


Explorando la microbiota bacteriana fecal bovina en la Reserva de la Biosfera de Mapimí, norte de México



Irene Pacheco-Torres ^a

Cristina García-De la Peña ^{b*}

César Alberto Meza-Herrera ^a

Felipe Vaca-Paniagua ^{c,d,e}

Clara Estela Díaz-Velásquez ^c

Claudia Fabiola Méndez-Catalá ^c

Luis Antonio Tarango-Arámbula ^f

Luis Manuel Valenzuela-Núñez ^b

Jesús Vásquez-Arroyo ^g

^a Universidad Autónoma Chapingo. Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas, Bermejillo, Durango, México.

^b Universidad Juárez del Estado de Durango. Facultad de Ciencias Biológicas, Av. Universidad s/n Fracc. Filadelfia, 35010 Gómez Palacio, Durango, México.

^c Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Laboratorio Nacional en Salud, Diagnóstico Molecular y Efecto Ambiental en Enfermedades Crónico-Degenerativas. Tlalnepantla, Estado de México.

^d Instituto Nacional de Cancerología. Ciudad de México, México.

^e Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala Unidad de Biomedicina, Tlalnepantla, Estado de México, México.

^f Colegio de Postgraduados, Campus San Luis Potosí, Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí, México.

§ Universidad Juárez del Estado de Durango. Facultad de Ciencias Químicas. Gómez Palacio, Durango, México.

* Autor de correspondencia: cristina.garcia@ujed.mx

Resumen:

En México la información sobre la microbiota fecal bovina (*Bos taurus*) es escasa. El presente estudio describe la diversidad y abundancia de bacterias en muestras fecales de bovinos en pastizales, recolectadas en la Reserva de la Biosfera de Mapimí en la parte central del desierto chihuahuense. Las muestras fecales se analizaron mediante secuenciación masiva de siguiente generación de alto rendimiento utilizando la V3-V4 del ARNr 16S en Miseq de Illumina. Se identificaron un total de 17 filos, 24 clases, 33 órdenes, 50 familias, 281 géneros y 297 especies. Firmicutes y Verrucomicrobia fueron los filos más abundantes. Los géneros más abundantes fueron *Sporobacter*, PAC000748_g (géneros de la familia Ruminococcaceae) y *Eubacterium_g23*. Se registraron tres géneros (*Clostridium*, *Corynebacterium* y *Fusobacterium*) y una especie (*Campylobacter fetus*) de bacterias bovinas potencialmente patógenas. Esta información representa una línea base bacteriológica para monitorear el estado de salud intestinal de bovinos en pastoreo y para rastrear posibles interacciones con la microbiota fecal de la fauna nativa itinerante del área.

Palabras clave: *Bos taurus*; *Campylobacter fetus*; Diversidad bacteriana; Gen ARNr 16S; Secuenciación masiva.

Recibido: 13/01/2022

Aceptado: 06/04/2022

Introducción

La comunidad microbiana del sistema gastrointestinal del ganado sigue siendo poco estudiada. Debido a su influencia en la absorción de nutrientes, la productividad, el reservorio potencial de patógenos humanos y animales, así como la salud animal en general, existe la necesidad de comprender mejor las comunidades microbianas del intestino de los bovinos⁽¹⁾. Recientemente, la secuenciación de alto rendimiento utilizando amplicones de ARNr 16S ha proporcionado información más profunda sobre la composición de la microbiota fecal bovina, y los resultados obtenidos hasta la fecha indican una alta diversidad⁽²⁾.

La parte central del desierto chihuahuense en México tiene una alta diversidad de fauna silvestre^(3,4). El bovino (*Bos taurus*) ha sido criado como ganado de pastoreo desde su introducción a finales del siglo XVI, siendo la actividad económica más importante en esta área⁽⁵⁾. Sin embargo, esta actividad es la principal razón del deterioro ecológico que afecta a la fauna silvestre; por ejemplo, esta especie de rumiante compite por los recursos forrajeros con especies animales endémicas (es decir, *Gopherus flavomarginatus*, tortuga del Bolsón)⁽³⁾. El pastoreo de ganado también ejerce una fuerte presión sobre las poblaciones vegetales, modificando su cobertura; esto puede aumentar la susceptibilidad a la erosión del suelo en este desierto^(3,6).

El microbioma intestinal del ganado tiene muchas especies microbianas que juegan un papel importante en la salud y la productividad^(7,8). Estos microbios son esenciales para la fermentación de la materia vegetal consumida que se convierte en energía para el hospedero⁽⁹⁾. No obstante, los bovinos transportan de forma asintomática especies bacterianas que son patógenos potenciales para la fauna silvestre, como *Escherichia coli*, *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp. y *Listeria* spp.^(6,10). En los últimos años, el uso extensivo de la tierra para la agricultura ha aumentado las densidades de las poblaciones de ganado, creando correlaciones positivas con infecciones patógenas por bacterias fecales⁽¹¹⁾. Sin embargo, el conocimiento sobre la diversidad bacteriana fecal de bovinos bajo sistemas de manejo de pastoreo es relativamente escaso⁽¹²⁾. Este estudio tuvo como objetivo explorar por primera vez la diversidad y abundancia de bacterias fecales de bovinos bajo condiciones marginales de pastoreo en la Reserva de la Biosfera de Mapimí, centro del desierto chihuahuense, utilizando secuenciación de siguiente generación (ARNr 16S).

Material y métodos

Todos los métodos y actividades de este estudio estuvieron en estricta conformidad con las pautas aceptadas para el uso ético, el cuidado y el bienestar de los animales en investigación a nivel internacional⁽¹³⁾ y nacional⁽¹⁴⁾, con número de referencia de aprobación institucional UJED-FCB-2018-07.

Área de estudio

El estudio se desarrolló en la localidad de Mohovano de las Lilas, al noreste de la Reserva de la Biosfera de Mapimí en México (26°00' y 26°10'N, 104°10' y 103°20'O) en el centro del desierto chihuahuense. Esta zona tiene un clima cálido, muy árido, con una temperatura promedio anual de 25.5 °C, y una precipitación promedio anual de 264 mm. La vegetación predominante es matorral rosetófilo y micrófilo, así como plantas halófitas y gipsófilas⁽¹⁵⁾.

