del tracto gastro intestinal del *C. porcellus***

Para este análisis, se realizó una búsqueda de aquellos géneros reportados como patógenos en el *C. porcellus* como punto de partida. Posteriormente, se contrastaron estos reportes, contra la matriz de abundancia taxonómica generada en el análisis de asignación taxonómica de este estudio. Es importante señalar que la elección del ranking taxonómico a nivel de género se hizo, teniendo en cuenta que las bases de datos de marcador molecular ARNr 16S, no contiene suficientes lugares informativos para la identificación de lecturas a nivel de especie. Posteriormente, al realizar la comparación, se identificaron los siguientes géneros *Clostridium*, *Campylobacter*, *Streptococcus* y *Corynebacterium*.

La presencia de *Clostridium* fue la más generalizada entre los corregimientos. Su presencia se detectó en 12 de los 14 corregimientos exceptuando a Morasurco y San Fernando. La abundancia relativa de *Clostridium* varió entre un máximo del 4.6% y un mínimo del 0.42% entre las muestras. Similarmente, *Campylobacter* estuvo presente en 10 de los 14 corregimientos exceptuando a los corregimientos de Genoy, Jongovito, Morasurco y Obonuco. La abundancia relativa entre las muestras varió entre 1,21% y 0.11%.

En contraste, el género *Streptococcus*, fue detectado únicamente en tres corregimientos (La Laguna, Morasurco y San Fernando), en tres muestras individuales según su origen (LAG-195, MOR-237, SFER-178), con una mayor abundancia relativa de 0.139%, 0.012% y 0.102%, respectivamente. Por su parte *Corynebacterium*, se detectó en una muestra perteneciente al corregimiento de Jongovito (JON-276), con una frecuencia relativa muy baja del 0.054%.

Adicionalmente, se detectó el género bacteriano *Ureaplasma*, el cual no ha sido reportado anteriormente como patógeno en la especie *Cavia porcellus*. Este género fue encontrado en los segmentos del intestino delgado de cuatro animales en este estudio, con valores de abundancia relativa elevados. La mayor abundancia relativa de *Ureaplasma* se observó en el cuy 182, procedente de San Fernando, con valores de 96% en el duodeno, 98% en el yeyuno, 21% en el íleon y 0.2% en las heces. Paralelamente, este género se detectó en el cuy 20 de Catambuco, con

una abundancia de 85% en el duodeno y 2% en el yeyuno. En menor abundancia, el cuy 208 procedente de La Laguna registró un 43% en el duodeno, seguido por el cuy 80 procedente de El Encano, con un porcentaje de 0.5% de abundancia relativa en el duodeno.

6.2.2 Secuencias de la comunidad bacteriana para los tejidos de segmentos de intestino delgado y grueso y heces del *C. porcellus*

- **Control de calidad de secuencias y generación de variantes de secuencia de amplicones ASVs de los segmentos de TGI**

Inicialmente se realizó la importación de archivos con las secuencias correspondientes a las secuencias Forward y Reverse en el entorno de análisis y visualización de datos de microbiomas QIIME 2.

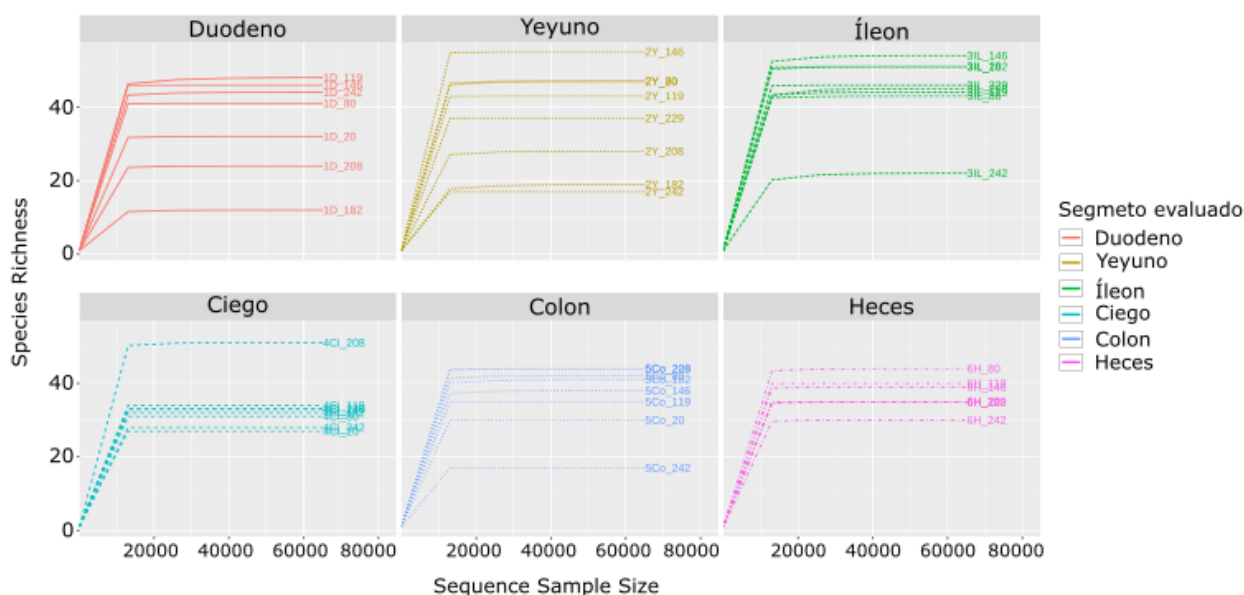
La secuenciación de 46 librerías del gen ARNr 16S-V4, obtenidas de los segmentos del intestino delgado (duodeno, yeyuno, íleon), intestino grueso (colon, ciego) y heces, generó un volumen total de datos de 3.575.421 lecturas de secuenciación pareadas (Forward y Reverse). Posteriormente, se aplicaron procesos de extracción de cebadores mediante el algoritmo Cutadapt (Marcell, 2011) y de secuencias adaptadoras y de baja calidad utilizando el algoritmo DADA2 (Callahan et al., 2016). Estos procedimientos permitieron obtener 2.289.371 secuencias crudas con longitudes variadas entre 294 y 394 pb. Simultáneamente, DADA2 generó un total de 5.285 variantes de secuencia de amplicones (ASVs), revelando que, en promedio, cada muestra contiene alrededor de 32.425 secuencias de ASVs, y que cada ASV tiene una frecuencia promedio de 282.

- **La profundidad de secuenciación fue suficiente para describir la riqueza de los tejidos y heces**

Se evidenció una notable variabilidad en la riqueza de ASV entre las librerías del tracto gastrointestinal. En todas las librerías analizadas, se observaron curvas de rarefacción con una

meseta sostenida (Figura 16). Asimismo, se identificaron muestras con conteos elevados de riqueza (1D_119, 2Y_146, 3IL_146, 4Ci_208) y valores más bajos de riqueza observada (1D_182, 3IL_242, 5Co_242) dentro del mismo segmento evaluado.

Figura 16 Curva de saturación de riqueza discriminada por segmento evaluado (Duodeno, Yeyuno, Íleon, Ciego, Colon y Heces)



- **La diversidad alfa entre los segmentos del TGI es afectada por un grupo pequeño de variables**

La evaluación de la diversidad de la comunidad bacteriana asociada a las muestras del TGI y las heces, se evaluó para dos niveles taxonómicos (filo y género) en términos de riqueza, dominancia y presencia de especies raras, utilizando los índices de Chao1, Shannon, Simpson y Fisher's Alpha (Figura 17). Tras el análisis de diversidad alfa, un conjunto de variables presentó diferencias estadísticamente significativas para algunos índices y niveles taxonómicos (Tabla 7). Estas variaciones se compararon entre los pares de las variables, y se encontró que la diversidad y uniformidad, así como la dominancia del ID (duodeno, yeyuno e íleon) son semejantes entre sí, y a su vez, difieren significativamente del intestino grueso (ciego y colon) siendo las variaciones

menos notables con respecto a las heces (Tabla 8). Las demás variables evaluadas, no presentaron diferencias en los índices (Anexo G).

Tabla 7 Índices de alfa diversidad a nivel de filo y género para todas las variables evaluadas

Filo (p < 0.05)				Género (p < 0.05)			
Chao1	Shannon	Simpson	Fisher	Chao1	Shannon	Simpson	Fisher
Segmento							
0.466	0.762	0.831	0.466	0.151	0.004	0.001	0.151
Género							
0.0005	0.0004	0.001	0.0005	0.006	0.073	0.161	0.006
Enteritis							
0.089	0.073	0.132	0.089	0.036	0.340	0.316	0.036
MC-antiparasitario							
0.038	0.046	0.146	0.038	0.100	0.041	0.061	0.100
Num-forrajes							
0.076	0.014	0.003	0.076	0.199	0.832	0.877	0.199

En el análisis de la variable enteritis (normal, leve y moderada), se identificaron diferencias estadísticamente significativas en la riqueza (Chao1) y la presencia de especies poco comunes en la comunidad (Fisher's Alpha) a nivel de género (Tabla 8). Al realizar comparaciones por pares, los resultados indicaron que estas diferencias son más significativas entre los segmentos del ID con algún grado de inflamación (leve vs moderada, p-valor: 0.0105) en comparación con los segmentos normales.

Al analizar la comparación entre machos y hembras a nivel de filo, se observaron diferencias estadísticamente significativas en la diversidad microbiana para todos los índices evaluados (Tabla 8). En contraste, al realizar el análisis a nivel de género, las diferencias significativas estuvieron relacionadas con la riqueza (Chao1) y la presencia de especies poco comunes (Fisher).

Por su parte, la variable 'MC-antipara' (medidas de control asociadas a antiparasitarios) fue la única dentro de su grupo que reportó diferencias estadísticamente significativas en la mayoría de índices a nivel de filo (Chao1, Shannon, Fisher) y una a nivel de género (Shannon) (Tabla 8).

Finalmente, la variable 'Num-forrajes' (número de forrajes) exhibió diferencias significativas en la diversidad, medida a través del índice de Shannon, y en la dominancia relativa de especies en la comunidad, evaluada mediante el índice de Simpson. Estas diferencias se observaron en las comparaciones entre pares asociados con una mayor variedad de forrajes suministrados en la dieta (Tabla 8).

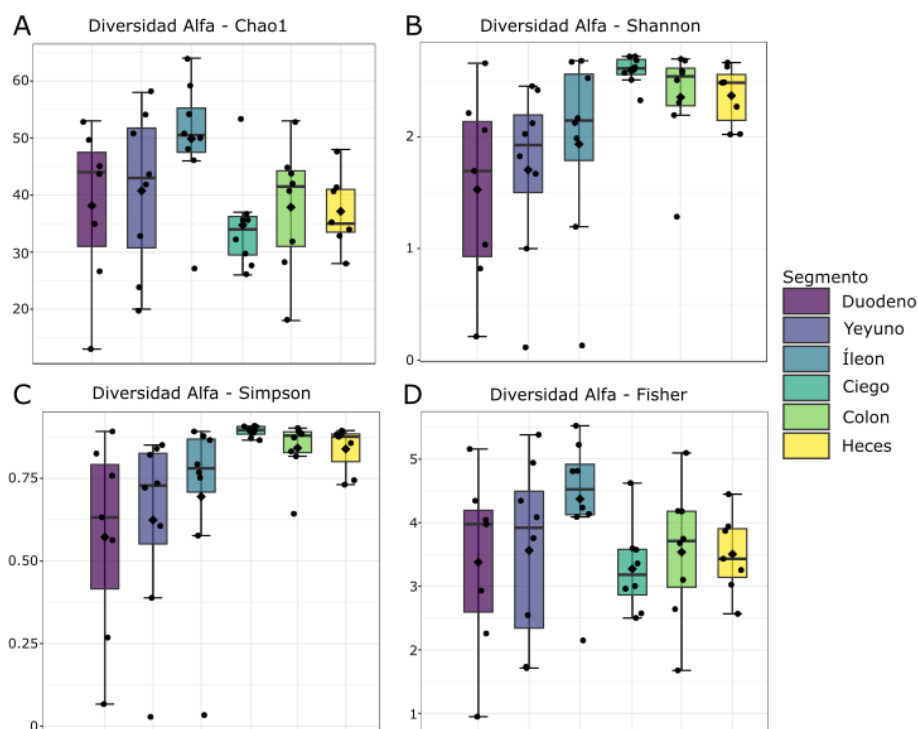
Tabla 8 Índices de alfa diversidad a nivel de filo y género. Categorías de variables con diferencias significativas

Índice	Comparación entre categorías	(p < 0,05)	(q < 0,05)
Segmento evaluado (Género)			
Shannon	Duodeno vs Ciego	0.0059	0.0442
	Duodeno vs Colon	0.0289	0.0722
	Yeyuno vs Ciego	0.0062	0.0932
	Yeyuno vs Colon	0.0206	0.0722
	Yeyuno vs Heces	0.0289	0.0722
	Íleon vs Ciego	0.0281	0.0722
Simpson	Duodeno vs Ciego	0.0021	0.0147
	Duodeno vs Colon	0.0400	0.0859
	Yeyuno vs Ciego	0.0015	0.0233
	Yeyuno vs Colon	0.0206	0.0620
	Yeyuno vs Heces	0.0139	0.0524
	Íleon vs Ciego	0.0029	0.0147
	Ciego vs Heces	0.0289	0.0722
Género (Filo)			
Chao1		0.0005	0.0005
Shannon	Machos vs Hembra	0.0004	0.0004
Simpson		0.0010	0,0104
Fisher		0.0005	0.0005
Género (Género)			
Chao1	Machos vs Hembra	0.0035	0.0035
Fisher		0.0035	0.0035
Enteritis (Género)			
Chao1	Leve vs Moderada	0.0126	0.03807
Fisher		0.0126	0.03807
MC-antiparasitarios (Filo)			
Chao1	Si vs No	0.038	0.038
Shannon		0.046	0.046
Fisher		0.038	0.038
MC-antiparasitarios (Género)			
Shannon	Si vs No	0.041	0.041

Núm-forrajes (Filo)			
Shannon		0.0033	0.010119
	Cuatro vs Dos	0.0118	0.017797
Simpson		0.0002	0.008469
	Dos vs Tres	0.0026	0.003965

Nota. Datos generados mediante la plataforma Microbiome Analyst (2.0), únicamente se presentan los pares con diferencias estadísticamente significativas

Figura 17 Índices de alfa diversidad (filo y género) y división de los segmentos intestinales



