

Short Note [Nota corta]



CARACTERIZACIÓN DE LA MICROBIOTA FECAL EN CABALLOS CON CIATOSTOMOSIS EN MÉXICO †

[CHARACTERIZATION OF THE FECAL MICROBIOTA IN HORSES WITH CYATOSTOMOSIS IN MEXICO]

Cintli Martínez-Ortiz-de-Montellano^{1*}, Claudia Cecilia Márquez-Mota², Leslie Mariella Montes-Carreto³, Rosa Estela Quiroz-Castañeda⁴, Edgar Dantán-González⁵ and Hugo Oswaldo Toledo-Alvarado⁶

¹Departamento de Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. Colonia UNAM, CU. Delegación Coyoacán, C.P. 04510. Ciudad de México, México. Email: * cintli@unam.mx

²Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. Colonia UNAM, CU. Delegación Coyoacán, C.P. 04510. Ciudad de México, México. Email: c.marquez@unam.mx

³Facultad de Ciencias Biológicas- Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001, Colonia Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, 62209, México. Email: less.carreto@gmail.com

⁴Unidad de Anaplasmosis, Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad INIFAP, Jiutepec 62574, México. Email: quiroz.rosa@inifap.gob.mx

⁵ Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1001, Colonia Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, 62209, México. Email: edantan@uaem.mx

⁶ Departamento de Genética y Bioestadística, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. Colonia UNAM, CU. Delegación Coyoacán, C.P. 04510. Ciudad de México, México. Email: h.toledo.a@fmvz.unam.mx

*Corresponding autor

SUMMARY

Background: The excess of antimicrobials and anthelmintics cause important dysbiosis processes in equines, as well as resistance phenomena mainly in the communities of bacteria, archaea, protozoa, and helminths. The study of the equine microbiome is becoming more and more relevant to understand the biotic processes of the gastrointestinal tract. In colon and cecum, the role of cyathostomins as part of the microbiome is still unexplored. While interaction with certain bacterial groups may be key to the understanding of parasitism. **Objective:** To characterize the microbiota in feces of yearling naturally infected with cyathostomins in a quarter-horse farm in Sierra de Lobos, Guanajuato, Mexico. **Methodology:** Weights were measured and obtained the parasite burden in feces, from which samples were transfer and processing in the laboratory for DNA extraction and later sent for sequencing and analysis. **Results:** Average weight of the colts was 399 kg, and the average weight of the fillies was 432 kg. All horses were high shedders: $1,390 \pm 698$ egg per gram of feces. Alpha and beta diversity analyses indicated no differences within the microbial community between colts and fillies. Main bacteria at Phyla in both groups (females; males) were Bacteroidetes (37%; 37%), Firmicutes (46%; 37%), Verrucomicrobia (4%; 10%), Spirochaetes 5%; 4%) and Proteobacteria (1%; 3%). At Class level the principal identified groups were Bacteroidia (31%; 31%), Clostridia (43%; 35%), at Order level are Bacteroidales (31%; 31%) and Clostridiales (43%; 35%). Main bacteria at Family level were Ruminococcaceae (19%; 11%), Lachnospiraceae (15%; 6%) and non-assigned family Bacteriodales (19%; 21%). The most abundant non-assigned bacterial Genra were Bacteroidales (26%; 27%), Ruminococcaceae (10%; 5%) y Lachnospiraceae (9%; 6%); the assigned bacterial Genra were *Clostridium* (5%; 9%) and *Treponema* (4% y 3%). The most abundant non-assigned bacterial Species were *Methanocorpusculaceae* sp (19%; 22%), *Pedobacter* sp (10%; 5%), *Bacteroidales* sp (9% y 6%) and *Prevotella* sp (4% y 3%); the assigned bacterial species were *Fibrobacter succinogenes* (2%; 1%), *Succinispira mobilis* (1%;

† Submitted September 19, 2022 – Accepted November 28, 2022. <https://doi.org/10.56369/tsaes.4546>



Copyright © the authors. Work licensed under a CC-BY 4.0 License. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

ISSN: 1870-0462.