Trabajo de campo

En julio de 2018 se recolectaron tres muestras fecales frescas de tres bovinos macho sanos. De cada muestra fecal se recolectaron 0.25 g del centro de la muestra y se depositaron en tubos de lisis celular BashingBead™ (Zymo Research Corp.) agregando 750 µl de solución lisante/estabilizadora. Cada tubo se procesó en un disruptor celular TerraLyzer™ (Zymo Research Corp.) durante 20 seg de acuerdo con las especificaciones del equipo.

Trabajo de laboratorio

El ADN se extrajo de las muestras utilizando el kit Soil/Fecal DNA MiniPrep Xpedition™ (Zymo Research Corp.) en una campana de flujo laminar UV en condiciones estériles. La cantidad de ADN obtenida se midió en un fluorímetro Qubit™ (Invitrogen). Luego, la región V3-V4 del gen ARNr 16S se amplificó utilizando los siguientes iniciadores⁽¹⁶⁾: S-D-Bact-0341-b-S-17, 5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3' y S-D-Bact-0785-a-A-21, 5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3'. El paso posterior a la secuenciación se realizó utilizando un protocolo de Illumina^(17,18) y en lo sucesivo, las muestras se secuenciaron en extremos emparejados de 2 × 250 de MiSeq. El proceso completo de secuenciación está disponible en García-De la Peña *et al*⁽¹⁹⁾.

Disponibilidad de datos

Los archivos utilizados en este estudio se depositaron en la base de datos Sequence Read Archive (SRA) del NCBI (Número de acceso: PRJNA614584).

Análisis bioinformático

Las secuencias de ADN se analizaron utilizando el software bioinformático Quantitative Insights into Microbial Ecology (QIIME)⁽²⁰⁾. Tanto las secuencias hacia adelante como hacia atrás se ensamblaron utilizando el programa PEAR⁽²¹⁾, considerando Q30 el criterio de calidad (una base falsa por cada 1,000 bases). Las secuencias quiméricas se descartaron con USEARCH⁽²²⁾. Luego, las unidades taxonómicas operativas (UTO) se seleccionaron con el método UCLUST⁽²²⁾ con una similitud del 97 %; se obtuvo una secuencia representativa para cada UTO, y la taxonomía se asignó utilizando la base de datos EzBioCloud como referencia⁽²³⁾. Se realizó un proceso de rarefacción aleatoria simple⁽²⁴⁾ con el fin de obtener un archivo estandarizado para todas las muestras. La abundancia relativa para los niveles de filo y familia se representó como gráficas de barras apiladas utilizando R, y el nivel de género se visualizó como un mapa de calor utilizando el software Morpheus (Morpheus, <https://software.broadinstitute.org/morpheus>); se utilizó el agrupamiento jerárquico (método

de enlace promedio con distancia euclidiana) para visualizar el dendrograma de las muestras⁽²⁵⁾.

Resultados y discusión

En este estudio el número promedio de secuencias ensambladas fue de 155,915. Se obtuvo una media de $109,814 \pm 16,686$ secuencias bacterianas después de la designación taxonómica. El número promedio de UTO con un 97 % de similitud fue de $6,661 \pm 431$ (Cuadro 1).

Cuadro 1: Información de secuencias fecales de *Bos taurus* en la localidad de Mohovano de las Lilas, Reserva de la Biosfera de Mapimí, México

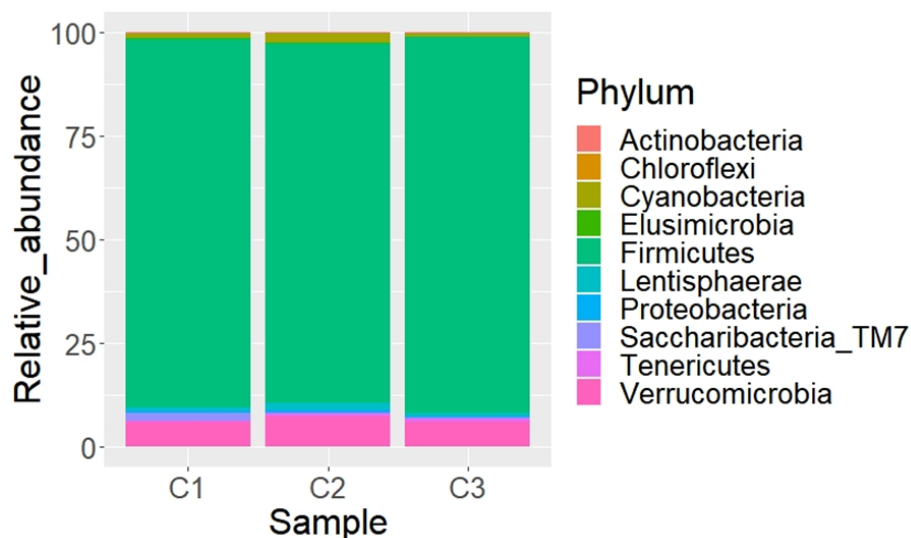
| Muestra | Total | Ensambladas | Descartadas | SB | SBS | UTO |
|---------|---------|-------------|-------------|---------|---------|-------|
| 1 | 322,428 | 138,862 | 183,566 | 131,275 | 98,084 | 6,293 |
| 2 | 223,470 | 145,379 | 78,091 | 136,807 | 102,441 | 6,556 |
| 3 | 305,380 | 183,506 | 121,874 | 173,177 | 128,916 | 7,135 |
| Media | 283,759 | 155,915 | 127,843 | 147 086 | 109 814 | 6,661 |

SB= secuencias de bacterias después de la designación taxonómica, SBS= secuencias de bacterias después de la eliminación de *singletons*; UTO= unidades taxonómicas operativas.