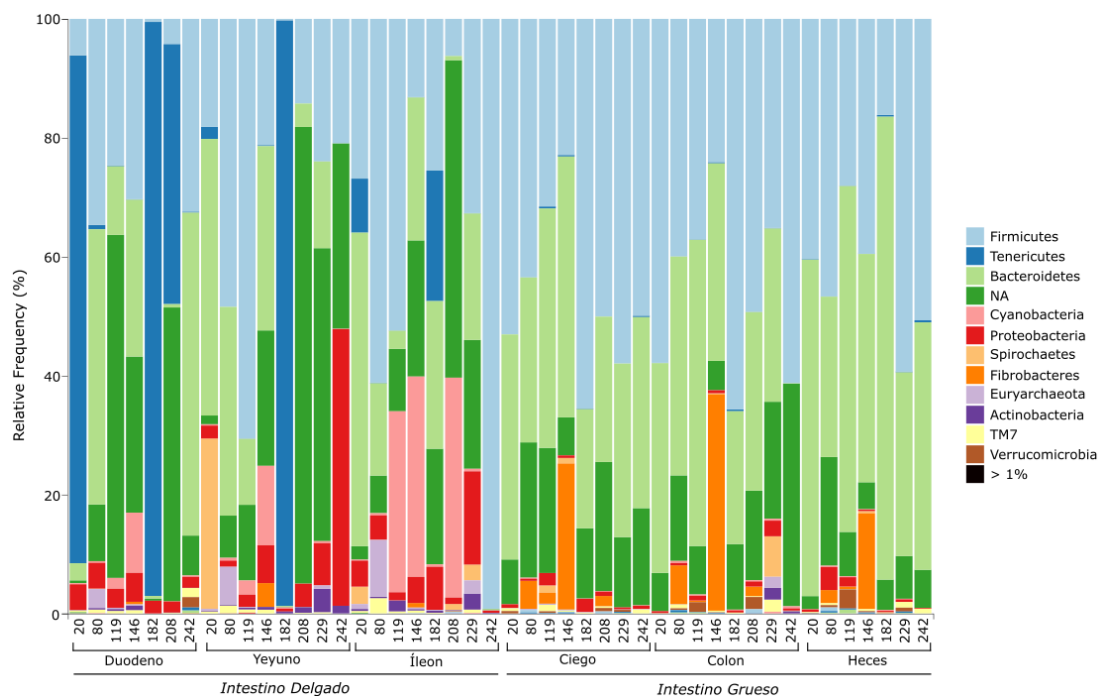
Nota. Índices de alfa diversidad a nivel de género para la variable segmento. Índice de Chao1 (A). Índice de Shannon (B). Índice de Simpson (C). Índice de Fisher (D)

▪ Análisis de distribución taxonómica del intestino delgado y grueso

El análisis de distribución taxonómica, permitió observar una clara diferencia en la frecuencia relativa de los taxones a nivel de filo, entre los segmentos del intestino delgado y grueso (Figura 18). En todos los segmentos evaluados, Bacteroidetes y Firmicutes fueron los filios con mayor frecuencia relativa, siendo Firmicutes más abundante que Bacteroidetes; particularmente

Firmicutes aumentó progresivamente su frecuencia desde duodeno hasta íleon, y finalmente en los segmentos posteriores se mantuvo en alta abundancia. Por su parte, el filo Proteobacteria disminuyó gradualmente su frecuencia desde duodeno hasta íleon y posteriormente permaneció en baja frecuencia en los segmentos de intestino grueso.

Figura 18 Distribución taxonómica a nivel de filo entre el intestino delgado y grueso



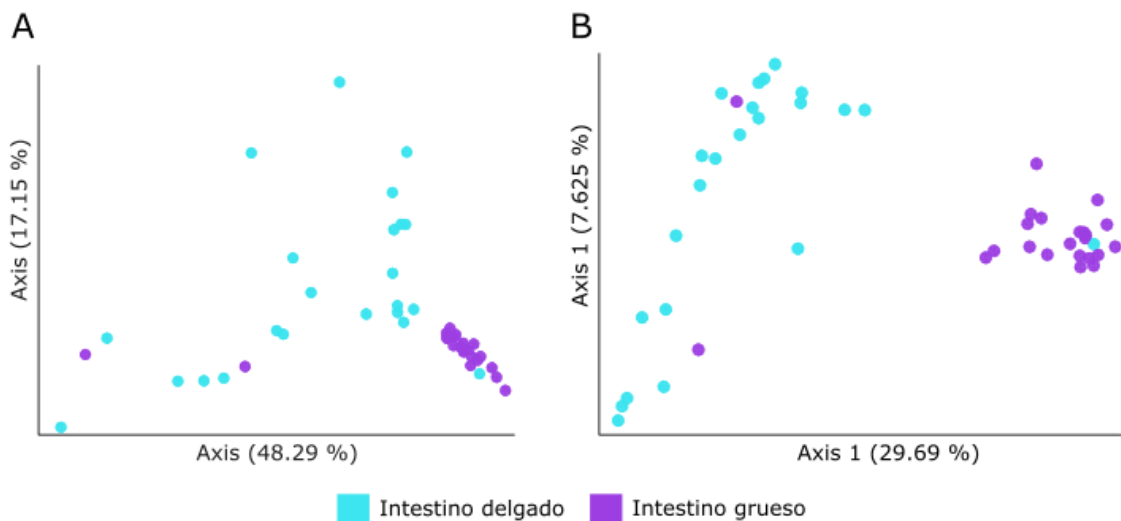
▪ Diversidad beta

El análisis de coordenadas principales (PcoA) efectuado sobre las variables de estudio, permitió observar un agrupamiento entre las muestras que corresponden a los segmentos del ID, al igual que el IG bajo las dos versiones del índice Unifrac. En este sentido, fue notorio que las muestras del intestino grueso (ciego y colon) y las heces comparten características entre sí. Resultados similares se encontraron en la comparación entre muestras del intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon) (Figura 19-A-B).

Posteriormente, al realizar el análisis de varianza permutacional multivariante de la dispersión (PERMANOVA) considerando el índice Unifrac ponderado y no ponderado, se determinó que los patrones observados en el PcoA, presentaron diferencias estadísticamente significativas. Los resultados también señalaron que únicamente dos variables (segmento y género) presentaron diferencias significativas en la composición bacteriana entre segmentos del ID, IG y heces (Tabla 9) (Anexo H). Paralelamente, se encontró que la composición bacteriana del ciego difiere significativamente de todos los segmentos del intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon) y de las heces (PERMANOVA: ponderado y no ponderado, $p < 0.05$) (Tabla 9). Del mismo modo, la conformación bacteriana de las heces fue significativamente diferente a la de todos los segmentos del ID (PERMANOVA: ponderado y no ponderado, $p < 0.05$) (Tabla 9). Con respecto al colon, sin bien se registraron diferencias significativas, únicamente se observaron al no contemplar la abundancia relativa de las especies (PERMANOVA no ponderado, $p < 0.05$) (Tabla 9).

Por su parte, la segunda variable con diferencias estadísticamente significativas (género) registró diferencias cuando no se contempló la abundancia relativa de las especies en el análisis (PERMANOVA no ponderado, $p < 0.05$).

Figura 19 Análisis de componentes principales (PcoA) entre intestino delgado y grueso



Nota. Análisis de componentes principales construido a partir de las distancias obtenidas de los índices UNIFRAC ponderado (A) y UNIFRAC no ponderado (B)

Tabla 9 Análisis de Varianza Permutacional Multivariante de la Dispersión (PERMANOVA) para las variables segmento evaluado y género

Unweighted Unifrac Distance		Weighted Unifrac Distance	
Segmento evaluado	p-valor	Segmento evaluado	p-valor
Duodeno vs Yeyuno	0.985	Duodeno vs Yeyuno	0.786
Duodeno vs Íleon	0.856	Duodeno vs Íleon	0.712
Duodeno vs Heces	0.007	Duodeno vs Heces	0.004
Íleon vs Yeyuno	0.815	Íleon vs Yeyuno	0.592
Colon vs Duodeno	0.026	Colon vs Duodeno	0.192
Colon vs Yeyuno	0.007	Colon vs Yeyuno	0.178
Colon vs Íleon	0.011	Colon vs Íleon	0.077
Colon vs Heces	0.666	Colon vs Heces	0.163
Ciego vs Duodeno	0.001	Ciego vs Duodeno	0.003
Ciego vs Yeyuno	0.001	Ciego vs Yeyuno	0.002
Ciego vs Íleon	0.001	Ciego vs Íleon	0.001
Ciego vs Colon	0.035	Ciego vs Colon	0.294
Ciego vs Heces	0.001	Ciego vs Heces	0.036
Heces vs Yeyuno	0.001	Heces vs Yeyuno	0.004
Heces vs Íleon	0.001	Heces vs Íleon	0.001
Género	p-valor	Género	p-valor
Macho vs Hembra	0.049	Macho vs Hembra	0.179

▪ Análisis de abundancia diferencial

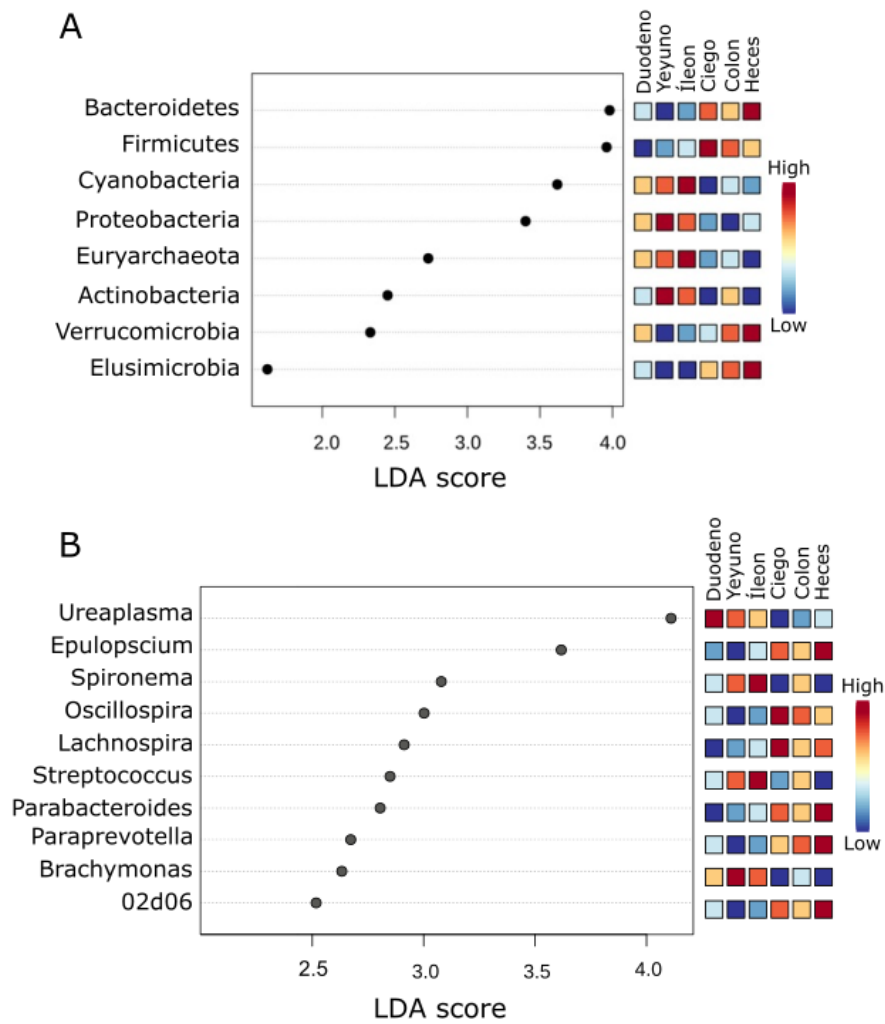
Con el objetivo de identificar taxones bacterianos con la mayor probabilidad de explicar las diferencias entre los segmentos evaluados, se analizó el tamaño del efecto del análisis discriminante lineal (LEfSe).

En total, 8 filos fueron detectados con un puntaje LDA (Linear Discriminant Analysis) superior a 1.5. Firmicutes y Bacteroidetes, estuvieron mayormente enriquecidos en los segmentos del intestino grueso. Por su parte Cyanobacteria, Proteobacteria y Euryarchaeota estuvieron enriquecidos en los segmentos del intestino delgado y permanecieron en baja abundancia en los segmentos posteriores. Individualmente, los filos con la mayor abundancia diferencial fueron Proteobacteria (LDA score, 3.41) y Actinobacteria (LDA score, 2.37) en el yeyuno; Cyanobacteria

(LDA score, 3.62) y Euryarchaeota (LDA score, 2.73) en el íleon; Firmicutes (LDA score, 3.96) en el ciego, y Bacteroidetes (LDA score, 3.98), Verrucomicrobia (LDA score, 2.33) y Elusimicrobia (LDA score, 1.59) en las heces (Figura 20-A).

Para el siguiente nivel taxonómico, 10 géneros se destacaron por presentar un LDA score superior a 2.5. *Ureaplasma* (LDA score, 4.02) y *Lardizabala* (LDA score, 2.11) fueron los géneros con mayor abundancia diferencial en el duodeno; *Spironema* (LDA score, 3.07), *Brachymonas* (LDA score, 2.63) y *Stenotrophomonas* (LDA score, 1.73) en el yeyuno; y *Streptococcus* (LDA score, 2.84), *Arcanobacterium* (LDA score, 1.75) y *Acinetobacter* (LDA score, 1.64) en íleon respectivamente. En cuanto al IG, *Oscillospira* (LDA score, 2.98), *Lachnospira* (LDA score, 2.88) y *Rikenella* (LDA score, 2.22) fueron los géneros más notables en el ciego; seguidos por *Akkermansia* (LDA score, 1.93) en el colon y *Epulopiscium* (LDA score, 3.6), *Parabacteroides* (LDA score, 2.82), *Paraprevotella* (LDA score, 2.85) y 02d06 (LDA score, 2.48) en las heces (Figura 20-B).

De igual forma, LEfSe facilitó la identificación de patrones de distribución diferencial en los filos y géneros. Un patrón distintivo emergió, caracterizado por una baja abundancia de algunos filos o géneros en todos los segmentos del intestino delgado (ID), seguido de una alta densidad en los segmentos del intestino grueso (IG) y las heces. Este patrón fue notable en los filos Bacteroidetes, Firmicutes y Elusimicrobia, así como en los géneros *Epulopiscium*, *Oscillospira*, *Lachnospira*, *Parabacteroides*, *Paraprevotella* y 02d06.

Figura 20 Tamaño del efecto del análisis discriminante lineal (LEfSe) entre segmentos

Nota. Gráfica del análisis discriminante lineal (LDA) muestra la diferenciación en el patrón taxonómico de las muestras a nivel de filo y género. Nivel de filo (A); Nivel de género (B)

- **Predicción de las capacidades funcionales de las comunidades bacterianas presentes en el TGI de *Cavia porcellus*.**

En este perfil funcional (Figura 21) (Figura 22), se encontró que la estructura funcional de la comunidad bacteriana en los segmentos de intestino delgado, intestino grueso y las heces, estaba dominada diversos procesos relacionados con las rutas reportadas en KEGG (Kyoto Encyclopedia de genes and genomes) (Kanehisa & Goto, 2000).