ORCID = C. Martínez-Ortiz-de-Montellano: <https://orcid.org/0000-0003-0631-3553>; C.C. Márquez Mota: <https://orcid.org/0000-0002-4311-381x>; L.M. Montes-Carreto: <https://orcid.org/0000-0002-0945-4661>; R.E. Quiroz-Castañeda: <https://orcid.org/0000-0002-1099-2440>; E. Dantán-González: <https://orcid.org/0000-0002-3973-1244>; H.O. Toledo Alvarado: <https://orcid.org/0000-0001-7854-1219>

1%). **Implicaciones:** It is suggested that environmental factors and feeding are aspects that regulate the parasitic burden and the bacterial composition in this studied population. This is a short communication of the finding of the components of the microbiota and is relevant in Mexico for future studies, however it is imperative to explore the composition of the metacommunity of a horse free of cyathostomines. **Conclusion:** Considering that these nematodes are in the cecum and colon, where this microbiota was inferred, and that it is not known whether this interaction is beneficial or detrimental, the study of the microbiome is imperative. In the study, no horse presented clinical signs or colic due to the presence of nematodes.

Keywords: horses; microbiota; macrobiota; cyathostomosis; Mexico.

RESUMEN

Antecedentes: El exceso de antimicrobianos y antihelmínticos provoca procesos de disbiosis en los equinos, así como también fenómenos de resistencia principalmente en las comunidades de bacterias, arqueas, protozoarios y helmintos. El estudio del microbioma equino toma cada vez más relevancia para poder comprender los procesos bióticos del tracto gastrointestinal. En colon y ciego, el rol de los ciatostominos como parte del microbioma es aún inexplorado. Mientras que la interacción con ciertos grupos bacterianos puede ser clave para la comprensión del parasitismo. **Objetivo:** Caracterizar la microbiota en heces de potros añales infectados naturalmente con ciatostominos en un criadero de cuarto de milla en México. **Metodología:** De cada individuo, se midieron los pesos y se obtuvo la carga parasitaria en heces, de las cuales se tomaron muestras preservadas en nitrógeno líquido para su traslado y procesamiento en el laboratorio para la extracción de ADN, para posteriormente, enviarlo para su secuenciación y análisis. **Resultados:** Los potros presentaron en promedio un peso estimado de 399 kg y las potrancas en promedio 432kg. Las cargas parasitarias de todos los caballos fueron de moderadas a altas (1390 HPG \pm 698). Los análisis de *alfa* y *beta* diversidad indicaron que no hay diferencias dentro de la comunidad microbiana entre potros y potrancas. Las principales bacterias a nivel Filo en ambos grupos (potrancas; potros) fueron Bacteroidetes (37%; 37%), Firmicutes (46%; 37%), Verrucomicrobia (4%; 10%), Spirochaetes (5%; 4%) y Proteobacteria (1%; 3%). A nivel de Clase los principales grupos identificados fueron Bacteroidia (31%; 31%), Clostridia (43%; 35%), a nivel de Orden son Bacteroidales (31%; 31%) y Clostridiales (43%; 35%). Las principales bacterias a nivel de Familia fueron Ruminococcaceae (19%; 11%), Lachnospiraceae (15%; 6%) y Bacteroidales no asignadas (19%; 21%). Los géneros bacterianos no asignados más abundantes fueron Bacteroidales (26%; 27%), Ruminococcaceae (10%; 5%) y Lachnospiraceae (9%; 6%); los generos asignados más abundantes fueron *Clostridium* (5%; 9%) y *Treponema* (4% y 3%). Las especies no asignadas fueron *Methanocorpusculaceae* (19%; 22%), *Pedobacter* (10%; 5%), *Bacteroidales* (9%; 6%), *Prevotella* (4%; 3%); las especies asignadas abundantes fueron *Fibrobacter succinogenes* (2%; 1%), *Succinispira mobilis* (1%; 1%). **Implicaciones:** Se sugiere que factores ambientales y la alimentación son aspectos que regularon las cargas parasitarias y la composición bacteriana en esta población estudiada. Este es un reporte del hallazgo de los componentes de la microbiota y es relevante en México para futuros estudios, sin embargo, es imperativo explorar la composición de la metacomunidad de un caballo libre de ciatostominos. **Conclusión:** Estos resultados son un hallazgo. Considerando que estos nematodos se localizan en ciego y colon, lugar donde se infirió la presencia de esta microbiota y que no se sabe si esta interacción es benéfica o perjudicial, el estudio del microbioma resulta imperativo. En el estudio ningún caballo presentó signos clínicos, ni cólico por la presencia de nematodos. **Palabras clave:** caballos; microbiota; macrobiota; ciatostomosis; México.