Se determinó un total de 17 filos, 24 clases, 33 órdenes, 50 familias, 281 géneros y 297 especies. Los filos más abundantes (Figura 1) fueron Firmicutes ($\bar{x} = 88.9\%$) y Verrucomicrobia ($\bar{x} = 6.4\%$). Los mismos filos se reportaron en ganado Mongol en pastoreo en los pastizales de Hulunbuir y el desierto de Alxa en China⁽²⁶⁾. Estos filos se consideran componentes normales en la microbiota fecal básica de los herbívoros domésticos^(27,28) y otras especies de rumiantes^(29,30). Firmicutes ha sido reportado como el filo más frecuente en muestras fecales de bovinos, equinos^(2,31,32) y ciervos rojos⁽³³⁾. Esta abundancia está relacionada con el alto consumo de fibra⁽³⁴⁾. Verrucomicrobia fue el segundo filo abundante en las muestras de ganado en este estudio. Aricha *et al*⁽²⁶⁾ determinaron que este filo era muy abundante en el tracto intestinal del ganado mongol en pastoreo en el desierto de Alxa, y argumentan que esto puede estar relacionado con la resistencia extremadamente fuerte a las enfermedades de esta raza de ganado. Es importante analizar más adelante si este filo confiere resistencia a las enfermedades del ganado en la reserva de Mapimí, lo que representaría una ventaja para la salud del bovino en esta zona. Asimismo, se reportó Bacteroidetes en estudios previos en Mongol⁽²⁶⁾, y Holstein Friesian⁽³⁶⁾ como el segundo filo más abundante en otras especies de ganado como la Angus de carne en pastoreo y en estabulación⁽³⁵⁾. Sin embargo,

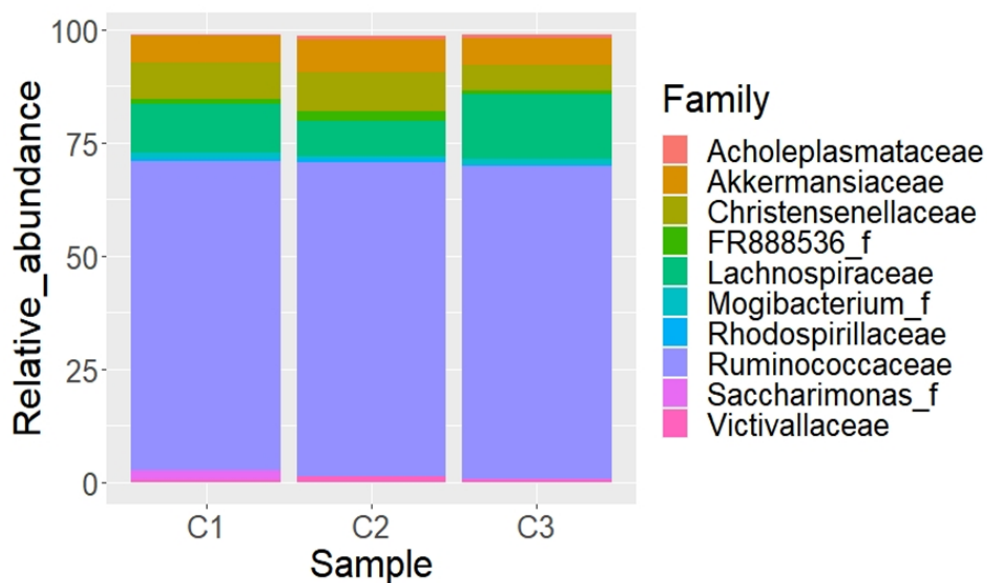
Bacteroidetes se encontró en una proporción mínima (0.001 %) en las muestras de ganado de la reserva de Mapimí. Esta disparidad puede estar relacionada con el tipo de dieta⁽³⁷⁾, las diferencias geográficas⁽²⁶⁾, y el ambiente en el que se distribuyen⁽³⁸⁾. Sin embargo, esta información sólo puede confirmarse mediante el desarrollo de estudios específicos al respecto.

Figura 1: Abundancia relativa (%) de taxa de bacterias fecales (nivel de filo) de tres muestras de *Bos taurus* en la localidad de Mohovano de las Lilas. Solo se muestran los primeros 10 filos más abundantes



A nivel de familia, Ruminococcaceae ($\bar{x} = 68.9\%$) y Lachnospiraceae ($\bar{x} = 10.9\%$) fueron abundantes en las muestras fecales recolectadas; ambas familias se encuentran en el ambiente intestinal de los mamíferos y se han asociado con una buena salud⁽³⁹⁾, Figura 2. Algunos géneros de la familia Ruminococcaceae son parte de la microbiota intestinal normal de bovinos, ovinos y caprinos, metabolizando la celulosa y colonizando el rumen⁽⁴⁰⁾; estos taxa de bacterias son importantes para la degradación y fermentación de polisacáridos en la dieta de los rumiantes⁽⁴¹⁾. Además, se ha reportado que miembros de la familia Lachnospiraceae exhiben actividades de hidrólisis de pectina en el rumen del ganado⁽⁴²⁾ asociadas a la producción de ácido butírico y a la proporción de energía para el crecimiento de células epiteliales intestinales⁽⁴³⁾. La alta abundancia de Lachnospiraceae en el ganado protege el intestino y actúa como una barrera que favorece la adaptación del hospedero a su entorno; también promueve una disminución en la incidencia de enfermedades intestinales⁽²⁶⁾.