Figura 21 Vías metabólicas predichas por Tax4Fun y anotadas en KEGG en los segmentos del TGI y las heces

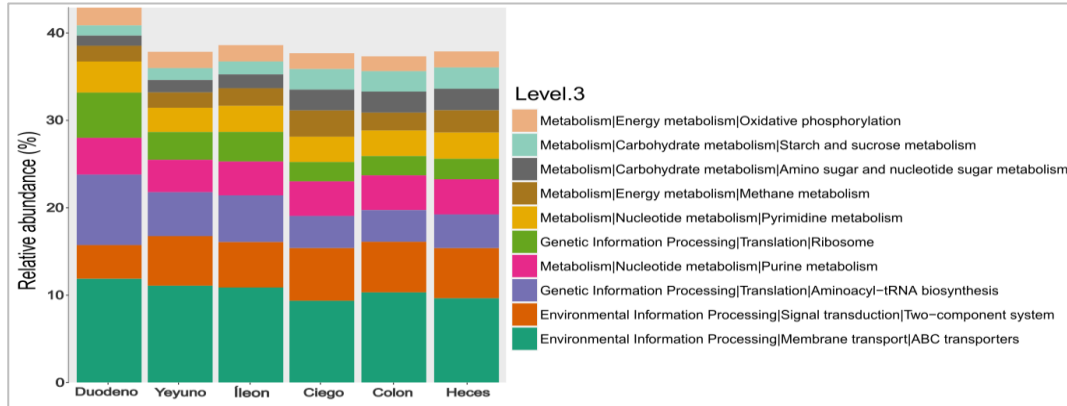
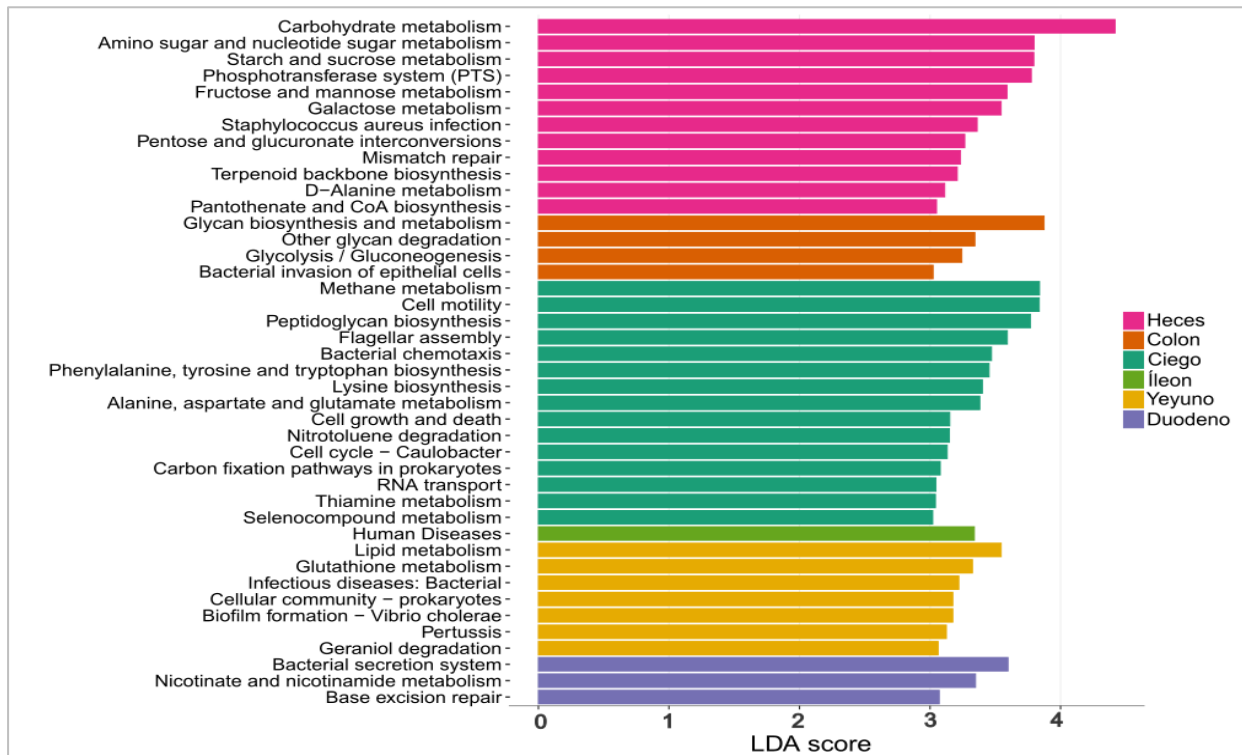


Figura 22 Abundancia diferencial de las vías metabólicas predichas por Tax4Fun, categorizada por segmentos del TGI y heces



7. Discusión

El microbioma intestinal puede ser influenciado en términos generales por interacciones las entre microorganismos, la dieta, el ambiente y el huésped. No obstante, el entendimiento completo de cómo estas interacciones afectan la composición del microbioma aún es limitado (Kers et al., 2019). Este estudio se centró en realizar la primera aproximación robusta, de la complejidad del bacterioma cecal del *Cavia porcellus*, analizando los factores con mayor influencia en la conformación de las comunidades bacterianas. Para identificar estos factores, se recolectó la información asociada a las características nutricionales, productivas y sanitarias en las unidades de productivas y posteriormente, se realizaron evaluaciones estadísticas sobre la diversidad bacteriana presente en las muestras de ciego y las variables asociadas a las unidades productivas.

Consecuentemente, con el objetivo de enriquecer esta base, se analizaron distintos segmentos del tracto gastrointestinal en un grupo selecto de individuos, lo que permitió aumentar el conocimiento sobre la composición bacteriana del *Cavia porcellus* y tener una visión integral de las variables con la capacidad de modular la composición bacteriana en este contexto específico.

7.1 *Dinámica Microbiana del Ciego (Alfa diversidad)*

Un grupo variables con suficiente peso para influir en la estructura bacteriana en el ciego del *C. porcellus* fueron identificadas en estudio. En el grupo de variables relacionadas con la alimentación, se observó que algunas de ellas tienen mayor aporte a los cambios en términos de riqueza y diversidad. Esta variable se considera uno de los factores ambientales con mayor influencia en el ensamblaje de la microbiota intestinal, sin embargo, gran parte del conocimiento sobre la relación dieta-microbiota, se basa en estudios que emplean dietas restringidas para evaluar los efectos de un único componente nutricional (Li et al., 2016). En contraste en este estudio, se evaluaron animales con dietas variables basadas en forrajes propios del sistema familiar-tradicional, lo cual puede explicar, por qué en términos de alfa diversidad existen diferencias significativas en muestras cecales de animales que consumen dietas ricas en múltiples gramíneas frente a dietas con una única gramínea.

Investigaciones previas han identificado cómo la interacción entre dos variables inherentes a un sistema productivo, puede generar cambios significativos en la alfa diversidad. Un ejemplo concreto se observó en aves de engorde expuestas a tres condiciones de alojamiento distintas (H1, H2 y H3), donde la adición de un suplemento en su dieta (ácidos grasos de cadena media) produjo divergencias en la diversidad alfa (Kers et al., 2019). En la primera condición (H1), no se observaron efectos, mientras que en las dos condiciones restantes (H2 y H3), la adición del suplemento resultó en un aumento de la diversidad filogenética a nivel del ciego. Este patrón sugiere que una variable que inicialmente no muestra un efecto aparente sobre la diversidad, puede interactuar con una segunda variable generando efectos en la alfa diversidad. De forma similar, en este estudio algunas variables no mostraron efectos discernibles (Anexo E), mientras que otras resultaron en una mayor diversidad filogenética. Este argumento, puede explicar por qué no todas las variables de un mismo componente se asocian con cambios significativos en la diversidad.

Como se mencionó anteriormente, bajo el modelo de experimentación animal factores como la exposición a patógenos, diferentes dietas, condiciones de alojamiento y genética afectan la microbiota intestinal (Cázares, et al., 2022). Los mismos autores confirmaron que las condiciones de alojamiento influyeron en los cambios en la composición de la microbiota intestinal de ratones. Con relación a esto en el presente estudio se encontró que aquellas variables relacionadas con las prácticas sanitarias, presentaron cambios significativos tanto para ciego como para los segmentos de ID e IG y heces, Sin embargo, el ciego pareció ser más susceptible a estas variables que los segmentos. La riqueza (chao1) en los segmentos del ID se vio alterada bajo la influencia de la variable enteritis, mientras que en el ciego la mayoría de los índices presentaron diferencias.

7.2 Exploración taxonómica del bacterioma del *C. porcellus* a nivel de tejidos.

El análisis de distribución taxonómica reveló diferencias significativas en la frecuencia relativa de los taxones a nivel de filo entre los segmentos del intestino delgado y grueso (Figura 18). Bacteroidetes y Firmicutes fueron consistentemente los filos dominantes en todos los segmentos del intestino delgado y grueso, siendo Firmicutes más abundante que Bacteroidetes. Estudios previos han informado sobre una alta frecuencia de estos filos, destacando una mayor abundancia

de Bacteroidetes en comparación con Firmicutes en el *C. porcellus* (Tang et al., 2022; Crowley et al., 2017). Estas diferencias podrían atribuirse al contraste en la edad y la dieta de los animales evaluados en este estudio (15 días y alimentados con forrajes) en comparación con los animales de los estudios anteriores (8-12 semanas y alimentados con alimento balanceado y dieta mixta).

En relación a la edad, se ha observado que los miembros del filo Firmicutes son más abundantes en edades tempranas y eventualmente son superados en abundancia por Bacteroidetes en animales cuando tiene lugar la adultez (Saraswati et al., 2015). En cuanto a la dieta, una tendencia similar se ha reportado en el bacterioma de ratones, donde las dietas ricas en lípidos promovieron una mayor abundancia de Firmicutes, mientras que las dietas ricas en fibra favorecieron una mayor presencia de Bacteroidetes (Wu et al., 2011; Zhang et al., 2012).

Posteriormente, el análisis de coordenadas principales (Figura 19) reveló un claro agrupamiento entre los segmentos del intestino delgado y grueso. Este patrón sugiere que tanto los segmentos del intestino delgado como del intestino grueso comparten una estructura bacteriana entre sí. Particularmente, las muestras del intestino grueso (ciego y colon) mostraron una similitud notable con las muestras de heces, lo que indica que la microbiota del intestino grueso tiene una influencia dominante en la composición bacteriana fecal. Estos hallazgos, son consistentes con estudios previos en la misma especie (Tang et al., 2022) lo cual permite inferir que la similitud entre las muestras del intestino grueso y las heces, puede reflejar la contribución predominante del intestino grueso a la microbiota total excretada. Adicionalmente, estas observaciones señalan la importancia de analizar individualmente los segmentos del tracto gastrointestinal, ya que cada segmento proporciona un entorno particular que influye en la composición bacteriana.

El análisis del tamaño del efecto del análisis discriminante lineal reveló que Firmicutes y Bacteroidetes fueron predominantemente abundantes en los segmentos del intestino grueso (Figura 20-A), destacando su papel crucial en este entorno. En contraste, el filo Proteobacteria mostró un enriquecimiento significativo en los segmentos del intestino delgado. Estos patrones sugieren una adaptación específica de los miembros de estos filos a las condiciones particulares del intestino delgado y grueso, incluyendo el gradiente de oxígeno intestinal observado en roedores (McCallum et al., 2024) y las variaciones en las concentraciones de sales biliares propias de los primeros

segmentos del intestino delgado. Estas observaciones son consistentes con los reportes de genes asociados a la hidrólisis microbiana de sales biliares, en el intestino delgado de *C. porcellus* (Tang et al., 2022), lo cual explica la prevalencia de Proteobacteria en el intestino delgado; y con el hecho de que los principales filos que codifican estos genes son los filos Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria y todas las arqueas intestinales (Larabi et al., 2023).

En relación a los géneros destacados entre segmentos (Figura 20-B), se observó que *Ureaplasma* mostró un enriquecimiento predominante en el intestino delgado. Este género está distribuido en la naturaleza y ha sido descrito tanto como patógeno y comensal en humanos y animales (Santos et al., 2021). Por otro lado, *Epulopiscium*, mayormente enriquecido en el intestino grueso, es un género del que se sabe poco; sin embargo, existen reportes de su actividad degradadora en el intestino de herbívoros (Miyake et al., 2016). Por su parte, *Oscillospira*, un género estudiado por su capacidad para fermentar carbohidratos vegetales complejos y por su crecimiento lento (Yang et al., 2021), presentó una riqueza considerable en los segmentos del intestino grueso, especialmente en el ciego. Por lo anterior, es posible inferir que la presencia de estos filos en el intestino delgado y grueso de *C. porcellus*, puede estar asociada con su capacidad para degradar los sustratos vegetales presentes desde los primeros segmentos del intestino.

Particularmente, esto fue notable para *Oscillospira*, considerando que su crecimiento lento y capacidad de degradación de carbohidratos complejos, se complementa sinérgicamente con la tasa de retención alta del ciego y por su contenido alto de carbohidratos complejos. Similarmente, estos resultados concuerdan con otros estudios, los cuales mencionan las tasas de retención lentas pueden seleccionar a favor de algunas bacterias, lo cual encaja con *Oscillospira* de crecimiento lento (Yang et al., 2021).

7.3 Exploración taxonómica del bacterioma del C. porcellus a nivel de ciego

Las asignaciones taxonómicas a nivel de filo (Anexo C), revelaron patrones significativos que enriquecen nuestra comprensión de la composición bacteriana en el ciego del *C. porcellus*. En concordancia con hallazgos anteriores en cuyes de producción (Frias et al., 2023a; Frias et al.,

2023b), Firmicutes, Bacteroidetes y Fibrobacteres fueron los 3 filos más prominentes en el bacterioma cecal en este estudio. Las variaciones en las muestras analizadas, pueden estar relacionadas con la heterogeneidad de las características de los sistemas productivos como la alimentación, ya que las dietas ricas en almidón favorecen más a la abundancia de Bacteroidetes y las dietas ricas en fibra favorecen a Firmicutes (Maier et al., 2017).

Esta relación ha sido reportada ampliamente en animales, ya que Firmicutes que están asociados con bacterias celulolíticas y Bacteroidetes asociadas a la degradación de carbohidratos (Hu., et al 2017), generalmente son los filos bacterianos dominantes en el microbioma intestinal de animales sanos y suelen estar presentes en diferentes abundancias relativas en distintos individuos y especies (Wu et al., 2022). En cuanto al filo Fibrobacteres, su notable abundancia relativa en el ciego del *C. porcellus*, puede explicarse por la degradación de celulosa, la cual ha sido reportada anteriormente en el tracto gastrointestinal de insectos como las terminas (Hongoh et al., 2006), en el bacterioma rumiantes, en el ciego de porcinos y equinos, y en las heces de animales silvestres como los capibaras (Ransom et al., 2012).

En cuanto a la tendencia a formar agrupaciones, con base en el origen de las muestras que se observó en la variable “corregimientos” (Figura 12), un patrón similar fue descrito en estudios tendientes a estudiar la microbiota de ratones silvestres, en diferentes ubicaciones geográficas (Goertz et al., 2019). Similarmente, este patrón también fue reportado en el microbioma intestinal de osos pardos de diferentes localidades (Trujillo et al., 2022). Estos hallazgos permiten inferir que la distancia geográfica, asociada a los diferentes corregimientos de este estudio tiene un papel preponderante en la configuración del bacterioma cecal del *C. porcellus*. Adicionalmente, al realizar el análisis de cada corregimiento, se constató que Catambuco en el grupo 1 y el Encano en el grupo 2, son los corregimientos con el mayor porcentaje de producción de cuyes en Pasto. Esta característica es relevante considerando que los productores cercanos a Catambuco y El Encano, adquieren su pie de cría en estos corregimientos, lo cual podría explicar en parte, la similitud entre el bacterioma de los dos grupos.