INTRODUCCIÓN

Los ciatostominos son el grupo de nematodos gastrointestinales (NGI) más numeroso en especies y pueden desencadenar cólicos, gastroenteritis y tiflocolitis en los equinos. Estos nematodos afectan con mayor incidencia y susceptibilidad a equinos desde los seis-siete meses de edad hasta cumplir entre tres-cuatro años. Actualmente en los caballos, el control antihelmíntico de esta enfermedad parasitaria es más complejo por aplicar fármacos comerciales con poca eficacia y la consecuente Resistencia Antihelmíntica (RAH) en las poblaciones de NGI en el mundo (Matthews, 2014) y en México (Martínez-Ortiz de Montellano *et al.*, 2021). Esto ha creado la urgencia de recurrir al Manejo Integrado Parasitario Equino (MIPE), que incluye diferentes herramientas y aproximaciones del parasitismo por parte del médico veterinario y el criador (Nielsen, 2012). El MIPE se rige en tres ejes: 1) controlar a los NGI con los fármacos existentes

bajo criterios específicos y una desparasitación estratégica o también el creciente uso de plantas con metabolitos secundarios con potencial nematocida; 2) agotar la fuente de contaminación en las praderas donde reside el 95% de la población de NGI y 3) aumentar la respuesta del hospedero ante los NGI a través de la nutrición y de complementos o suplementos que ayuden a apoyar y optimizar la inmunidad, la digestibilidad y la salud intestinal. En este último eje, se puede lograr una proporcionada nutrición bajo ambientes de equilibrio entre los organismos que cohabitan en el tracto gastrointestinal del equino que conforman el microbioma (Martínez-Ortiz-de-Montellano *et al.*, 2022a). Mismo que compete a los genes de la **microbiota**: bacterias o arqueas, y también de virus, bacteriófagos, protozoarios; y de la **macrobiota**: metazoarios (Gause y Maizels, 2016; Dheilly *et al.*, 2019; Martínez-Ortiz-de-Montellano *et al.*, 2022b). Cuya competencia radica en contribuir y participar equilibradamente con el buen funcionamiento del