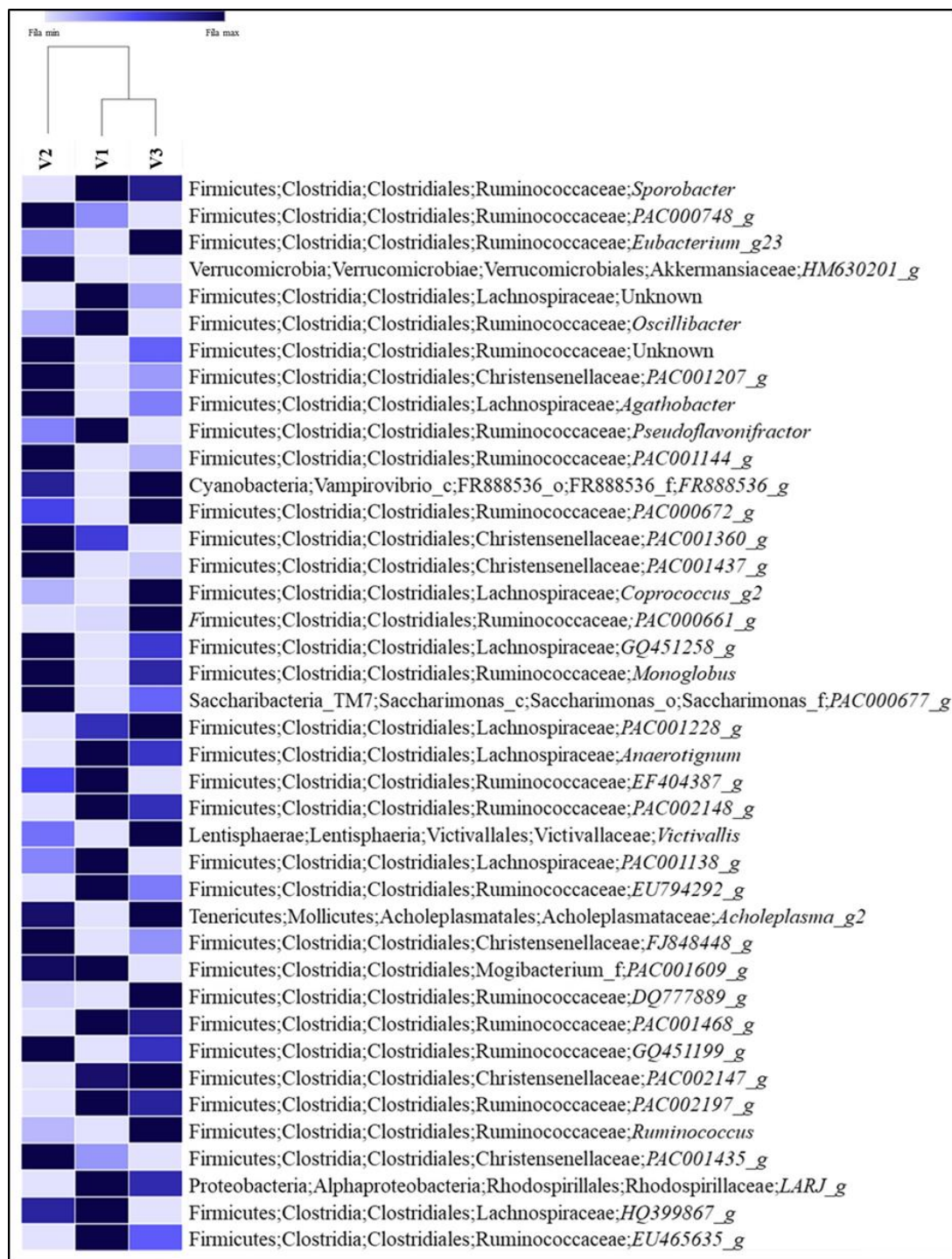
Figura 2: Abundancia relativa (%) de taxa de bacterias fecales (nivel de familia) de tres muestras de *Bos taurus* en la localidad de Mohovano de las Lilas. Solo se muestran las primeras 10 familias más abundantes



De los 281 géneros clasificados encontrados en este estudio, el 36.6 % tiene un nombre taxonómico; este porcentaje es mayor que el reportado por Kim y Wells⁽⁴⁴⁾ en heces de ganado, donde solo se clasificaron 110 géneros, y alrededor del 41 % de las secuencias totales no pudieron ser asignadas a un género conocido (Figura 3). Sin embargo, los resultados aquí mostrados aumentan el número de géneros de la microbiota fecal de *B. taurus* reportados previamente^(12,45,46), que confirmó que la microbiota bacteriana fecal es extremadamente diversa en el ganado, y aún no se ha descrito completamente. *Sporobacter* fue el género más abundante encontrado en las muestras fecales de ganado en este estudio. Este género se reportó en alpaca⁽⁴⁷⁾, ciervo sica⁽²⁸⁾, caballo⁽⁴⁸⁾, burro⁽⁴⁹⁾, y las tortugas del Bolsón *Gopherus flavomarginatus*⁽¹⁹⁾. Este género está relacionado con la digestión de la materia lignocelulósica de las plantas; sin embargo, se sabe relativamente poco sobre el papel de esta bacteria en el proceso de degradación⁽⁵⁰⁾. Durso *et al*⁽⁵¹⁾ reportaron a *Faecalibacterium*, *Ruminococcus*, *Roseburia* y *Clostridium* como componentes importantes de la microbiota fecal bovina. Estos géneros también se determinaron en el presente estudio. De acuerdo con algunos estudios^(52,53), estas bacterias constituyen del 50 al 70 % del número total de microorganismos en el sistema digestivo de los rumiantes. Estos animales tienen taxa microbianos intestinales específicos ya que dependen de estas bacterias para extraer energía y nutrientes de los alimentos⁽⁵⁴⁾, además de tener adaptaciones anatómicas y fisiológicas especializadas para la fermentación celulolítica de baja nutrición -material vegetal alto en fibra-⁽⁵⁵⁾. La presencia de otros géneros bacterianos reportados en este estudio podría ser el resultado de factores ambientales y genéticos, edad, raza, dieta, filogenia, entre otros^(56,57,58). Recientemente^(56,59,60) se demostró que los animales herbívoros tienen la microbiota más

diversa, ya que dependen de las vías metabólicas microbianas para maximizar la extracción de energía y nutrientes de la alimentación⁽⁶¹⁾.

Figura 3: Mapa de calor de la muestra de bacterias fecales de *Bos taurus* a nivel de género en la localidad de Mohovano de las Lilas. Sólo se muestran los primeros 40 géneros más abundantes



Aunque el microbioma intestinal generalmente permanece estable en el tiempo, ayudando como sistema de defensa contra patógenos y otros agentes causantes de enfermedades en el hospedero, la alteración de esta comunidad puede conducir a enfermedades animales^(62,63). En el presente estudio las muestras recolectadas se obtuvieron de bovinos aparentemente sanos. Sin embargo, en estos animales se encontraron bacterias consideradas de importancia veterinaria; esto podría ser un riesgo potencial para la salud porque son portadores de estos microorganismos. Por ejemplo, *Campylobacter*, *Clostridium*, *Corynebacterium* y *Fusobacterium* se encontraron en las muestras fecales. Estos géneros se han asociado con enfermedades del ganado. *Campylobacter* ha sido reportado como una causa de infertilidad y aborto en rumiantes^(64,65); también representa una amenaza crítica para la salud pública, porque puede transmitirse del ganado a los humanos^(66,67,68). *Clostridium* ha sido reportado causando enfermedades y muerte en rumiantes, especialmente en ganado; ejemplos son las enfermedades respiratorias⁽⁶⁹⁾, el botulismo⁽⁷⁰⁾ y la pierna negra⁽⁷¹⁾. *Corynebacterium* ha sido reportado en bovinos de carne y leche asociado con enfermedades renales⁽⁷²⁾, mastitis^(73,74) y tuberculosis^(75,76,77); asimismo, se considera como un importante patógeno emergente para los humanos⁽⁷⁸⁾. Finalmente, *Fusobacterium* fue reportado por otros⁽⁷⁹⁻⁸²⁾, causando abscesos en el ganado. Es importante desarrollar otros estudios que proporcionen información sobre la patogenicidad y dinámica de estos patógenos potenciales en los bovinos de la reserva de Mapimí.