Posteriormente, cuando se analizaron los núcleos bacterianos en los grupos formados en la variable corregimientos, se observó que *Prevotella* y *Osillospira* presentaron algunas variaciones. Sin

embargo, para el caso de *Prevotella*, este género ha sido identificado anteriormente a nivel ruminal y tiene aún mayor importancia ya que está asociada al proceso de adaptación del huésped a la dieta de fibra vegetal (Dao et al., 2021). Esta característica presenta una estrecha relación con los animales de este estudio, teniendo en cuenta que la edad en la que fueron seleccionados (15 días), aún se encontraban en proceso de adaptación o transición, de una dieta líquida (leche materna) a la dieta vegetal basada en forrajes.

Consecuentemente, al analizar el efecto particular de las unidades productivas en las zonas de Catambuco (Figura 14), en este estudio se observó un efecto similar al descrito anteriormente en la variable corregimientos. Con base en estos hallazgos y en su similitud de las observaciones, se infiere que un efecto similar tuvo lugar entre las zonas de Catambuco.

Estos hallazgos concuerdan con estudios previos en donde se concluye que la microbiota intestinal de animales silvestres puede variar significativamente incluso en distancias muy pequeñas (Goertz et al., 2019). Lo anterior permite entender porque la ubicación geográfica y la distancia relativa entre los sitios de muestreo son factores importantes en el estudio del bacterioma cecal de *C. porcellus*.

Seguidamente, el filo *Fibrobacteres* fue identificado en alta abundancia al analizar el efecto de la dieta sobre el bacterioma cecal del *C. porcellus* (Figura 15). La riqueza de este filo, puede estar relacionada con la cantidad significativa de carbohidratos no estructurales presentes en la caña, los cuales pueden ser aprovechados fácilmente por los miembros de *Fibrobacteres*. Similarmente, este filo está asociado a la degradación de carbohidratos complejos como la lignocelulosa (Hongoh et al., 2006). Teniendo en cuenta que la caña forrajera tiene un contenido de hemicelulosa de 23.2% (Narayanasamy et al., 2019), esto podría explicar su abundancia bajo el suministro caña.

Adicionalmente, otros filios fueron observados en proporciones menores y con una tendencia a disminuir su abundancia. Entre estos filios, se incluyen *Verrucomicrobia*, *Spirochaetes* y *Actinobacteria*. Resultados similares fueron descritos anteriormente (Tang et al., 2022), sin embargo, en este estudio *Verrucomicrobia* y *fibrobacteres* fueron encontrados en mayor abundancia. En cuanto a la identificación de géneros, se resalta la presencia de géneros como

Akkermansia y *Bacteroides*. Estos hallazgos coinciden con estudios previos los cuales exploraron diversas condiciones en los animales, como el periodo de ayuno y el impacto de las razas en el bacterioma cecal de cuyes de producción (Frias et al., 2023a; Frias et al., 2023b). La presencia de *Akkermansia* en las muestras de ciego, son consistentes con el comportamiento etológico del cuy el cual se describe como un animal que practica la cecotrofia (Hildebrand et al., 2012). Por otra parte, géneros como *Prevotella*, *Ruminococcus* y *Treponema* fueron adicionalmente identificados en este estudio al igual que en estudios previos (Frias et al., 2023a; Frias et al., 2023b). La diferencia más notable se presentó al analizar el género *Treponema*, el cual que los mismos autores registraron un valor de 7,98% el cual contrasta con el encontrado en este estudio (36%).

Por otro lado, se ha observado que existen diferencias asociadas con las demandas energéticas y la ingesta de energía en animales bajo condiciones de confinamiento y en entornos naturales, lo cual puede influir en la composición de la microbiota intestinal (Bensch et al., 2023). De esta manera se puede inferir que, en ciertas condiciones de vida la opción energéticamente menos exigente, como el confinamiento, podría reducir la dependencia de los animales de albergar un bacterioma específico en el sistema gastrointestinal. Estos hallazgos concuerdan con las diferencias encontradas en nuestro estudio para la variable instalaciones, la cual registró la presencia de un género diferencialmente abundante para cada tipo de instalación: *Epulopiscium* en jaulas y *Parabacteroides* en pozas.

7.4 Detección de posibles bacterias catalogadas como agentes patógenos en las muestras de ciego del C. porcellus

Aunque el *C. porcellus* es propenso a desarrollar lesiones ocasionadas por diferentes microorganismos (virus, bacterias, protozoos y parásitos), únicamente un pequeño número de organismos puede causar infecciones, y solo una parte de ese grupo provoca enfermedades clínicas (Brabb et al., 2012).

El género *Clostridium* se ha descrito como un grupo ubicuo de bacilos estrictamente anaeróbicos a aerotolerantes. Comúnmente se encuentran en el suelo y en microbiota intestinal normal de humanos y animales (Warriner y Namvar., 2017). *Clostridium* se asocia comúnmente a la

enterotoxemia en animales domésticos la cual puede ser causada a través de alimentos, agua, tipo de cama o suelo contaminados (Brabb, et al., 2012). Considerando que *Clostridium* únicamente se detectó en muestras de ciego, el cual se caracteriza por ser un ambiente en donde predomina los lactobacilos anaeróbios (Hargaden & Singer, 2012), es posible inferir que el ciego del *C. porcellus*, puede potencialmente ser un órgano susceptible a enfermedades causadas por *Clostridium* a un mayor nivel frente a los segmentos de del intestino delgado y grueso.

En cuanto a *Campylobacter*, este género se ha descrito como un patógeno zoonótico ya que su vía principal de transmisión, son los alimentos derivados de aves y bovinos en donde es un habitante en el tracto gastro intestinal (Collado, 2020). La mayoría de las especies de este género, tiene un crecimiento óptimo al 5% de oxígeno y entre 2-10% de dióxido de carbono (ACHIPIA, 2017). De forma similar a *Clostridium*, este género se observó en las muestras de ciego, sin reportar presencia en los demás segmentos del TGI. Este comportamiento puede explicarse por los cambios que tiene lugar, en el paso del ID hacia el IG, el cual convierte al lumen del ciego en un ambiente fuertemente anaeróbico (Mccallum y Tropini., 2023).

Por su parte, las bacterias del género *Streptococcus*, corresponden a cocos Gram positivos anaerobios facultativos, los cuales pueden llegar a ser patógenos oportunistas (Tournelle Kimura, 2013). Este género se detectó en muy baja prevalencia en las muestras de ciego. Sin embargo, fue el único generó detectado en los demás segmentos de intestino delgado y grueso con excepción de las heces. Estos resultados, pueden asociarse a las condiciones en los segmentos anteriores, los cuales facilitar la proliferación de géneros aerotolerantes.

Similarmente, el género *Corynebacterium* ha sido reportado como un agente que puede causar enfermedad en el *C. porcellus*. Sin embargo, los reportes asociados a enfermedades tienen una baja frecuencia y han sido reportados en ambientes diferentes al del ciego: conjuntiva ocular, muestras de orina y vejiga involucrado diferentes especies del género (Bowerman, et al., 2021). En esta investigación, *Corynebacterium* únicamente se observó en una muestra de ciego con una baja frecuencia relativa. Estos hallazgos sugieren que el ambiente en los segmentos del intestino delgado y grueso en el *C. porcellus*, no favorece el crecimiento de este género, y que su baja presencia podría ser frecuente en la distribución bacteriana del ciego del *C. porcellus*.

Adicionalmente, también se realizó la detección de *Ureaplasma* un género complejo entre las procariotas. En términos generales, *Ureaplasma* se caracteriza por sus requerimientos de urea para su crecimiento y por poseer una potente ureasa acoplada a la síntesis de ATP; carecen de pared celular, así como de genes para la síntesis de aminoácidos y vitaminas, y presentan una íntima relación bacteria-huésped lo cual genera un parasitismo de superficie de las células epiteliales (Meseguer et al., 2012). Aunque no existen reportes previos de *Ureaplasma* en los segmentos intestinales del *C. porcellus*, su presencia ha sido informada en el intestino delgado de mamíferos con una arquitectura intestinal simple, como las musarañas pertenecientes al género *Crocidura* (Swanson et al., 2023). Estos hallazgos sugieren la presencia de este género, en regiones diferentes a los epitelios de los tractos respiratorio y urogenital en donde se alojan frecuentemente, podría explicarse por el proceso de cecotrofia que realiza el *C. porcellus*. Este proceso, aprovecha los productos de la fermentación microbiana producidos en el ciego (proteínas, vitaminas y sales inorgánicas), con el fin obtener su aporte nutricional al ser ingeridos en las heces blandas también llamadas cecotrofos (Abdallah et al, 2023).

7.5 Estimación funcional del bacterioma intestinal del C. porcellus

El tracto gastro intestinal, es un órgano tubular con diversas funciones como la digestión, la absorción y la inmunidad. En este órgano las funciones de cada segmento son diferentes, por ende, la especificación regional del TGI, es necesaria para describir la función fisiológica normal o alterada. Por esta razón, en este estudio, se realizó una predicción funcional de los segmentos del TGI de *C. porcellus* con base en mediante la plataforma Tax4Fun, el cual asigna funciones metabólicas predichas a comunidades microbianas, utilizando información de referencia de genomas completos y funciones conocidas.

En un estudio anterior, en donde se colectaron muestras de seis segmentos diferentes de tejido intestinal (duodeno, yeyuno, íleon, ciego, colon y recto) de cuyes de laboratorio, se analizaron los perfiles de expresión genética de cada una de estas regiones.

Los resultados dieron a conocer una regionalización funcional del intestino, con cambios en la expresión génica funcional entre los diferentes segmentos intestinales. A nivel del intestino delgado, se encontró que la mayoría de los genes transporte de monosacáridos, lípidos, aminoácidos neutros-básicos y excitadores, ácidos biliares, vitaminas y agua se expresan en este segmento. Por su parte, en el intestino grueso los genes asociados al transporte de glucosa, aldosas, transporte de aminoácidos ácidos y glutamina fueron los más prevalentes. Al igual que los genes del metabolismo del colesterol, cuerpos cetónicos, vitaminas A, H y B12 y ácidos grasos de cadena corta (Tang et al., 2022).

En este estudio, se logró predecir que la estructura funcional general de la comunidad bacteriana en los segmentos del TGI y las heces, estaba dominada por procesos del metabolismo (nucleótidos, energía y carbohidratos); procesamiento de la información genética (traducción); y procesamiento de la información ambiental (transducción de señales y transporte de membrana).

A diferencia (Tang et al., 2022), en este estudio la mayor abundancia se relacionó con las vías del metabolismo del metano, movilidad celular y biosíntesis del peptidoglicano para el intestino grueso. Sin embargo, en cuanto al intestino delgado si hubo una relación entre lo encontrado por (Tang et al., 2022) y este estudio, el cual fue con el metabolismo de lípidos y de la nicotinamida. Las diferencias entre estos resultados radican en que la aproximación de Tax4Fun se basa en predicciones de funciones metabólicas basadas en la información taxonómica derivada del gen 16S rRNA y el enfoque de la transcriptómica ofrece una perspectiva basada en datos de expresión génica, que provienen del análisis de ARN mensajero (ARNm).

8. Conclusiones

- El bacterioma presente en los segmentos del intestino delgado tiende a ser similares entre sí. Paralelamente esta misma relación se presenta entre los segmentos del intestino grueso y las heces.
- El bacterioma fecal presenta similitudes con el bacterioma de los segmentos del intestino grueso, por lo tanto, las muestras de heces son una alternativa para realizar un muestreo menos laborioso e invasivo, permitiendo monitorear la estructura bacteriana de la porción distal del TGI.
- Firmicutes y Bacteroidetes son los filos con mayor dominancia en el bacterioma cecal del *C. porcellus*.
- La distancia geográfica, representada por la variable corregimiento, es el factor con mayor influencia sobre las diferencias de beta diversidad en las muestras de ciego.
- La distancia entre las unidades productivas (UP) de la zona rural y urbana del corregimiento de Catambuco tienen efecto en la diferenciación de la estructura bacteriana.
- El uso de un único tipo de forraje en la dieta como la caña forrajera, afecta significativamente el bacterioma cecal del *Cavia porcellus* cuando se compara con otro tipo de gramíneas como kikuyo, ryegras y saboya.
- *Clostridium* y *Campylobacter* son los géneros asociados como agentes patógenos con mayor prevalencia en los corregimientos productores de cuy en Nariño.

9. Recomendaciones

- Utilizar el enfoque de esta investigación para evaluar el bacterioma de esta especie en las siguientes fases que comprenden su ciclo de vida productivo.
- Evaluar el impacto de los principales antibióticos y antiparasitarios suministrados comúnmente en las producciones de cuy sobre el bacterioma intestinal.
- Considerando que existen reportes de *Yersinia pseudotuberculosis*, se sugiere realizar una búsqueda de este patógeno en sistemas y órganos que aún no han sido estudiados como el sistema respiratorio, hígado y bazo.
- Dado que en el presente estudio se reporta la presencia del género *Ureaplasma*, se sugiere realizar el seguimiento de esta bacteria en el intestino delgado de esta especie en estudios posteriores.
- Realizar un estudio metagenómico para dilucidar las funciones del bacterioma del tracto gastrointestinal del *Cavia porcellus*.

Anexos

Anexo A

Corregimientos del municipio de Pasto incluidos en el estudio

No.	Corregimiento	Porcentaje de la población	Número de animales por sistema de producción	Número de granjas a muestrear
1.	Catambuco	14,57	42	11
2.	El Encano	13,39	39	10
3.	La Caldera	11,81	34	9
4.	Mocondino	9,84	28	7
5.	Cabrera	9,06	26	7
6.	San Fernando	8,66	25	7
7.	La Laguna	7,87	23	6
8.	Santa Bárbara	6,30	18	5
9.	Morasurco	3,94	11	3
10.	Mapachico	3,94	11	3
11.	Jamondino	3,15	9	3
12.	Obonuco	2,76	8	2
13.	Jongovito	2,36	7	2
14.	Genoy	2,36	7	2
Total		100 %	288	77

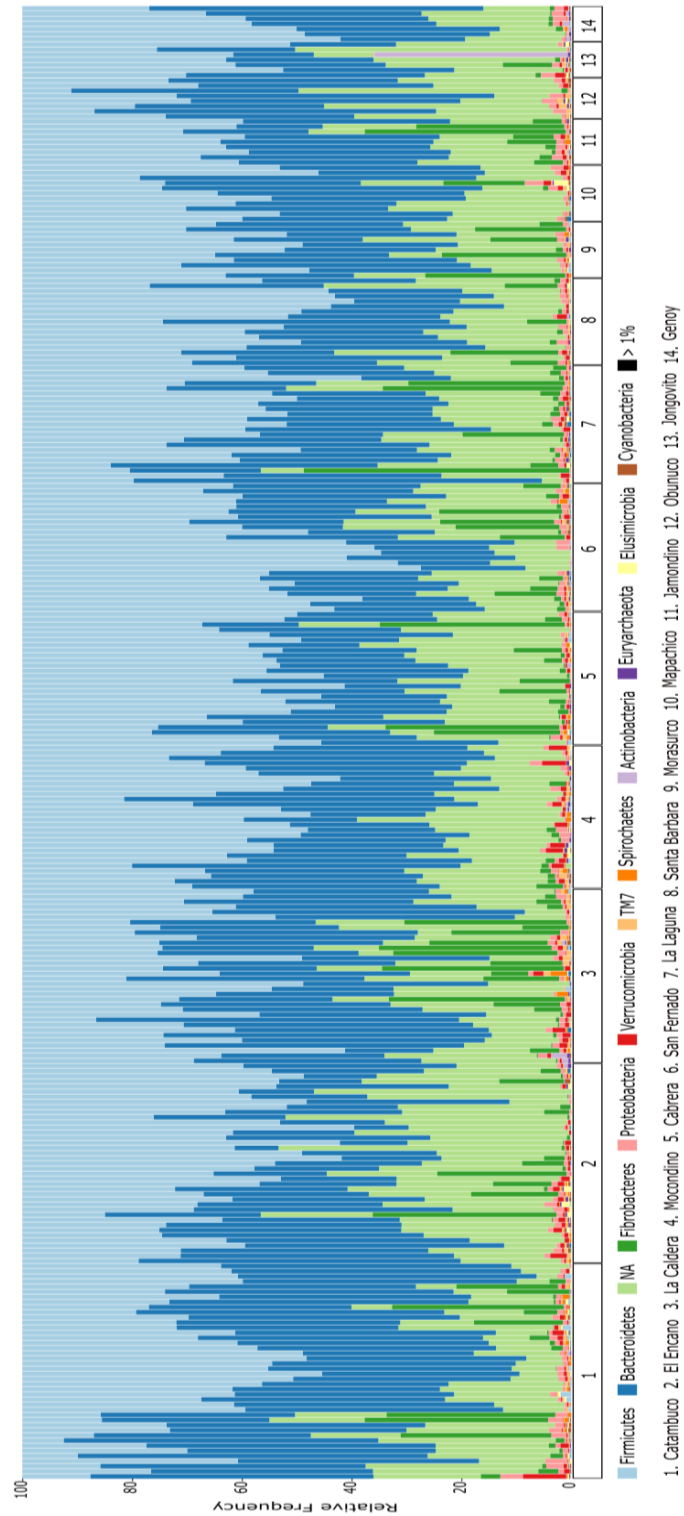
Secretaria de Agricultura del municipio de Pasto, Nariño (2016) tomado de Orbes (s.f.)