tracto gastrointestinal del equino, a esto se le conoce como una de las simbiosis más complejas estudiadas (Dheilly *et al.*, 2019). Considerando esta complejidad en la interacción hospedero-parásito, los caballos son fermentadores posteriores y estos organismos son parte de un nicho ecológico propio y particular, es por esto que es pertinente entender los posibles escenarios que pudieran estar sucediendo en el caballo parasitado con diferentes dietas que provocan cambios o perturbaciones importantes en la microbiota sin olvidar otros factores patológicos o ambientales (Sommer *et al.*, 2017; Kauter *et al.*, 2019; Dheilly *et al.*, 2019; Martínez-Ortiz-de-Montellano *et al.*, 2022b). El primer escenario puede ser, *la resistencia o estabilidad*, que ante una perturbación, la composición de la microbiota no cambia a pesar de los estímulos; el segundo, *la resiliencia*, que ante una perturbación, puede cambiar pero no a los grupos funcionales encargados del metabolismo; el tercero, *la redundancia*, que ante una perturbación, cambia la composición original de la microbiota, no regresa y hay una repoblación por grupos nuevos, se establece una nueva microbiota, sin afectar las funciones metabólicas; por último y el peor de los escenarios, *la disbiosis o desequilibrio*, que ante una perturbación, se cambia la población y la función (Sommer *et al.*, 2017; Requena y Velasco, 2021). Entonces, dentro de esta metacomunidad del tracto gastrointestinal en caballos, no queda esclarecida la interacción de la macrobiota y microbiota (al menos ciatostominos con arqueas y bacterias) en colon y ciego. Existen reportes en dónde el rol de los helmintos es crucial para la producción de moco y el establecimiento de ciertos grupos bacterianos que pueden ser benéficos o que ocurra lo contrario al proliferar grupos denominados perjudiciales. Algunos autores han publicado que con cargas abundantes de NGI los grupos bacterianos abundantes son *Bacteroides*, *Clostridium* XIVa, *Ruminococcus*, *Lachnospiraceae* y no clasificado y con cargas bajas de NGI disminuye la abundancia de varios grupos más como, *Clostridium* IV, *Coprococcus*, *Anaerovibrio*, *Agreia*, *Oscillibacter*, *Turicibacter*, *Cystobacteraceae*, *Campylobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* (Dicks *et al.*, 2014; Kauter *et al.*, 2019; Peachey *et al.*, 2018; 2019). Por otra parte, estos mismos autores mencionan la importancia de factores específicos que actúan sobre la abundancia y composición de la microbiota, p.ej., una dieta rica en granos, en almidones, en aceites, el tipo de heno, el tipo de pastura, si el caballo tiene un pH por debajo de 6.0, la edad, el sexo, así como también si el caballo es domesticado o no, y si el caballo sufre de patologías específicas como laminitis, peritonitis, diarrea, enteritis proximal, abscesos, salmonelosis, etc. Elementos que hacen que esa metacomunidad se vea perturbada continuamente (Sommer *et al.*, 2017), probablemente viviendo en resistencia, resiliencia, redundancia y en algunos casos disbiosis representada por cuadros de enfermedad muy marcados, en donde solo podemos responsabilizar directamente a la comunidad macroscópica como la

de los ciatostominos. El estudio de la microbiota en caballos permite conocer esas interacciones y si consideramos que los trastornos del tracto gastrointestinal y sus consecuencias se encuentran entre las enfermedades más importantes de los equinos domésticos, estudiarla se vuelve una necesidad (Peachey *et al.*, 2018, 2019; Kauter *et al.*, 2019; Walshe *et al.*, 2020), sin embargo, en México, no existen estudios al respecto (Martínez-Ortiz-de-Montellano *et al.*, 2022b). Como un primer esfuerzo de conocer el microbioma equino en nuestro país, el objetivo de este estudio fue caracterizar la microbiota en heces de caballos añales naturalmente infectados con ciatostominos. Con este estudio se contribuye a la toma de decisiones del control parasitario sobre los animales con nematodosis proporcionando un enfoque integrado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Zona ecológica y animales de estudio

El estudio se llevó a cabo en un criadero de caballos cuarto de milla en el estado de Guanajuato, México. El clima es Bsw según la clasificación Köppen (García, 2004), caracterizado por ser semiseco, estepario con lluvias en verano. El estudio se realizó en 10 animales, que se dividieron en dos grupos homogéneos: potrancas añales (Pa) y potros añales (Po) entre los 12 y 18 meses de edad. Los criterios de inclusión fueron la edad y positividad a una infección por nematodos tipo estrongilido. A ninguno de los caballos se le administró antihelmíntico o antibiótico durante 60 días antes del muestreo. Los animales permanecen separados por sexo en caballerizas individuales y durante el día se alojaron en potreros con dimensiones aproximadas de 1 a 2 ha; por la tarde regresaban a sus caballerizas para encierro nocturno. Los animales recibían agua *ad libitum* y una dieta balanceada compuesta por un alimento comercial a ración de cinco kg al día, tres kg al día de pasto *ray grass* y tres kg al día de alfalfa. Es importante mencionar que estos animales no presentaban signos clínicos de enfermedad y físicamente se encontraban en óptimas condiciones para su próxima venta en la subasta nacional.

Muestreo animal

El muestreo se realizó en las caballerizas del rancho. Para el estudio parasitoscópico y la extracción del ADN, las heces fueron obtenidas directamente del recto de los animales con guantes plásticos de palpación, debidamente lubricado para evitar lastimar al animal. Dándole prioridad en conservar en nitrógeno líquido inmediatamente a las muestras obtenidas para ADN, tomando aproximadamente 20g de la punta de la muestra e introduciéndola en tubos cónicos de 50 ml polipropileno estériles. El resto de la muestra se conservó en el guante de palpación para su pronto procesamiento parasitológico.