A nivel de especie, *Pseudobacteroides cellulosolvens* y *Campylobacter fetus* se registraron en el presente estudio. *Pseudobacteroides cellulosolvens* es una bacteria anaeróbica que degrada los polisacáridos y celulósicos de la pared celular de las plantas, siendo capaz de utilizar la celulosa o celobiosa como única fuente de carbono⁽⁸³⁾. *Campylobacter fetus* es una especie relevante; los principales reservorios de esta bacteria son tanto el tracto intestinal como el genital en bovinos y ovinos^(64,65). Esta especie causa aborto espontáneo e infertilidad en el ganado, además de ser un patógeno oportunista para los humanos⁽⁸⁴⁾.

Debido al manejo de pastoreo libre en la Reserva de Mapimí, las heces bovinas permanecen sobre el suelo hasta que los procesos naturales las degradan. En consecuencia, la fauna nativa puede estar en contacto con estas heces, aumentando la probabilidad de transmisión interespecífica de algunas bacterias⁽⁸⁵⁾. Aunque previamente se ha reportado que no hay evidencia de infección cruzada por parásitos entre el ganado y el ciervo mulo en la Reserva de la Biosfera de Mapimí⁽⁸⁶⁾, es importante aclarar si este mismo escenario se presenta para las bacterias. McAllister y Topp⁽⁸⁷⁾ estiman que alrededor del 77 % de los patógenos que suelen infectar al ganado también pueden afectar a la fauna silvestre. No obstante, la fauna silvestre también es considerada una fuente importante de microorganismos que podrían causar enfermedades infecciosas a los animales domésticos y a los humanos^(88,89). Por estas razones, es importante desarrollar estudios enfocados en la gestión del riesgo en la interfaz de especies domésticas y fauna nativa, considerando las implicaciones para la transmisión de microorganismos con potencial patógeno^(88,89). Esta información podría llevar a establecer

estrategias de control microbiológico para las poblaciones de fauna silvestre y de ganado dentro de la zona.

Conclusiones e implicaciones

La información sobre la microbiota fecal de bovinos en condiciones de pastoreo extensivo es escasa. Desde la perspectiva económica, ecológica y sanitaria, es crucial determinar la diversidad bacteriana -desde el filo hasta la especie-, en el intestino de los rumiantes domésticos. El presente estudio es la primera visión de la composición bacteriana fecal de los bovinos en la Reserva de la Biosfera de Mapimí en México utilizando la secuenciación de siguiente generación. Esta información amplía significativamente el conocimiento sobre la composición y abundancia de las bacterias que forman parte de la comunidad microbiológica del intestino bovino. En este caso, el abordaje fue a través del análisis de heces en ganado en pastoreo libre. Aunque se reportó un gran número de taxa bacterianos a partir de las muestras recolectadas, no fue posible determinar el género o la especie de algunas bacterias, por lo que todavía es necesario profundizar en la taxonomía utilizando marcadores moleculares específicos. Sin embargo, los resultados obtenidos en el presente estudio podrían utilizarse como línea base bacteriológica para el monitoreo del estado de salud intestinal de bovinos en pastoreo y para rastrear posibles interacciones con la microbiota fecal de la fauna nativa itinerante de la zona. Finalmente, es importante enfatizar que la secuenciación masiva de siguiente generación es una técnica muy efectiva que simplifica el análisis de comunidades bacterianas completas; por lo tanto, se justifican estudios complementarios sobre la microbiota en esta y otras poblaciones bovinas en México.

Agradecimientos

A S.I. Barraza-Guerrero, D. Acosta-Astorga y R. Zapata-Fernández por su apoyo en el trabajo de campo. Los propietarios de la localidad de Mohovano de las Lilas dieron su autorización para tomar muestras fecales bovinas.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de interés.

Literatura citada:

1. Haley BJ, Pettengill J, Gorham S, Ottesen A, Karns JS, Van-Kessel JAS. Comparison of microbial communities isolated from feces of asymptomatic *Salmonella*-shedding and non-*Salmonella* shedding dairy cows. *Front Microbiol* 2016;(7):691.

2. Kim M, Kuehn LA, Bono JL, Berry ED, Kalchayanand N, Freetly HC, *et al.* The impact of the bovine faecal microbiome on *Escherichia coli* O157: H7 prevalence and enumeration in naturally infected cattle. *J Appl Microbiol* 2017;123(4):1027-1042.
3. SEMARNAT-CONANP. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales-Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas). Programa de Conservación y Manejo Reserva de la Biosfera Mapimí, México. 1ª ed, México DF: Editorial EDM; 2006.
4. Bell GP, Yanoff S, Karges J, Montoya JA, Najera S, Arango AM, *et al.* Conservation blueprint for the Chihuahuan Desert ecoregion. In: Hoyt CA, Karges J editors. Proc Sixth Symp Natur Resour Chihuahuan Desert Region. The Chihuahuan Desert Research Institute, For Davis, TX; 2014:1-36.
5. Barral H. El hombre y su impacto en los ecosistemas a través del ganado. En: Montaña C editor. Estudio integrado de los recursos vegetación, suelo y agua en la Reserva de la Biosfera de Mapimí, I. Ambiente natural y humano. México, DF. Instituto de Ecología, AC. 1988:241-268.
6. Álvarez-Romero J, Medellín RA. *Bos taurus*. En: Medellín RA, *et al.* editores. Vertebrados superiores exóticos en México: diversidad, distribución y efectos potenciales. Proyecto U020. Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. México. D.F. Bases de datos SNIB-CONABIO; 2005.
7. Clemmons BA, Martino C, Schneider LG, Lefler J, Embree MM, Myer PR. Temporal stability of the ruminal bacterial communities in beef steers. *Scientific Reports* 2019;9(1):1-8.
8. O'Hara E, Neves AL, Song Y, Guan LL. The role of the gut microbiome in cattle production and health: driver or passenger? *Ann Rev Anim Biosciences* 2020;(8):99-220.
9. Mackie RI. Mutualistic fermentative digestion in the gastrointestinal tract: diversity and evolution. *Integrat Comparat Biol* 2002;42(2):319-326.
10. Madden RH, Murray KA, Gilmour A. Carriage of four bacterial pathogens by beef cattle in Northern Ireland at time of slaughter. *Lett Appl Microbiol* 2006;44(2):115-119.
11. Febriani Y, Levallois P, Lebel G, Gingras S. Association between indicators of livestock farming intensity and hospitalization rate for acute gastroenteritis. *Epidemiol Infect* 2009;137(8):1073-1085.