Anexo B Descripción de variables asociadas a la meta-información

Nombre de la variable	Descripción de la variable y sus categorías	Binaria (B) Múltiple (M)
Variables asociadas a las unidades productivas		
Corregimiento	Corregimientos en donde obtuvieron los animales	(M)
Localización UP	Unidad productiva dentro de cada corregimiento	(B)
Género	Diferenciación biológica entre la hembra y el macho de la especie	(B)
	Área general (Caseta o Galpón)	
Instalación	Área específica (Jaula, piso o poza)	(B)
Alojamiento	Uso de pediluvio en las unidades productivas	(B)
Pediluvio	Presencia de otras especies en el entorno	(B)
Otras-especies	Presencia de conejos muy cerca del alojamiento	(B)
Otras-conejos	Presencia de perros muy cerca del alojamiento	(B)
Otras-perros	Presencia de aves muy cerca del alojamiento	(B)
Otras-aves	Presencia de perros muy cerca del alojamiento	(B)
Otras-cerdos		(B)
Variables asociadas a la alimentación de los animales		
Ap-kikuyo	Uso primordial de kikuyo en la alimentación	(B)
Ap-rye gras	Uso primordial de raigrás en la alimentación	(B)
Ap-saboya	Uso primordial de saboya en la alimentación	(B)
Ap-brasilero	Uso primordial de brasilero en la alimentación	(B)
Ap-trebol	Uso primordial de trébol en la alimentación	(B)
Ap-caña	Uso primordial de caña en la alimentación	(B)
Ap-maralfalfa	Uso primordial de maralfalfa en la alimentación	(B)
Núm-forrajes	Número de forrajes utilizados	(M)
Frecuencia-Ap	Frecuencia de suministro de alimento	(B)
Vit/Min	Suministro de vitaminas y minerales	(M)
Variables asociadas a las prácticas sanitarias		
Desinfección	Realización de procesos de desinfección	(B)
Enfermedades	Historial de enfermedades previas en los cuyes	(B)
MC-iver	Uso de productos que contiene ivermectina	(B)
MC-enro	Uso de productos que contiene enrofloxacin	(B)
MC-cipro	Uso de productos que contiene ciprofloxacina	(B)
MC-antipara	Administración de antiparasitarios	(B)
MC-nat	Uso de tratamientos naturales o caseros	(B)
Segmento	Segmento de intestino delgado (Duodeno, Yeyuno, Íleon)	(M)
	Intestino grueso (Colon, Ciego)	
Enteritis	Presencia de enteritis en los cuyes (Leve, Moderada y Severa)	(M)
Colitis	Presencia de colitis en los cuyes (Leve y Moderada)	(M)
Parásitos	Presencia de parásitos en las heces	(B)

Anexo C

Distribución taxonómica a nivel de filo de las muestras de contenido cecal



Anexo D

Identificación de la muestra y códigos de barras de los primers utilizados

ID	Primer Name 1	Barcode secuencia 1	Primer name 2	Barcode secuencia 2
Pool - 1				
CAT-01	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-1	CCTAGCTT
CAT-02	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-2	TTCCAAGG
CAT-03	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-3	ATCCGCTT
CAT-04	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-4	CTGTGTGA
CAT-05	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-5	CTGTCTGT
CAT-06	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-6	TACGGCTA
CAT-07	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-7	CGTTGCAA
CAT-08	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-8	CTGAAGTC
CAT-09	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-9	TCTCCTCT
CAT-10	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-10	CTCAAGAC
CAT-11	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-11	TCCTAGCT
CAT-12	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-12	TCCTCTTC
CAT-13	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-13	GCATAACC
CAT-14	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-14	ACCTGTAG
CAT-15	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-15	GTGAGAGT
CAT-16	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-16	TCCTGTTG
CAT-17	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-17	CCTTATCG
CAT-18	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-18	TGTCCTCA
CAT-19	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-19	CGATCCTT
CAT-20	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-20	CCTAGGAT
CAT-21	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-21	CTGAGTCA
CAT-22	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-22	CTCTCTGA
CAT-23	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-23	ACCTCTAC
CAT-24	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-24	ATCCTTGC
CAT-25	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-25	TACGAAGG
CAT-26	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-26	GAACCATC
CAT-27	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-27	CATCGATG
CAT-28	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-28	CGATATCG
CAT-29	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-29	AGGAGATC
CAT-30	PE1-1	CTTGTCGT	PE2-30	GAACCTTG
CAT-31	PE1-2	ACCAGATC	PE2-1	CCTAGCTT
CAT-32	PE1-2	ACCAGATC	PE2-2	TTCCAAGG
CAT-33	PE1-2	ACCAGATC	PE2-3	ATCCGCTT

CAT-34	PE1-2	ACCAGATC	PE2-4	CTGTGTGA
CAT-35	PE1-2	ACCAGATC	PE2-5	CTGTCTGT
CAT-36	PE1-2	ACCAGATC	PE2-6	TACGGCTA
CAT-37	PE1-2	ACCAGATC	PE2-7	CGTTGCAA
CAT-38	PE1-2	ACCAGATC	PE2-8	CTGAAGTC
CAT-39	PE1-2	ACCAGATC	PE2-9	TCTCCTCT
CAT-40	PE1-2	ACCAGATC	PE2-10	CTCAAGAC
CAT-41	PE1-2	ACCAGATC	PE2-11	TCCTAGCT
CAT-42	PE1-2	ACCAGATC	PE2-12	TCCTCTTC
ENC-43	PE1-2	ACCAGATC	PE2-13	GCATAACC
ENC-44	PE1-2	ACCAGATC	PE2-14	ACCTGTAG
ENC-45	PE1-2	ACCAGATC	PE2-15	GTGAGAGT
ENC-46	PE1-2	ACCAGATC	PE2-16	TCCTGTTG
ENC-47	PE1-2	ACCAGATC	PE2-17	CCTTATCG
ENC-48	PE1-2	ACCAGATC	PE2-18	TGTCCTCA
ENC-49	PE1-2	ACCAGATC	PE2-19	CGATCCTT
ENC-50	PE1-2	ACCAGATC	PE2-20	CCTAGGAT
ENC-51	PE1-2	ACCAGATC	PE2-21	CTGAGTCA
ENC-52	PE1-2	ACCAGATC	PE2-22	CTCTCTGA
ENC-53	PE1-2	ACCAGATC	PE2-23	ACCTCTAC
ENC-54	PE1-2	ACCAGATC	PE2-24	ATCCTTGC
ENC-55	PE1-2	ACCAGATC	PE2-25	TACGAAGG
ENC-56	PE1-2	ACCAGATC	PE2-26	GAACCATC
ENC-57	PE1-2	ACCAGATC	PE2-27	CATCGATG
ENC-58	PE1-2	ACCAGATC	PE2-28	CGATATCG
ENC-59	PE1-2	ACCAGATC	PE2-29	AGGAGATC
ENC-60	PE1-2	ACCAGATC	PE2-30	GAACCTTG
ENC-61	PE1-3	TATACCGG	PE2-1	CCTAGCTT
ENC-62	PE1-3	TATACCGG	PE2-2	TTCCAAGG
ENC-63	PE1-3	TATACCGG	PE2-3	ATCCGCTT
ENC-64	PE1-3	TATACCGG	PE2-4	CTGTGTGA
ENC-65	PE1-3	TATACCGG	PE2-5	CTGTCTGT
ENC-66	PE1-3	TATACCGG	PE2-6	TACGGCTA
ENC-67	PE1-3	TATACCGG	PE2-7	CGTTGCAA
ENC-68	PE1-3	TATACCGG	PE2-8	CTGAAGTC
ENC-69	PE1-3	TATACCGG	PE2-9	TCTCCTCT
ENC-70	PE1-3	TATACCGG	PE2-10	CTCAAGAC
ENC-71	PE1-3	TATACCGG	PE2-11	TCCTAGCT
ENC-72	PE1-3	TATACCGG	PE2-12	TCCTCTTC

ENC-73	PE1-3	TATACCGG	PE2-13	GCATAACC
ENC-74	PE1-3	TATACCGG	PE2-14	ACCTGTAG
ENC-75	PE1-3	TATACCGG	PE2-15	GTGAGAGT
ENC-76	PE1-3	TATACCGG	PE2-16	TCCTGTTG
ENC-77	PE1-3	TATACCGG	PE2-17	CCTTATCG
ENC-78	PE1-3	TATACCGG	PE2-18	TGTCCTCA
ENC-79	PE1-3	TATACCGG	PE2-19	CGATCCTT
ENC-80	PE1-3	TATACCGG	PE2-20	CCTAGGAT
ENC-81	PE1-3	TATACCGG	PE2-21	CTGAGTCA
CAL-82	PE1-3	TATACCGG	PE2-22	CTCTCTGA
CAL-83	PE1-3	TATACCGG	PE2-23	ACCTCTAC
CAL-84	PE1-3	TATACCGG	PE2-24	ATCCTTGC
CAL-85	PE1-3	TATACCGG	PE2-25	TACGAAGG
CAL-86	PE1-3	TATACCGG	PE2-26	GAACCATC
CAL-87	PE1-3	TATACCGG	PE2-27	CATCGATG
CAL-88	PE1-3	TATACCGG	PE2-28	CGATATCG
CAL-89	PE1-3	TATACCGG	PE2-29	AGGAGATC
CAL-90	PE1-3	TATACCGG	PE2-30	GAACCTTG
CAL-91	PE1-4	CGCGATTA	PE2-1	CCTAGCTT
CAL-92	PE1-4	CGCGATTA	PE2-2	TTCCAAGG
CAL-93	PE1-4	CGCGATTA	PE2-3	ATCCGCTT
CAL-94	PE1-4	CGCGATTA	PE2-4	CTGTGTGA
CAL-95	PE1-4	CGCGATTA	PE2-5	CTGTCTGT
CAL-96	PE1-4	CGCGATTA	PE2-6	TACGGCTA
CAL-97	PE1-4	CGCGATTA	PE2-7	CGTTGCAA
CAL-98	PE1-4	CGCGATTA	PE2-8	CTGAAGTC
CAL-99	PE1-4	CGCGATTA	PE2-9	TCTCCTCT
CAL-100	PE1-4	CGCGATTA	PE2-10	CTCAAGAC
CAL-101	PE1-4	CGCGATTA	PE2-11	TCCTAGCT
CAL-102	PE1-4	CGCGATTA	PE2-12	TCCTCTTC
CAL-103	PE1-4	CGCGATTA	PE2-13	GCATAACC
CAL-104	PE1-4	CGCGATTA	PE2-14	ACCTGTAG
CAL-105	PE1-4	CGCGATTA	PE2-15	GTGAGAGT
CAL-106	PE1-4	CGCGATTA	PE2-16	TCCTGTTG
CAL-107	PE1-4	CGCGATTA	PE2-17	CCTTATCG
CAL-108	PE1-4	CGCGATTA	PE2-18	TGTCCTCA
CAL-109	PE1-4	CGCGATTA	PE2-19	CGATCCTT
CAL-110	PE1-4	CGCGATTA	PE2-20	CCTAGGAT
CAL-111	PE1-4	CGCGATTA	PE2-21	CTGAGTCA

CAL-112	PE1-4	CGCGATTA	PE2-22	CTCTCTGA
CAL-113	PE1-4	CGCGATTA	PE2-23	ACCTCTAC
CAL-114	PE1-4	CGCGATTA	PE2-24	ATCCTTGC
CAL-115	PE1-4	CGCGATTA	PE2-25	TACGAAGG
MOC-116	PE1-4	CGCGATTA	PE2-26	GAACCATC
MOC-117	PE1-4	CGCGATTA	PE2-27	CATCGATG
MOC-118	PE1-4	CGCGATTA	PE2-28	CGATATCG
MOC-119	PE1-4	CGCGATTA	PE2-29	AGGAGATC
MOC-120	PE1-4	CGCGATTA	PE2-30	GAACCTTG
MOC-121	PE1-5	ACACGTGT	PE2-1	CCTAGCTT
MOC-122	PE1-5	ACACGTGT	PE2-2	TTCCAAGG
MOC-123	PE1-5	ACACGTGT	PE2-3	ATCCGCTT
MOC-124	PE1-5	ACACGTGT	PE2-4	CTGTGTGA
MOC-125	PE1-5	ACACGTGT	PE2-5	CTGTCTGT
MOC-126	PE1-5	ACACGTGT	PE2-6	TACGGCTA
MOC-127	PE1-5	ACACGTGT	PE2-7	CGTTGCAA
MOC-128	PE1-5	ACACGTGT	PE2-8	CTGAAGTC
MOC-129	PE1-5	ACACGTGT	PE2-9	TCTCCTCT
MOC-130	PE1-5	ACACGTGT	PE2-10	CTCAAGAC
MOC-131	PE1-5	ACACGTGT	PE2-11	TCCTAGCT
MOC-132	PE1-5	ACACGTGT	PE2-12	TCCTCTTC
MOC-133	PE1-5	ACACGTGT	PE2-13	GCATAACC
MOC-134	PE1-5	ACACGTGT	PE2-14	ACCTGTAG
MOC-135	PE1-5	ACACGTGT	PE2-15	GTGAGAGT
MOC-136	PE1-5	ACACGTGT	PE2-16	TCCTGTTG
MOC-137	PE1-5	ACACGTGT	PE2-17	CCTTATCG
MOC-138	PE1-5	ACACGTGT	PE2-18	TGTCCTCA
MOC-139	PE1-5	ACACGTGT	PE2-19	CGATCCTT
MOC-140	PE1-5	ACACGTGT	PE2-20	CCTAGGAT
MOC-141	PE1-5	ACACGTGT	PE2-21	CTGAGTCA
MOC-142	PE1-5	ACACGTGT	PE2-22	CTCTCTGA
MOC-143	PE1-5	ACACGTGT	PE2-23	ACCTCTAC
CAB-144	PE1-5	ACACGTGT	PE2-24	ATCCTTGC
CAB-145	PE1-5	ACACGTGT	PE2-25	TACGAAGG
CAB-146	PE1-5	ACACGTGT	PE2-26	GAACCATC
CAB-147	PE1-5	ACACGTGT	PE2-27	CATCGATG
CAB-148	PE1-5	ACACGTGT	PE2-28	CGATATCG
CAB-149	PE1-5	ACACGTGT	PE2-29	AGGAGATC
CAB-150	PE1-5	ACACGTGT	PE2-30	GAACCTTG