Estimación del peso vivo

Siguiendo las recomendaciones de Hayes y Copeland (2001), se estimó el peso vivo (PV) de los 10 animales a través de una cinta morfométrica y aplicando la fórmula: $\text{perímetro torácico}^2 \times \text{longitud del cuerpo} / 11900$.

Estudio parasitoscópico

Una vez obtenidas las heces de los 10 potros y potrancas, fueron procesadas en el laboratorio del rancho a través de la técnica de McMaster modificada (Zajac y Conboy, 2012), para obtener el número de huevos por gramo de heces (HPG) y así establecer la carga parasitaria de los animales (Nielsen, 2021).

Con el resto de las heces, se realizó un pool de los 10 animales para su posterior cultivo en el Laboratorio de Investigación del Departamento de Parasitología de la FMVZ UNAM. La técnica de cultivo larvario utilizada fue la de Corticelli y Lai (1963). A los 15 días de incubación las larvas infectivas (L₃) fueron colectadas a través del dispositivo Baermann (Bellaw y Nielsen, 2015) y refrigeradas para su posterior evaluación. La identificación se realizó mediante el examen morfométrico de 100 larvas obtenidas a partir del cultivo, se contabilizó el número de células intestinales, su distribución y se midió la longitud desde la porción anterior hasta la punta de la vaina, de acuerdo con lo descrito por Kornás et al. (2009) y Woellner-Santos et al. (2018).

Estudio de ADN de muestras fecales

El ADN genómico se extrajo de 25 mg de pellets fecales por muestra en el laboratorio del Departamento de Nutrición y Bioquímica de la FMVZ UNAM con el kit *QIAmp PowerFecal® DNA Kit* (QIAGEN). Las muestras de ADN fueron procesadas y analizadas con el servicio de secuenciación dirigida para el análisis de microbioma *ZymoBIOMICS®* (Zymo Research, Irvine, CA). La concentración de ADN se midió con Nanodrop (Thermo Scientific) y Qubit™ dsDNA HS Assay Kits y la calidad se determinó por visualización en un gel de agarosa al 1%. La secuenciación dirigida del gen 16S rARN bacteriano se realizó utilizando el kit de preparación de biblioteca *Quick-16S™* NGS (Zymo Research, Irvine, CA). Los oligonucleótidos bacterianos amplificaron la región V3-V4 del gen 16S rARN (~460 bp). Los productos de PCR finales se cuantificaron con lecturas de fluorescencia de qPCR y se agruparon en base a la misma molaridad. La biblioteca agrupada final se limpió con *Select-a-Size DNA Clean & Concentrator™* (Zymo Research, Irvine, CA) y posteriormente se cuantificó con *TapeStation®* (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) y *Qubit®* (Thermo Fisher Scientific, Waltham, WA). La biblioteca final se secuenció en *Illumina® MiSeq™* con un kit de reactivos v3 (600 ciclos). La

secuenciación se realizó con un 10% de adición de *PhiX*.

Análisis Bioinformático

Las lecturas *fastq* sin procesar fueron filtradas por calidad con FASTP 0.23.2 (Chen et al., 2018). Se consideró a las lecturas de buena calidad cuando el *quality score* o valor *phred* es igual o mayor a 24. Posteriormente, se realizó un segundo paso de limpieza para identificar réplicas, eliminar el ruido y eliminar quimeras para obtener las variantes de secuencia de amplicón (ASV) usando DADA2 (Callahan et al., 2016) a través de QIIME 2 2022.2 (Bolyen et al., 2019). La diversidad y riqueza microbiana por muestra se estimó utilizando las métricas de la diversidad *alfa* (índice de *Chao 1*, *Shannon* y ASV observados) y la variación en la composición general se estimó con la métricas de la diversidad *beta weighted UniFrac* (Lozupone et al., 2007), *unweighted UniFrac* (Lozupone et al., 2005), *Jaccard distance*, y *Bray-Curtis dissimilarity*, así como el análisis de coordenadas principales (PCoA) se estimaron mediante *diversity* con un submuestreo a 5027 secuencias por muestra mediante el *plugin diversity* de QIIME 2. Finalmente, la asignación taxonómica a nivel de dominio, filo, clase, orden, familia, género y especie de los ASV se realizó utilizando *feature-classifier* (Bokulich et al., 2018) *classify-sklearn* de QIIME 2 contra la base de datos pre-entrenada de *Greengenes "gg-13-8-99-515-806-nb-classifier.qza"* (McDonald et al., 2012).