12. Callaway TR, Dowd SE, Edrington TS, Anderson RC, Krueger N, Bauer N, *et al.* Evaluation of bacterial diversity in the rumen and feces of cattle fed different levels of dried distillers grains plus solubles using bacterial tag-encoded FLX amplicon pyrosequencing. *J Anim Sci* 2010;88(12):3977-3983.
13. FAS, Guide for the care and use of agricultural animals in agricultural research and teaching, 3rd ed.; Feder Anim Sci Soc. Champaign, IL, USA. 2010.
14. NAM-National Academy of Medicine. Guide for the care and use of laboratory animals. Co-Produced by the National Academy of Medicine–Mexico and the Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International, 1st ed. Harlan: Mexico City, Mexico. 2010.
15. Cornet A. Principales características climáticas. En: Montaña C editor. Estudio integrado de los recursos vegetación, suelo y agua en la Reserva de la Biosfera de Mapimí. Publicación 23. Instituto de Ecología AC. México, DF. 1988:45-76.
16. Klindworth A, Pruesse E, Schweer T, Peplies J, Quast Ch, Horn M, *et al.* Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Res* 2013;41(1):e1-e1.
17. Illumina. 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation, Preparing 16S Ribosomal RNA Gene Amplicons for the Illumina MiSeq System. 2020. https://support.illumina.com/documents/documentation/chemistry_documentation/16s/16s-metagenomic-library-prep-guide-15044223-b.pdf. Accessed May 11, 2021.
18. Illumina. Nextera XT DNA Library Prep Kit Reference Guide. https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/chemistry_documentation/samplepreps_nextera/nextera-xt/nextera-xt-library-prep-reference-guide-15031942-05.pdf. Accessed May 11, 2021.
19. García-De la Peña C, Garduño-Niño E, Vaca-Paniagua F, Díaz-Velásquez C, Barrows CW, Gomez-Gil B, *et al.* Comparison of the fecal bacterial microbiota composition between wild and captive bolson tortoises (*Gopherus flavomarginatus*). *Herpetol Conserv Biol* 2019;14(3):587-600.
20. Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, *et al.* QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods* 2010;(7):335.
21. Zhang J, Kobert K, Flouri T, Stamatakis A. PEAR: a fast and accurate Illumina Paired-End reAd merger. *Bioinformatics* 2014;(30):614-620.

22. Edgar RC. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics* 2010;26 (19):2460–2461.
23. Yoon SH, Ha SM, Kwon S, Lim J, Kim Y, Seo H, Chun J. Introducing EzBioCloud: a taxonomically united database of 16S rRNA and whole genome assemblies. *Int J Syst Evol Microbiol* 2017;(67):1613-16-17.
24. Weiss S, Xu ZZ, Peddada S, Amir A, Bittinger K, Gonzalez A, *et al.* Normalization and microbial differential abundance strategies depend upon data characteristics. *Microbiome* 2017;5(1):27.
25. Magurran A. *Measuring biological diversity.* Blackwell Science Ltd. Blackwell Publishing company. UK Copyright, Designs, and Patents Act 1988. 2004:100-130.
26. Aricha H, Simujide H, Wang C, Zhang J, Lv W, Jimisi X, *et al.* Comparative analysis of fecal microbiota of grazing Mongolian cattle from different regions in Inner Mongolia, China. *Animals* 2021;11(7):1938.
27. Li Y, Ma S, Zhang X, Huang S, Yang H, Zhao F, *et al.* Evaluation of bacterial and archaeal diversity in the rumen of Xiangxi yellow cattle (*Bos taurus*) fed *Miscanthus sinensis* or common mixed feedstuff. *Ann microbiol* 2014;64(3):1385-1394.
28. O' Donnell MM, Harris HBB, Ross RP, O'Toole PW. Core fecal microbiota of domesticated herbivorous ruminant, hindgut fermenters, and monogastric animals. *Microbiologyopen* 2017;6(5):e00509.
29. Li Y, Hu X, Yang S, Zhou J, Qi L, Sun X, *et al.* Comparison between the fecal bacterial microbiota of healthy and diarrheic captive musk deer. *Front Microbiol* 2018;(9):300.
30. Li Y, Shi M, Zhang T, Hu X, Zhang B, Xu S, *et al.* Dynamic changes in intestinal microbiota in young forest musk deer during weaning. *Peer J* 2020;(8):e8923.
31. Rudi K, Moen B, Sekelja M, Frisli T, Lee MR. An eight-year investigation of bovine livestock fecal microbiota. *Vet Microbiol* 2012;160(3-4):369-377.
32. Steelman SM, Chowdhary BP, Dowd S, Suchodolski J, Janečka JE. Pyrosequencing of 16S rRNA genes in fecal samples reveals high diversity of hindgut microflora in horses and potential links to chronic laminitis. *BMC Vet Res* 2012;8(1):231.
33. Menke S, Heurich M, Henrich M, Wilhelm K, Sommer S. Impact of winter enclosures on the gut bacterial microbiota of red deer in the Bavarian Forest National Park. *Wildl Biol* 2019;8(1):1-10.