CAB-151	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-1	CCTAGCTT
CAB-152	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-2	TTCCAAGG
CAB-153	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-3	ATCCGCTT
CAB-154	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-4	CTGTGTGA
CAB-155	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-5	CTGTCTGT
CAB-156	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-6	TACGGCTA
CAB-157	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-7	CGTTGCAA
CAB-158	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-8	CTGAAGTC
CAB-159	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-9	TCTCCTCT
CAB-160	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-10	CTCAAGAC
CAB-161	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-11	TCCTAGCT
CAB-162	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-12	TCCTCTTC
CAB-163	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-13	GCATAACC
Pool - 2				
CAB-164	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-14	ACCTGTAG
CAB-165	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-15	GTGAGAGT
CAB-166	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-16	TCCTGTTG
CAB-167	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-17	CCTATCG
CAB-168	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-18	TGTCCTCA
CAB-169	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-19	CGATCCTT
SFER-170	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-20	CCTAGGAT
SFER-171	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-21	CTGAGTCA
SFER-172	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-22	CTCTCTGA
SFER-173	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-23	ACCTCTAC
SFER-174	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-24	ATCCTTGC
SFER-175	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-25	TACGAAGG
SFER-176	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-26	GAACCATC
SFER-177	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-27	CATCGATG
SFER-178	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-28	CGATATCG
SFER-179	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-29	AGGAGATC
SFER-180	PE1-6	CTGTGTCT	PE2-30	GAACCTTG
SFER-181	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-1	CCTAGCTT
SFER-182	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-2	TTCCAAGG
SFER-183	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-3	ATCCGCTT
SFER-184	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-4	CTGTGTGA
SFER-185	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-5	CTGTCTGT
SFER-186	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-6	TACGGCTA
SFER-187	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-7	CGTTGCAA
SFER-188	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-8	CTGAAGTC

SFER-189	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-9	TCTCCTCT
SFER-190	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-10	CTCAAGAC
SFER-191	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-11	TCCTAGCT
SFER-192	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-12	TCCTCTTC
SFER-193	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-13	GCATAACC
SFER-194	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-14	ACCTGTAG
LAG-195	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-15	GTGAGAGT
LAG-196	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-16	TCCTGTTG
LAG-197	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-17	CCTTATCG
LAG-198	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-18	TGTCCTCA
LAG-199	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-19	CGATCCTT
LAG-200	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-20	CCTAGGAT
LAG-201	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-21	CTGAGTCA
LAG-202	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-22	CTCTCTGA
LAG-203	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-23	ACCTCTAC
LAG-204	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-24	ATCCTTGC
LAG-205	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-25	TACGAAGG
LAG-206	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-26	GAACCATC
LAG-207	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-27	CATCGATG
LAG-208	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-28	CGATATCG
LAG-209	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-29	AGGAGATC
LAG-210	PE1-7	GCTTGCTT	PE2-30	GAACCTTG
LAG-211	PE1-8	TCACCTCA	PE2-1	CCTAGCTT
LAG-212	PE1-8	TCACCTCA	PE2-2	TTCCAAGG
LAG-213	PE1-8	TCACCTCA	PE2-3	ATCCGCTT
LAG-214	PE1-8	TCACCTCA	PE2-4	CTGTGTGA
LAG-215	PE1-8	TCACCTCA	PE2-5	CTGTCTGT
LAG-216	PE1-8	TCACCTCA	PE2-6	TACGGCTA
LAG-217	PE1-8	TCACCTCA	PE2-7	CGTTGCAA
SBAR-218	PE1-8	TCACCTCA	PE2-8	CTGAAGTC
SBAR-219	PE1-8	TCACCTCA	PE2-9	TCTCCTCT
SBAR-220	PE1-8	TCACCTCA	PE2-10	CTCAAGAC
SBAR-221	PE1-8	TCACCTCA	PE2-11	TCCTAGCT
SBAR-222	PE1-8	TCACCTCA	PE2-12	TCCTCTTC
SBAR-223	PE1-8	TCACCTCA	PE2-13	GCATAACC
SBAR-224	PE1-8	TCACCTCA	PE2-14	ACCTGTAG
SBAR-225	PE1-8	TCACCTCA	PE2-15	GTGAGAGT
SBAR-226	PE1-8	TCACCTCA	PE2-16	TCCTGTTG
SBAR-227	PE1-8	TCACCTCA	PE2-17	CCTTATCG

SBAR-228	PE1-8	TCACCTCA	PE2-18	TGTCCTCA
SBAR-229	PE1-8	TCACCTCA	PE2-19	CGATCCTT
SBAR-230	PE1-8	TCACCTCA	PE2-20	CCTAGGAT
SBAR-231	PE1-8	TCACCTCA	PE2-21	CTGAGTCA
SBAR-232	PE1-8	TCACCTCA	PE2-22	CTCTCTGA
SBAR-233	PE1-8	TCACCTCA	PE2-23	ACCTCTAC
SBAR-234	PE1-8	TCACCTCA	PE2-24	ATCCTTGC
SBAR-235	PE1-8	TCACCTCA	PE2-25	TACGAAGG
MOR-236	PE1-8	TCACCTCA	PE2-26	GAACCATC
MOR-237	PE1-8	TCACCTCA	PE2-27	CATCGATG
MOR-238	PE1-8	TCACCTCA	PE2-28	CGATATCG
MOR-239	PE1-8	TCACCTCA	PE2-29	AGGAGATC
MOR-240	PE1-8	TCACCTCA	PE2-30	GAACCTTG
MOR-241	PE1-9	GGAATTGG	PE2-1	CCTAGCTT
MOR-242	PE1-9	GGAATTGG	PE2-2	TTCCAAGG
MOR-243	PE1-9	GGAATTGG	PE2-3	ATCCGCTT
MOR-244	PE1-9	GGAATTGG	PE2-4	CTGTGTGA
MOR-245	PE1-9	GGAATTGG	PE2-5	CTGTCTGT
MOR-246	PE1-9	GGAATTGG	PE2-6	TACGGCTA
MAP-247	PE1-9	GGAATTGG	PE2-7	CGTTGCAA
MAP-248	PE1-9	GGAATTGG	PE2-8	CTGAAGTC
MAP-249	PE1-9	GGAATTGG	PE2-9	TCTCCTCT
MAP-250	PE1-9	GGAATTGG	PE2-10	CTCAAGAC
MAP-251	PE1-9	GGAATTGG	PE2-11	TCCTAGCT
MAP-252	PE1-9	GGAATTGG	PE2-12	TCCTCTTC
MAP-253	PE1-9	GGAATTGG	PE2-13	GCATAACC
MAP-254	PE1-9	GGAATTGG	PE2-14	ACCTGTAG
MAP-255	PE1-9	GGAATTGG	PE2-15	GTGAGAGT
MAP-256	PE1-9	GGAATTGG	PE2-16	TCCTGTTG
MAP-257	PE1-9	GGAATTGG	PE2-17	CCTTATCG
JAM-258	PE1-9	GGAATTGG	PE2-18	TGTCCTCA
JAM-259	PE1-9	GGAATTGG	PE2-19	CGATCCTT
JAM-260	PE1-9	GGAATTGG	PE2-20	CCTAGGAT
JAM-261	PE1-9	GGAATTGG	PE2-21	CTGAGTCA
JAM-262	PE1-9	GGAATTGG	PE2-22	CTCTCTGA
JAM-263	PE1-9	GGAATTGG	PE2-23	ACCTCTAC
JAM-264	PE1-9	GGAATTGG	PE2-24	ATCCTTGC
JAM-265	PE1-9	GGAATTGG	PE2-25	TACGAAGG
JAM-266	PE1-9	GGAATTGG	PE2-26	GAACCATC

OBO-267	PE1-9	GGAATTGG	PE2-27	CATCGATG
OBO-268	PE1-9	GGAATTGG	PE2-28	CGATATCG
OBO-269	PE1-9	GGAATTGG	PE2-29	AGGAGATC
OBO-270	PE1-9	GGAATTGG	PE2-30	GAACCTTG
OBO-271	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-1	CCTAGCTT
OBO-272	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-2	TTCCAAGG
OBO-273	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-3	ATCCGCTT
OBO-274	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-4	CTGTGTGA
JON-275	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-5	CTGTCTGT
JON-276	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-6	TACGGCTA
JON-277	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-7	CGTTGCAA
JON-278	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-8	CTGAAGTC
JON-279	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-9	TCTCCTCT
JON-280	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-10	CTCAAGAC
JON-281	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-11	TCCTAGCT
GEN-282	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-12	TCCTCTTC
GEN-283	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-13	GCATAACC
GEN-284	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-14	ACCTGTAG
GEN-285	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-15	GTGAGAGT
GEN-286	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-16	TCCTGTTG
GEN-287	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-17	CCTTATCG
GEN-288	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-18	TGTCCTCA
20-D	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-19	CGATCCTT
20-Y	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-20	CCTAGGAT
20-IL	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-21	CTGAGTCA
20-CO	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-22	CTCTCTGA
20-H	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-23	ACCTCTAC
80-D	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-24	ATCCTTGC
80-Y	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-25	TACGAAGG
80-IL	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-26	GAACCATC
80-CO	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-27	CATCGATG
80-H	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-28	CGATATCG
119-D	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-29	AGGAGATC
119-Y	PE1-10	CTAGCTAG	PE2-30	GAACCTTG
119-IL	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-1	CCTAGCTT
119-CO	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-2	TTCCAAGG
119-H	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-3	ATCCGCTT
146-D	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-4	CTGTGTGA
146-Y	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-5	CTGTCTGT

146-IL	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-6	TACGGCTA
146-CO	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-7	CGTTGCAA
146-H	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-8	CTGAAGTC
182-D	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-9	TCTCCTCT
182-Y	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-10	CTCAAGAC
182-IL	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-11	TCCTAGCT
182-CO	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-12	TCCTCTTC
182-H	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-13	GCATAACC
208-D	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-14	ACCTGTAG
208-Y	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-15	GTGAGAGT
208-IL	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-16	TCCTGTTG
208-CO	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-17	CCTTATCG
229-D	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-19	CGATCCTT
229-Y	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-20	CCTAGGAT
229-IL	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-21	CTGAGTCA
229-CO	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-22	CTCTCTGA
229-H	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-23	ACCTCTAC
242-D	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-24	ATCCTTGC
242-Y	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-25	TACGAAGG
242-IL	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-26	GAACCATC
242-CO	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-27	CATCGATG
242-H	PE1-11	TTAAGCGC	PE2-28	CGATATCG

Anexo E

Matriz de variables e Índices de alfa diversidad a nivel de filo y género para las muestras de ciego

Nivel taxonómico	Filo			Género		
	Índice	Chao1	Shannon	Simpson	Chao1	Shannon
Corregimiento	9.6728e-05	0.1510	0.1390	6.1207e-07	0.0019	0.0037
Género	0.6894	0.3848	0.2416	0.6534	0.9174	0.9615
Instalación	0.1873	0.0351	0.1416	0.0567	0.1634	0.2636
Alojamiento	0.4321	0.7626	0.8134	0.6425	0.8481	0.8481
Pediluvio	0.7885	0.0213	0.0106	0.5506	0.1349	0.1184
Desinfección	0.0096	0.0096	0.0735	0.6419	0.6650	0.5096
Enfermedades	0.2834	0.2061	0.3837	0.0656	0.0410	0.0076
MC-iver	0.0317	0.2779	0.4439	0.0705	0.0756	0.0259
MC-enro	0.6037	0.3998	0.3032	0.8020	0.6080	0.5400
MC-fixa	0.5286	0.9988	0.9632	0.9888	0.6160	0.9521
MC-des	0.3301	0.1167	0.4168	0.6955	0.9822	0.5346
MC-nat	0.0289	0.0001	0.0013	0.0002	0.0100	0.2514
Otras-especies	0.0014	3.6958e-06	0.0003	2.4538e-06	0.0069	0.3513
Otras-conejos	0.2109	0.0222	0.1618	0.0003	0.0224	0.0437
Otras-gatos	0.5242	0.0564	0.1203	0.1080	0.0675	0.4959
Otras-aves	0.7829	0.4610	0.5955	0.6102	0.0811	0.0388
Ap-kikuyo	0.9675	0.0538	0.0830	0.0950	0.1413	0.0837
Ap-riegrass	0.0610	0.1111	0.2857	0.0039	0.0301	0.1577
Ap-saboya	0.2395	0.0213	0.1123	0.1724	0.2269	0.4779
Ap-brasilero	0.9520	0.1112	0.0617	0.6960	0.3134	0.1946
Ap-Trebol	0.7392	0.6434	0.3910	0.3544	0.5191	0.5454
Ap-alfalfa	0.1518	0.0399	0.057	0.0104	0.0487	0.1080
Ap-caña	0.2639	0.0817	0.1594	0.0118	0.0451	0.0201
Ap-maralfalfa	0.2643	0.7302	0.5526	0.8590	0.8751	0.9300
Núm-forrajes	0.3558	0.7582	0.8740	0.1281	0.1381	0.0691
Frecuencia-Ap	0.0536	0.4149	0.2029	0.0151	0.2376	0.1352
Vit/Min	0.0024	0.0042	0.0304	0.0006	0.1550	0.4791

Anexo F

Análisis de Varianza Permutacional Multivariante de la Dispersión (PERMANOVA) por pares para la variable corregimiento