34. Wang X, Chen Y, Shang Y, Wu X, Wei Q, Chen J, *et al.* Comparison of the gut microbiome in red deer (*Cervus elaphus*) and fallow deer (*Dama dama*) by high-throughput sequencing of the V3–V4 region of the 16S rRNA gene. *Sci Asia* 2019;45(6):515-524.
35. Zhang Z, Yang L, He Y, Luo X, Zhao S, Jia X. Composition of fecal microbiota in grazing and feedlot angus beef cattle. *Animals* 2021;11(11):3167.
36. Deepthi M, Arvind K, Saxena R, Pulikkan J, Shamjana U, Vineet KS, Grace T. Fecal microbiota analysis exploring taxonomic diversity of hindgut microbial communities in kasaragod dwarf and Holstein Friesian cattle. 2021. Research Square, doi: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-732782/v1>.
37. Lau SKP, Teng JLL, Chiu TH, Chan E, Tsang AKL, Panagiotou G, Zhai SL, *et al.* Differential microbial communities of omnivorous and herbivorous cattle in southern China. *Comput Struct Biotechnol J* 2018;16:54-60.
38. Ming L, Yi L, Siriguleng, Hasi S, He J, Hai L, *et al.* Comparative analysis of fecal microbial communities in cattle and Bactrian camels. *PLoS One* 2017;12(3):e0173062.
39. Donaldson GP, Lee SM, Mazmanian SK. Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nat Rev Microbiol* 2016;14(1):20-32.
40. Rainey FA. Orden Clostridiales, In: DeVos P, *et al.* editors. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Second ed. Springer, Dordrecht, Heidelberg, London, New York. Volume three. The Firmicutes 2009:736-1191.
41. La Reau AJ, Meier-Kolthoff JP, Suen G. Sequence-based analysis of the genus *Ruminococcus* resolves its phylogeny and reveals strong host association. *Microb Genom* 2016;2(12).
42. Rainey FA. Family V. Lachnospiraceae fam. nov. In: DeVos P, *et al.* editors. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Second ed. Volume 3. The Firmicutes. London, New York: Springer, Dordrecht, Heidelberg; 2009:921-968.
43. Hamer HM, Jonkers D, Venema K, Vanhoutvin, S, Troost FJ, Brummer RJ. Review article: The role of butyrate on colonic function. *Aliment Pharm Therapy* 2008;(27): 104–119.
44. Kim M, Wells JE. A meta-analysis of bacterial diversity in the feces of cattle. *Curr Microbiol* 2015;72(2):145-151.
45. Kim M, Kim J, Kuehn LA, Bono JL, Berry ED, Kalchayanand N, *et al.* Investigation of bacterial diversity in the feces of cattle fed different diets. *J Anim Sci* 2014;92(2):683-694.

46. Zhang Z, Yang L, He Y, Luo X, Zhao S, Jia X. Composition of fecal microbiota in grazing and feedlot angus beef cattle. *Animals* 2021;11(11):3167.
47. Rodríguez J, Carcelen F, Agapito J, Barreto T, Rodríguez C, San Martín F. Identificación preliminar de microflora bacteriana en el compartimiento 1 del sistema digestivo en alpacas (*Vicugna pacos*). *Informe Científico Tecnológico* 2009;(9):63-165.
48. Shepherd ML, Swecker Jr WS, Jensen RV, Ponder MA. Characterization of the fecal bacteria communities of forage-fed horses by pyrosequencing of 16S rRNA V4 gene amplicons. *FEMS Microbiol Lett* 2012;326(1):62-68.
49. Liu X, Fan H, Ding X, Hong Z, Nei Y, Liu Z, *et al.* Analysis of the gut microbiota by high-throughput sequencing of the V5–V6 regions of the 16S rRNA gene in donkey. *Curr Microbiol* 2014;68(5):657-662.
50. Grech-Mora I, Fardeau ML, Garcia JL, Ollivier B. *Sporobacter*. *Bergey's Manual of systematics of archaea and bacteria online*. John Wiley & Sons, Inc., in association with Bergey's Manual Trust JL. 2015:1-6.
51. Durso LM, Harhay GP, Smith TP, Bono JL, DeSantis TZ, Harhay DM, *et al.* Animal-to-animal variation in fecal microbial diversity among beef cattle. *Appl Environ Microbiol* 2010;76(14):4858-4862.
52. Wang L, Zhang K, Zhang C, Feng Y, Zhang X, Wang X, *et al.* Dynamics and stabilization of the rumen microbiome in yearling Tibetan sheep. *Sci Rep* 2019;9(1):1–9.
53. Mamun MAA, Sandeman M, Rayment P, Brook-Carter P, Scholes E, Kasinadhuni N, *et al.* The composition and stability of the faecal microbiota of merino sheep. *J Appl Microbiol* 2019;128(1):280–291.
54. Dearing MD, Kohl KD. Beyond fermentation: other important services provided to endothermic herbivores by their gut microbiota. *Integr Comp Biol* 2017;57(4):723-731.
55. De Tarso SGDS, Oliveira D, Afonso JAB. Ruminants as part of the global food system: how evolutionary adaptations and diversity of the digestive system brought them to the future. *J Dairy Vet Anim Res* 2016;3(5):00094.
56. Ley RE, Hamady M, Lozupone C, Tumbaugh PJ, Ramey RR, Bircher JS, *et al.* Evolution of mammals and their gut microbes. *Science* 2007;(320):1647–1651.
57. Szeligowska N, Cholewińska P, Czyż K, Wojnarowski K, Janczak M. Inter and intraspecies comparison of the level of selected bacterial phyla in in cattle and sheep based on feces. *BMC Vet Res* 2021;17(1):1-9