Grupo 1	Grupo 2	pseudo-F	p-value	q-value	Permutations	Sample size
La Laguna	Santa Barbara	1.354.302	0.139	0.139000	999	40
Cabrera	La Laguna	1.432.847	0.101	0.102122	999	49
Genoy	Jongovito	1.460.974	0.060	0.063488	999	14
Mapachico	Obonuco	1.559.698	0.088	0.091000	999	19
Jamondino	La Laguna	1.623.866	0.071	0.074264	999	32
El Encano	Santa Barbara	1.662.549	0.094	0.096112	999	56
Jamondino	La Caldera	1.750.686	0.044	0.047106	999	43
Mapachico	Mocondino	1.806.822	0.027	0.030713	999	39
La Laguna	Morasurco	1.816.063	0.043	0.046583	999	34
La Caldera	Mapachico	1.847.629	0.021	0.024500	999	45
Cabrera	San Fernando	1.884.722	0.023	0.026494	999	51
Jamondino	Morasurco	2.007.722	0.033	0.036181	999	20
Catambuco	Obonuco	2.012.378	0.016	0.018909	999	50
Jamondino	Mocondino	2.012.638	0.029	0.032580	999	37
Catambuco	Mapachico	2.059.568	0.013	0.015773	999	53
Genoy	La Laguna	2.078.806	0.014	0.016763	999	30
Jongovito	La Laguna	2.104.515	0.031	0.034402	999	30
Jongovito	Mapachico	2.195.781	0.002	0.003250	999	18
Jamondino	Mapachico	2.225.714	0.005	0.006894	999	20
La Caldera	Obonuco	2.264.003	0.007	0.008972	999	42
Morasurco	Santa Barbara	2.299.543	0.004	0.005871	999	28
La Laguna	San Fernando	2.334.178	0.007	0.008972	999	48
Jamondino	Jongovito	2.418.231	0.005	0.006894	999	16
Jongovito	Obonuco	2.434.866	0.003	0.004550	999	15
Cabrera	Santa Barbara	2.470.218	0.001	0.001820	999	43
La Caldera	Mocondino	2.496.509	0.003	0.004550	999	62
Jamondino	Santa Barbara	2.604.524	0.001	0.001820	999	26
Jamondino	San Fernando	2.607.462	0.007	0.008972	999	34
Genoy	Mocondino	2.650.141	0.005	0.006894	999	35
Mocondino	Morasurco	2.652.419	0.007	0.008972	999	39
Jongovito	Mocondino	2.680.052	0.002	0.003250	999	35
Cabrera	El Encano	2.714.627	0.010	0.012466	999	65

La Caldera	Morasurco	2.754.932	0.003	0.004550	999	45
Mapachico	Morasurco	2.776.595	0.001	0.001820	999	22
Genoy	Morasurco	2.777.364	0.001	0.001820	999	18
El Encano	La Laguna	2.777.662	0.010	0.012466	999	62
Catambuco	La Caldera	2.779.437	0.001	0.001820	999	76
Jongovito	Morasurco	2.783.949	0.001	0.001820	999	18
Cabrera	Jamondino	2.796.204	0.006	0.008149	999	35
Genoy	Mapachico	2.845.630	0.001	0.001820	999	18
Cabrera	Morasurco	2.864.050	0.004	0.005871	999	37
Catambuco	Jamondino	2.899.335	0.005	0.006894	999	51
Mocondino	Obonuco	2.928.590	0.002	0.003250	999	36
Genoy	Obonuco	2.961.442	0.001	0.001820	999	15
El Encano	Jamondino	2.966.758	0.011	0.013527	999	48
Jamondino	Obonuco	2.967.424	0.001	0.001820	999	17
La Laguna	Mocondino	3.065.815	0.001	0.001820	999	51
Morasurco	San Fernando	3.191.156	0.002	0.003250	999	36
Genoy	Jamondino	3.206.020	0.001	0.001820	999	16
Cabrera	Jongovito	3.215.299	0.001	0.001820	999	33
Mocondino	San Fernando	3.223.397	0.001	0.001820	999	53
Jongovito	La Caldera	3.230.155	0.001	0.001820	999	41
Genoy	La Caldera	3.257.096	0.001	0.001820	999	41
El Encano	Morasurco	3.288.068	0.002	0.003250	999	50
Cabrera	Mocondino	3.326.428	0.001	0.001820	999	54
San Fernando	Santa Barbara	3.370.734	0.001	0.001820	999	42
La Laguna	Mapachico	3.478.563	0.001	0.001820	999	34
Jongovito	Santa Barbara	3.534.778	0.001	0.001820	999	24
Genoy	Santa Barbara	3.589.452	0.002	0.003250	999	24
El Encano	Genoy	3.607.081	0.003	0.004550	999	46
Catambuco	Mocondino	3.631.529	0.001	0.001820	999	70
Mocondino	Santa Barbara	3.645.752	0.001	0.001820	999	45
Catambuco	Morasurco	3.780.609	0.001	0.001820	999	53
Jongovito	San Fernando	3.815.235	0.001	0.001820	999	32
Catambuco	Genoy	3.823.952	0.001	0.001820	999	49
Morasurco	Obonuco	3.871.785	0.001	0.001820	999	19
Cabrera	Genoy	3.992.740	0.001	0.001820	999	33
Mapachico	Santa Barbara	4.025.478	0.001	0.001820	999	28
El Encano	Jongovito	4.053.591	0.001	0.001820	999	46
Mapachico	San Fernando	4.101.652	0.001	0.001820	999	36

El Encano	San Fernando	4.271.563	0.001	0.001820	999	64
Cabrera	Mapachico	4.470.074	0.001	0.001820	999	37
La Laguna	Obonuco	4.548.184	0.001	0.001820	999	31
La Caldera	La Laguna	4.605.793	0.001	0.001820	999	57
Catambuco	Jongovito	4.913.959	0.001	0.001820	999	49
La Caldera	Santa Barbara	4.993.247	0.001	0.001820	999	51
El Encano	Mapachico	5.235.724	0.001	0.001820	999	50
Cabrera	La Caldera	5.259.135	0.001	0.001820	999	60
La Caldera	San Fernando	5.303.524	0.001	0.001820	999	59
El Encano	Mocondino	5.621.752	0.001	0.001820	999	67
Genoy	San Fernando	5.680.305	0.001	0.001820	999	32
Obonuco	Santa Barbara	5.960.809	0.001	0.001820	999	25
Catambuco	Santa Barbara	6.592.474	0.001	0.001820	999	59
El Encano	Obonuco	6.793.937	0.001	0.001820	999	47
Catambuco	La Laguna	7.084.307	0.001	0.001820	999	65
Cabrera	Obonuco	7.209.723	0.001	0.001820	999	34
Obonuco	San Fernando	7.770.328	0.001	0.001820	999	33
El Encano	La Caldera	8.425.436	0.001	0.001820	999	73
Catambuco	San Fernando	9.472.390	0.001	0.001820	999	67
Cabrera	Catambuco	9.763.295	0.001	0.001820	999	68
Catambuco	El Encano	12.370.344	0.001	0.001820	999	81

Anexo G

Índices de alfa diversidad a nivel de filo y género para todas las variables evaluadas

Nivel taxonómico	Filo (p < 0.05)				Género (p < 0.05)			
	Índice	Chao1	Shannon	Simpson	Fisher	Chao1	Shannon	Simpson
Segmento	0.466	0.762	0.831	0.466	0.151	0.004	0.001	0.151
Género	0.0005	0.0004	0.001	0.0005	0.006	0.073	0.161	0.006
Enteritis	0.089	0.073	0.132	0.089	0.036	0.340	0.316	0.036
Colitis	0.830	0.464	0.306	0.830	0.334	0.004	0.001	0.334
Instalación	0.627	0.665	0.508	0.627	0.969	0.979	0.899	0.969
Desinfección	0.885	0.152	0.252	0.885	0.871	0.152	0.283	0.871
Enfermedades	0.267	0.001	0.0018	0.267	0.082	0.216	0.306	0.082
MC-Iver	0.476	0.267	0.215	0.476	0.768	0.267	0.328	0.768
MC-enro	1	0.366	0.309	1	1	0.636	0.964	1
MC-cipro	0.252	0.936	0.762	0.252	0.395	0.786	0.836	0.395
MC-antipara	0.038	0.046	0.146	0.038	0.100	0.041	0.061	0.100
MC-Nat	0.92	0.124	0.212	0.92	0.234	0.541	0.513	0.234
Otras especies	0.92	0.124	0.212	0.92	0.234	0.541	0.513	0.234
Otras-conejos	0.199	0.668	0.320	0.199	1	0.513	0.484	1
Otras-perros	0.699	0.003	0.0003	0.699	0.124	1	1	0.124
Ap-raigrass	0.533	0.528	0.379	0.533	0.697	0.683	0.665	0.697
Ap-saboya	0.057	0.138	0.237	0.057	0.238	0.090	0.164	0.238
Ap-brasilero	0.620	0.833	0.931	0.620	0.210	0.683	0.720	0.210
Ap-trebol	0.492	0.937	0.600	0.492	0.385	0.135	0.258	0.385
Num-forrajes	0.076	0.014	0.003	0.076	0.199	0.832	0.877	0.199
Frecuencia-Ap	0.252	0.9366	0.762	0.252	0.395	0.786	0.836	0.395
Vit/Min	0.964	0.376	0.388	0.964	0.378	0.939	0.752	0.378

Anexo H

Permanova de los tejidos ponderado y no ponderado para todas las variables

Weighted Unifrac Distance		Unweighted Unifrac Distance	
Diferencias significativas entre grupos de variables (p < 0.05)	Diferencias No significativas entre grupos de variables (p > 0.05)	Diferencias significativas entre grupos de variables (p < 0.05)	Diferencias No significativas entre grupos de variables (p > 0.05)
Segmento	Segmento evaluado	Segmento evaluado	Segmento evaluado
-ciego - duodeno	-ciego - colon	-ciego - duodeno	-colon - heces
-ciego - yeyuno	-colon - duodeno	-ciego - yeyuno	-duodeno - yeyuno
-ciego - íleon	-colon - yeyuno	-ciego - íleon	-duodeno - íleon
-ciego - heces	-colon - íleon	-ciego - colon	-íleon - yeyuno
-duodeno - heces	-colon - heces	-ciego - heces	▪ Tipo-animal
-heces - íleon	-duodeno - heces	-colon - duodeno	▪ Enteritis
-heces - yeyuno	▪ Tipo-animal	-colon - yeyuno	▪ Instalación
	▪ Enteritis	-colon - íleon	▪ Alojamiento
	▪ Instalación	-duodeno - heces	▪ Pediluvio
	▪ Alojamiento	-heces - íleon	▪ Desinfección
	▪ Pediluvio	-heces - yeyuno	▪ Parásitos
	▪ Desinfección		▪ Enfermedades
	▪ Parásitos	▪ Sexo	▪ MC-iver
	▪ Enfermedades	-macho - hembra	▪ MC-enro
	▪ MC-iver		▪ MC-cipro
	▪ MC-enro		▪ MC-antipara
	▪ MC-cipro		▪ MC-nat
	▪ MC-antipara		▪ Otras-especies
	▪ MC-nat		▪ Otras-conejos
	▪ Otras-especies		▪ Otras-perros
	▪ Otras-conejos		▪ Otras-aves
	▪ Otras-perros		▪ Otras-cerdos
	▪ Otras-aves		▪ Ap-kikuyo
	▪ Otras-cerdos		▪ Ap-ryegras
	▪ Ap-kikuyo		▪ Ap-saboya
	▪ Ap-ryegras		▪ Ap-brasilero
	▪ Ap-saboya		▪ Ap-trebol
	▪ Ap-brasilero		▪ Ap-caña
	▪ Ap-trebol		▪ Ap-maralfalfa
	▪ Ap-caña		▪ Núm-forrajes
	▪ Ap-maralfalfa		▪ Frecuencia-Ap
	▪ Núm-forrajes		▪ Vit/Min
	▪ Frecuencia-Ap		
	▪ Vit/Min		

Bibliografía

- Franklin, C. L., & Ericsson, A. C. (2017). Microbiota and reproducibility of rodent models. *Lab Animal*, *46*(4), 114–122. <https://doi.org/10.1038/lab.an.1222>.
- Knowles, S. C. L., Eccles, R. M., & Baltrūnaitė, L. (2019). Species identity dominates over environment in shaping the microbiota of small mammals. *Ecology Letters*, *22*(5), 826–837. <https://doi.org/10.1111/ele.13240>.
- Lee-Sarwar, K. A., Lasky-Su, J., Kelly, R. S., Litonjua, A. A., & Weiss, S. T. (2020). Metabolome–microbiome crosstalk and human disease. *Metabolites*, *10*(5), 1–10. <https://doi.org/10.3390/metabo10050181>.
- Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K. S., Manichanh, C., Nielsen, T., Pons, N., Levenez, F., Yamada, T., Mende, D. R., Li, J., Xu, J., Li, S., Li, D., Cao, J., Wang, B., Liang, H., Zheng, H., ... Zoetendal, E. (2010). A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, *464*(7285), 59–65. <https://doi.org/10.1038/nature08821>.
- Frémont, M., Coomans, D., Massart, S., & De Meirleir, K. (2013). High-throughput 16S rRNA gene sequencing reveals alterations of intestinal microbiota in myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome patients. *Anaerobe*, *22*, 50–56. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2013.06.002>.
- Zhang, X., Zhang, D., Jia, H., Feng, Q., Wang, D., Liang, D., Wu, X., Li, J., Tang, L., Li, Y., Lan, Z., Chen, B., Li, Y., Zhong, H., Xie, H., Jie, Z., Chen, W., Tang, S., Xu, X., ... Wang, J. (2015). The oral and gut microbiomes are perturbed in rheumatoid arthritis and partly normalized after treatment. *Nature Medicine*, *21*(8), 895–905. <https://doi.org/10.1038/nm.3914>.

- Brown, C. T., Davis-Richardson, A. G., Giongo, A., Gano, K. A., Crabb, D. B., Mukherjee, N., ... & Triplett, E. W. (2011). Gut microbiome metagenomics analysis suggests a functional model for the development of autoimmunity for type 1 diabetes. *PloS one*, 6(10), e25792. DOI: 10.1371/journal.pone.0025792.
- Ferreira-Halder, C. V., de Sousa Faria, A. V., & Andrade, S. S. (2017). Action and function of *Faecalibacterium prausnitzii* in health and disease. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 31(6), 643-648. OI: 10.1016/j.bpg.2017.09.011.
- Newbold CJ, Ramos-Morales E. (2020). Review: Ruminant microbiome and microbial metabolome: effects of diet and ruminant host. *Animal*. Mar;14(S1):s78-s86. doi: 10.1017/S1751731119003252. PMID: 32024572.
- Henderson, G., Cox, F., Ganesh, S., Jonker, A., Young, W., & Janssen, P. H. (2015). Rumen microbial community composition varies with diet and host, but a core microbiome is found across a wide geographical range. *Scientific reports*, 5(1), 14567. <https://doi.org/10.1038/srep14567>.
- Hildebrand, F., Ebersbach, T., Nielsen, H. B., Li, X., Sonne, S. B., Bertalan, M., ... & Licht, T. R. (2012). A comparative analysis of the intestinal metagenomes present in guinea pigs (*Cavia porcellus*) and humans (*Homo sapiens*). *BMC genomics*, 13(1), 1-11. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-514>.
- Caycedo, A. (2000). Experiencias Investigativas en la Producción de Cuyes (Facultad de Ciencias pecuarias (ed.); 1 ed). Contribución al desarrollo tecnológico de la explotación.
- Palakawong Na Ayudthaya, S., van der Oost, H., van der Oost, J., van Vliet, D. M., & Plugge, C. M. (2019). Microbial Diversity and Organic Acid Production of Guinea Pig Faecal Samples. *Current Microbiology*, 76, 425-434. doi: 10.1007/s00284-019-01630-x.