58. Zhu L, Wang J, Bahrndorff S. The wildlife gut microbiome and its implication for conservation biology. *Front Microbiol* 2021;12:1617.
59. Muegge BD, Kuczynski J, Knights D, Clemente JC, González A, Fontana L, *et al.* Diet drives convergence in gut microbiome functions across mammalian phylogeny and within humans. *Science* 2011;332:970–974.
60. Zoelzer F, Burger AL, Dierkes PW. Unraveling differences in fecal microbiota stability in mammals: from high variable carnivores and consistently stable herbivores. *Anim Microbiome* 2021;3(1):77.
61. Milani C, Alessandri G, Mancabelli L, Mangifesta M, Lugli GA, Viappiani A, *et al.* Multi-omics approaches to decipher the impact of diet and host physiology on the mammalian gut microbiome. *Appl Environ Microbiol* 2020; 86(23):e01864-20.
62. Kamada N, Chen GY, Inohara N, Núñez G. Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota. *Nat Immunol* 2013;14(7):685-690.
63. Wolf JF, Kriss KD, MacAulay KM, Munro K, Patterson BR, Shafer AB. Gut microbiome composition predicts summer core range size in two divergent ungulates. *FEMS Microbiol Ecol* 2021;97(5):fiab048.
64. Sahin O, Yaeger M, Wu Z, Zhang Q. *Campylobacter*-associated diseases in animals. *Annu Rev Anim Biosci* 2016;5:21-42.
65. Rush JB, Edmondson MA. Infectious agents: *Campylobacter*. In: Hopper RM editor. *Bovine reproduction*. Second ed. USA: John Wiley & Sons, Inc; 2021;717-724.
66. An JU, Ho H, Kim J, Kim WH, Kim J, Lee S, *et al.* Dairy cattle, a potential reservoir of human campylobacteriosis: epidemiological and molecular characterization of *Campylobacter jejuni* from cattle farms. *Front Microbiol* 2018;(9):3136.
67. Oejo M, Oporto B, Hurtado A. Occurrence of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in cattle and sheep in northern Spain and changes in antimicrobial resistance in two studies 10-years apart. *Pathogens* 2019;8(3):98.
68. Inglis GD, Gusse JF, House KE, Shelton TG, Taboada EN. Clinically relevant *Campylobacter jejuni* subtypes are readily found and transmitted within the cattle production continuum but present a limited foodborne risk. *Appl Environ Microbiol* 2020; 86(6): e02101-19.n.
69. Elgioushy M, Rizk MA, El-Adl M, Elhadidy M, El-Khodery S. The first molecular detection of *Clostridium perfringens* from pneumonic cases associated with foot and mouth disease in cattle and buffalo in Egypt. *Trop Anim Health Prod* 2018;51(4):847-852.

70. Mariano V, Nardi A, Gradassi S, De Santis P, Anniballi F, Bilei S. A severe outbreak of botulism in cattle in Central Italy. *Vet Ital* 2019;55(1):57-62.
71. Wolf R, Hiesel J, Kuchling S, Deutz A, Kastelic J, Barkema HW, *et al.* Spatial-temporal cluster analysis of fatal *Clostridium chauvoei* cases among cattle in Styria, Austria between 1986 and 2013. *Prev Vet Med* 2017;138:134-138.
72. Smith JS, Krull AC, Schleining JA, Derscheid RJ, Kreuder AJ. Clinical presentations and antimicrobial susceptibilities of *Corynebacterium cystitidis* associated with renal disease in four beef cattle. *J Vet Inter Med* 2020;34(5):2169-2174.
73. Achollah AM, Karanja DN, Ngâ CJ, Bebora LC. Causes of organ condemnations in cattle at slaughter and associated financial losses in Siaya County, Kenya. *J Vet Med Anim Health* 2020;12(2):27-35.
74. Kirkeby C, Halasa T, Farre M, Chehabi GN, Græsboøll K. Transmission dynamics of *Corynebacterium* spp. within two Danish Dairy Cattle herds. *Front Vet Sci* 2021;977.
75. Borja E, Borja LF, Prasad R, Tunabuna T, Toribio JAL. A retrospective study on bovine tuberculosis in cattle on Fiji: Study findings and stakeholder responses. *Front Vet Sci* 2018;(5):270.
76. Ghebremariam MK, Michel AL, Vernooij JCM, Nielen M, Rutten VP. Prevalence of bovine tuberculosis in cattle, goats, and camels of traditional livestock raising communities in Eritrea. *BMC Vet Res* 2018;14(1):1-13.
77. Kuria JK. Diseases caused by bacteria in cattle: tuberculosis. In bacterial cattle diseases. Kaoud HA (IntechOpen) editor. 2019. London: IntechOpen; 2019. <https://www.intechopen.com/chapters/64814> doi: 10.5772/intechopen.82051.
78. Hacker E, Antunes CA, Mattos-Guaraldi AL, Burkovski A, Tauch A. *Corynebacterium ulcerans*, an emerging human pathogen. *Future microbiol* 2016;11(9):1191-1208.
79. Amachawadi RG, Nagaraja TG. Liver abscesses in cattle: A review of incidence in Holsteins and of bacteriology and vaccine approaches to control in feedlot cattle. *J Anim Sci* 2016;94(4):1620-1632.
80. Amachawadi RG, Tom WA, Hays MP, Fernando SC, Hardwidge PR, Nagaraja TG. Bacterial community analysis of purulent material from liver abscesses of crossbred cattle and Holstein steers fed finishing diets with or without tylosin. *J Anim Sci* 2021;99(4):skab076.
81. Aguiar-Veloso V, Drouillard JS. On the potential role of dietary lysine as a contributing factor in development of liver abscesses in cattle. *Front Vet Sci* 2020;(7):733.

82. Pillai DK, Amachawadi RG, Baca G, Narayanan SK, Nagaraja TG. Leukotoxin production by *Fusobacterium necrophorum* strains in relation to severity of liver abscesses in cattle. *Anaerobe* 2021;(69):102344.
83. Zhivin O, Dassa B, Morais S, Utturkar SM, Brown SD, Henrissat B, *et al.* Unique organization and unprecedented diversity of the *Bacteroides (Pseudobacteroides) cellulosolvens* cellulosome system. *Biotechnol Biofuels* 2017;10(1):1-19.
84. Duncan JS, Leatherbarrow AJH, French NP, Grove-White DH. Temporal and farm-management-associated variation in faecal-pat prevalence of *Campylobacter fetus* in sheep and cattle. *Epidemiol Infect* 2014;142(6):1196-1204.
85. Siembieda JL, Kock RA, McCracken TA, Newman SH. The role of wildlife in transboundary animal diseases. *Anim Health Res Rev* 2011;12(1):95-111.
86. Cossío-Bayúgar A, Romero E, Gallina S, Suzán G, Ibáñez-Bernal S. Variation of gastrointestinal parasites in mule deer and cattle in Mapimí biosphere reserve, Mexico. *Southwest Nat* 2015;60(2-3):180-185.
87. McAllister TA, Topp E. Role of livestock in microbiological contamination of water: commonly the blame, but not always the source. *Anim Front* 2012;2(2):17-27.
88. Gortázar C, Ferroglio E, Höfle U, Frölich K, Vicente J. Diseases shared between wildlife and livestock: A European perspective. *Eur J Wildl Res* 2007;53(4):241-256.
89. Espunyes J, Cabezón O, Dias-Alves A, Miralles P, Ayats T, Cerdà-Cuellar M. Assessing the role of livestock and sympatric wild ruminants in spreading antimicrobial resistant *Campylobacter* and *Salmonella* in alpine ecosystems. *BMC Vet Res* 2021;17(1):1-8.