- Gobernación de Nariño, Agencia de Desarrollo Rural (ADR), Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura (FAO), and Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR). (2019). *II Plan Integral de Desarrollo Agropecuario y Rural Con Enfoque Territorial: Departamento de Nariño*.
- Avilés Esquivel, D. (2016). *Caracterización genética del cuy doméstico de América del Sur mediante marcadores moleculares*. [Tesis doctoral, Universidad de Córdoba]. Repositorio institucional de la Universidad de Córdoba <https://helvia.uco.es/handle/10396/13382>.
- Patiño Burbano RE, Cardona-Iglesias JL, Carlosama-Ojeda LD, Portillo-Lopez PA, Moreno DC. (2019). Zootechnical parameters of *Cavia porcellus* in production systems in Nariño and Putumayo (Colombia). *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 14(3), 29-41.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, Universidad Sergio Arboleda. (2017). *Consolidado Agropecuario del departamento de Nariño*.
- Pritt, S. (2012). Taxonomy and history. In *The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents* (pp. 563-574). Academic Press.
- Shomer, N. H., Holcombe, H., & Harkness, J. E. (2015). Biology and diseases of guinea pigs. In *Laboratory animal medicine* (pp. 247-283). Academic Press.
- Hargaden, M., & Singer, L. (2012). Anatomy, physiology, and behavior. In *The laboratory rabbit, Guinea pig, hamster, and other rodents* (pp. 575-602). Academic Press.
- Imam, J., Hambolu, J. O., Onyeanusi, B. I., Ayo, J. O., & Sulaiman, M. H. (2021). Morphological and Morphometric Studies of the Gastro-intestinal Tract of the Guinea Pig (*Cavia porcellus*-Linnaeus, 1758). *Journal of Veterinary Anatomy*, 14(1). doi: 10.21608/JVA.2021.163576.

- Stan, F. G. (2018). A Comparison Between the Macroscopic Anatomy of the Cecum in Laboratory Rat and Guinea Pig. *Bulletin of the University of Agricultural Sciences & Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Veterinary Medicine*, 75(1). doi:10.15835/buasvmcn-vm:002817.
- Frias, H., Valderrama, N. L. M., Flores, G. J., Cornejo, V. G., Del Solar, J. C., Romani, A. C., ... & Quintana, J. L. M. (2023a). An analysis of the cecum microbiome of three breeds of the guinea pig: Andina, inti, and Peru. *Research in Veterinary Science*. DOI: 10.1016/j.rvsc.2023.06.005.
- Sandoval Alarcón, H. F. (2013). *Evaluación de diferentes tipos de dietas en cobayos en crecimiento* [Tesis pregrado, Universidad Técnica de Ambato]. Repositorio institucional de la Universidad Técnica de Ambato <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/5224>.
- Takahashi, T., Karita, S., Yahaya, M. S., & Goto, M. (2005). Radial and Axial Variations of Bacteria within the Cecum and Proximal Colon of Guinea Pigs Revealed by PCR–DGGE. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 69(9), 1790-1792.
- Lecuit, M., Dramsi, S., Gottardi, C., Fedor-Chaiken, M., Gumbiner, B., & Cossart, P. (1999). A single amino acid in E-cadherin responsible for host specificity towards the human pathogen *Listeria monocytogenes*. *The EMBO journal*. 15;18(14):3956-63. doi: 10.1093/emboj/18.14.3956.
- Crowley, E. J., King, J. M., Wilkinson, T., Worgan, H. J., Huson, K. M., Rose, M. T., & McEwan, N. R. (2017). Comparison of the microbial population in rabbits and guinea pigs by next generation sequencing. *PloS one*, 12(2), e0165779. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165779>.
- Tang, C., Ma, J., Kong, F., Li, B., Du, Q., Zhang, Y., ... & Li, M. (2022). The Analysis of Transcriptomes and Microorganisms Reveals Differences between the Intestinal Segments of Guinea Pigs. *Animals*, 12(21), 2925. <https://doi.org/10.3390/ani12212925>.

Kers, J. G., Velkers, F. C., Fischer, E. A., Hermes, G. D., Lamot, D. M., Stegeman, J. A., & Smidt, H. (2019). Take care of the environment: housing conditions affect the interplay of nutritional interventions and intestinal microbiota in broiler chickens. *Animal Microbiome*, 1, 1-14. <https://doi.org/10.1186/s42523-019-0009-z>.

National Research Council. (2017). *Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio*. Ediciones UC.

Ley 84, diciembre 27 de 1989. El Congreso de Colombia. Por la cual se adopta el Estatuto Nacional de Protección de los Animales y se crean unas contravenciones y se regula lo referente a su procedimiento y competencia.

Ley 1774, enero 6 de 2016. El Congreso de Colombia. Por medio de la cual se modifican el código civil, la ley 84 de 1989, el código penal, el código de procedimiento penal y se dictan otras disposiciones.

Resolución 8430, octubre 4 de 1993. Ministerio de Salud. República de Colombia. Por la cual se establecen normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud.

Astaiza J., Benavides J., Chaves C., Arciniegas A., Quiroz. (2013). Estandarización de la técnica de necropsia en cuyes (*Cavia porcellus*) en la Universidad de Nariño. *Revista Investigación Pecuaria*. 2 (2): 77-83.

Camacho-Sanchez, M., Burraco, P., Gomez-Mestre, I., & Leonard, J. A. (2013). Preservation of RNA and DNA from mammal samples under field conditions. *Molecular ecology resources*, 13(4), 663-673. DOI: 10.1111/1755-0998.12108.

Paz, T. G. (2022). *Caracterización histológica de lesiones del tracto gastrointestinal e hígado del cuy (Cavia porcellus) en sistemas de producción del Municipio de Pasto – Nariño*. [Tesis

maestría, Universidad Nacional de Colombia].

Faith, J. J., Guruge, J. L., Charbonneau, M., Subramanian, S., Seedorf, H., Goodman, A. L., ... & Gordon, J. I. (2013). The long-term stability of the human gut microbiota. *Science*, 341(6141), 1237439. <https://doi.org/10.1126/>

Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Lozupone, C. A., Turnbaugh, P. J., ... & Knight, R. (2011). Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proceedings of the national academy of sciences*, 108(supplement_1), 4516-4522. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000080107>.

Caro-Quintero, A., & Ochman, H. (2015). Assessing the unseen bacterial diversity in microbial communities. *Genome biology and evolution*, 7(12), 3416-3425. DOI: 10.1093/gbe/evv234.

Bolyen, E., Rideout, J.R., Dillon, M.R. et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat Biotechnol* 37, 852–857 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>.

Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature methods*, 13(7), 581-583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>.

Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO (2012) The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res* 41: D590–D596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>.

Lozupone, C. A., Hamady, M., Kelley, S. T., & Knight, R. (2007). Quantitative and qualitative β diversity measures lead to different insights into factors that structure microbial communities. *Applied and environmental microbiology*, 73(5), 1576-1585. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.01996-06>.

- Lozupone, C., & Knight, R. (2005). UniFrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities. *Applied and environmental microbiology*, 71(12), 8228-8235. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.71.12.8228-8235.2005>.
- Aßhauer, K. P., Wemheuer, B., Daniel, R., & Meinicke, P. (2015). Tax4Fun: predicting functional profiles from metagenomic 16S rRNA data. *Bioinformatics*, 31(17), 2882-2884. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv287>.
- Kanehisa, M., & Goto, S. (2000). KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic acids research*, 28(1), 27-30. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.27>.
- Li, H., Li, T., Beasley, D. E., Heděnc, P., Xiao, Z., Zhang, S., ... & Li, X. (2016). Diet diversity is associated with beta but not alpha diversity of pika gut microbiota. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1169. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01169>.
- Cázares-Olivera, M., Miroszewska, D., Hu, L., Kowalski, J., Jaakkola, U. M., Salminen, S., ... & Chen, Z. (2022). Animal unit hygienic conditions influence mouse intestinal microbiota and contribute to T-cell-mediated colitis. *Experimental Biology and Medicine*, 247(19), 1752-1763.
- Saraswati, S., & Sitaraman, R. (2015). Aging and the human gut microbiota—from correlation to causality. *Frontiers in microbiology*, 5, 764.
- Wu, G. D., Chen, J., Hoffmann, C., Bittinger, K., Chen, Y. Y., Keilbaugh, S. A., ... & Lewis, J. D. (2011). Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*, 334(6052), 105-108.

- Zhang, C., Zhang, M., Pang, X., Zhao, Y., Wang, L., & Zhao, L. (2012). Structural resilience of the gut microbiota in adult mice under high-fat dietary perturbations. *The ISME journal*, 6(10), 1848-1857.
- McCallum, G., & Tropini, C. (2024). The gut microbiota and its biogeography. *Nature Reviews Microbiology*, 22(2), 105-118.
- Larabi, A. B., Masson, H. L., & Bäumler, A. J. (2023). Bile acids as modulators of gut microbiota composition and function. *Gut Microbes*, 15(1), 2172671.
- Santos Junior, M. N., Macedo Neres, N. S. D., Campos, G. B., Bastos, B. L., Timenetsky, J., & Marques, L. M. (2021). A review of *Ureaplasma diversum*: a representative of the Mollicute class associated with reproductive and respiratory disorders in cattle. *Frontiers in veterinary science*, 8, 572171.
- Miyake, S., Ngugi, D. K., & Stingl, U. (2016). Phylogenetic diversity, distribution, and cophylogeny of giant bacteria (*Epolopiscium*) with their surgeonfish hosts in the Red Sea. *Frontiers in microbiology*, 7, 285.
- Yang, J., Li, Y., Wen, Z., Liu, W., Meng, L., & Huang, H. (2021). *Oscillospira*-a candidate for the next-generation probiotics. *Gut microbes*, 13(1), 1987783.
- Maier, T. V., Lucio, M., Lee, L. H., VerBerkmoes, N. C., Brislawn, C. J., Bernhardt, J., ... & Jansson, J. K. (2017). Impact of dietary resistant starch on the human gut microbiome, metaproteome, and metabolome. *MBio*, 8(5), 10-1128.

- Hongoh, Y., Deevong, P., Hattori, S., Inoue, T., Noda, S., Noparatnaraporn, N., ... & Ohkuma, M. (2006). Phylogenetic diversity, localization, and cell morphologies of members of the candidate phylum TG3 and a subphylum in the phylum Fibrobacteres, recently discovered bacterial groups dominant in termite guts. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(10), 6780-6788.
- Ransom-Jones, E., Jones, D. L., McCarthy, A. J., & McDonald, J. E. (2012). The Fibrobacteres: an important phylum of cellulose-degrading bacteria. *Microbial ecology*, 63, 267-281.
- Goertz, S., de Menezes, A. B., Birtles, R. J., Fenn, J., Lowe, A. E., MacColl, A. D., ... & Taylor, C. H. (2019). Geographical location influences the composition of the gut microbiota in wild house mice (*Mus musculus domesticus*) at a fine spatial scale. *PloS one*, 14(9), e0222501. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222501>.
- Trujillo, S. M., McKenney, E. A., Hilderbrand, G. V., Mangipane, L. S., Rogers, M. C., Joly, K., ... & Lafferty, D. J. (2022). Intrinsic and extrinsic factors influence on an omnivore's gut microbiome. *PloS one*, 17(4), e0266698.
- Dao, T. K., Do, T. H., Le, N. G., Nguyen, H. D., Nguyen, T. Q., Le, T. T. H., & Truong, N. H. (2021). Understanding the role of *Prevotella* genus in the digestion of lignocellulose and other substrates in Vietnamese native goats' rumen by metagenomic deep sequencing. *Animals*, 11(11), 3257.
- Narayanasamy, S., Chan, K. L., Cai, H., Abdul Razak, A. H. B., Tay, B. K., & Miao, H. (2020). Biobutanol production from sugarcane bagasse by *Clostridium beijerinckii* strains. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 67(5), 732-737.
- Frias, H., Valderrama, N. L. M., Durand, G. J. F., Cornejo, V. G., Romani, A. C., Bardales, W., ... & Quintana, J. L. M. (2023b). Comparative analysis of fasting effects on the cecum microbiome in three guinea pig breeds: Andina, Inti, and Peru. *Frontiers in Microbiology*,

14. doi: 10.3389/fmicb.2023.1283738.

Wang, Z., Zhang, C., Li, G., & Yi, X. (2022). The influence of species identity and geographic locations on gut microbiota of small rodents. *Frontiers in Microbiology*, 13, 983660. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.983660>.

Wu, X., Wei, Q., Wang, X., Shang, Y., & Zhang, H. (2022). Evolutionary and dietary relationships of wild mammals based on the gut microbiome. *Gene*, 808, 145999. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2021.145999>.

Hu, X., Liu, G., Shafer, A. B., Wei, Y., Zhou, J., Lin, S., ... & Liu, S. (2017). Comparative analysis of the gut microbial communities in forest and alpine musk deer using high-throughput sequencing. *Frontiers in Microbiology*, 8, 572. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00572>.

Bensch, H. M., Tolf, C., Waldenström, J., Lundin, D., & Zöttl, M. (2023). Bacteroidetes to Firmicutes: captivity changes the gut microbiota composition and diversity in a social subterranean rodent. *Animal Microbiome*, 5(1), 1-11. <https://doi.org/10.1186/s42523-023-00231-1>.

Brabb, T., Newsome, D., Burich, A., & Hanes, M. (2012). Infectious diseases. In: *The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents*, 637-683.

Bowerman, K. L., Knowles, S. C., Bradley, J. E., Baltrūnaitė, L., Lynch, M. D., Jones, K. M., & Hugenholtz, P. (2021). Effects of laboratory domestication on the rodent gut microbiome. *ISME communications*, 1(1), 49. <https://doi.org/10.1038/s43705-021-00053-9>.

Warriner, K., & Namvar, A. (2017). Current Challenges in Enhancing the Microbiological Safety of Raw Meat. In *New aspects of meat quality* (pp. 191-222). Woodhead Publishing.

- Collado, L. (2020). Diagnóstico microbiológico y vigilancia epidemiológica de la campilobacteriosis en Chile: Situación actual y desafíos futuros. *Revista chilena de infectología*, 37(3), 244-251.
- ACHIPIA. Agencia Chilena para la Inocuidad y Calidad Alimentaria. 2017. *Campylobacter spp.*
- McCallum, G., & Tropini, C. (2023). The gut microbiota and its biogeography. *Nature Reviews Microbiology*, 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00969-0>.
- Tournelle Kimura, P. M. (2013). Prevalencia y diversidad de bacterias pertenecientes al género *Streptococcus* en saliva de niños pre-escolares chilenos entre 2 y 5 años de edad con y sin caries. [Tesis cirujano dentista, Universidad de Chile] Repositorio <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/117563>.
- Meseguer-Peinado, M. A., Acosta-Boga, B., Matas-Andreu, L., & Codina-Grau, G. (2012). Diagnóstico microbiológico de las infecciones por *Mycoplasma*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 30(8), 500-504.
- Swanson, M. T., Henson, M. W., Handika, H., Achmadi, A. S., Anita, S., Rowe, K. C., & Esselstyn, J. A. (2023). Mycoplasmataceae dominate microbial community differences between gut regions in mammals with a simple gut architecture. *Journal of Mammalogy*, 104(1), 146-158.
- Abdallah, F., & Gharib, H. S. (2024). Studying caecotrophy behaviour (complete and censored) in three rabbit breeds at four seasons using different survival techniques. *Assiut Veterinary Medical Journal*, 70(180), 26-37.