Análisis de los datos estadísticos

Con estadística descriptiva, fue llevada a cabo la correlación entre los valores del PV y los HPG. Las variaciones multivariadas en la composición de la comunidad bacteriana se evaluaron de acuerdo con la guía de análisis estadístico en ecología microbiana (GUSTA ME) (Buttigieg y Rammette, 2014). Se utilizó el software R 4.0.3 para a) realizar un análisis de similitud (ANOSIM) entre grupos, b) para el análisis de PCoA en los niveles de filo, clase, orden y familia, c) para las abundancias relativas de las comunidades microbianas y las variables de diversidad *alfa* (índice de *Chao 1* e índice de *Shannon*) mediante la prueba t de *Student*.

RESULTADOS

Estudio parasitoscópico y peso vivo

Los animales se veían en buen estado de ánimo y en general de buena salud, no se observaron signos clínicos de parasitismo durante el estudio. La distribución de los HPG fue categorizada como alta, ya que el valor mínimo fue cercano a los 800 HPG con excepción de una potranca que presentó 400 HPG (carga moderada). En promedio la descarga de huevos fue de 1390 ± 698 y el valor del tercer cuartil fue de 1675. Por otro lado, los pesos promedio obtenidos para las Pa y los Po fueron de $432\text{kg} \pm 38.3$

y $399\text{kg} \pm 20.1$ respectivamente. Asimismo, se encontró una correlación negativa entre el peso y la distribución de huevos dónde a medida que la variable HPG aumenta, la variable peso (Kg/PV) disminuye y viceversa (Fig. 1). En cuanto al cultivo

larvario, solo se obtuvieron larvas de nematodos estrongilidos del grupo de los ciatostominos cuyo número de células intestinales ronda entre las 8 (Fig. 2); no se encontraron estrongilidos migratorios como *Strongylus* spp.

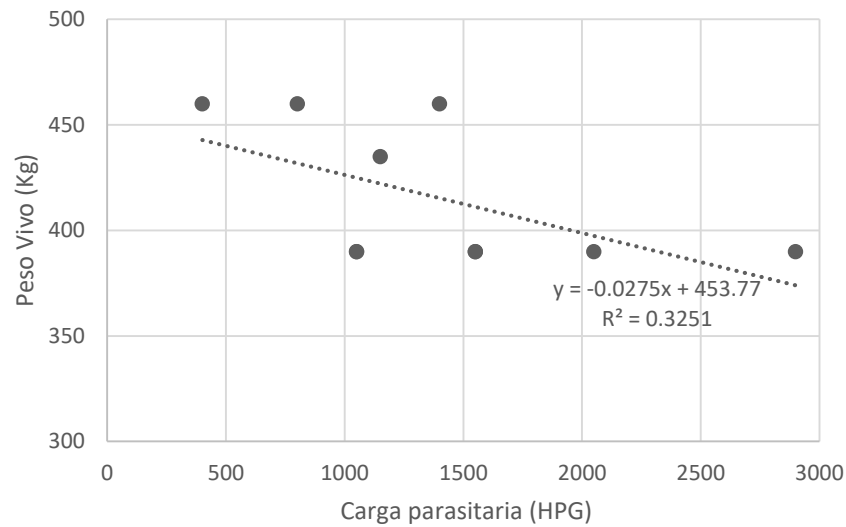


Fig. 1. Relación de la distribución de la carga parasitaria (HPG) con el peso vivo (Kg) de los potros y potrancas infectados con ciatostominos.

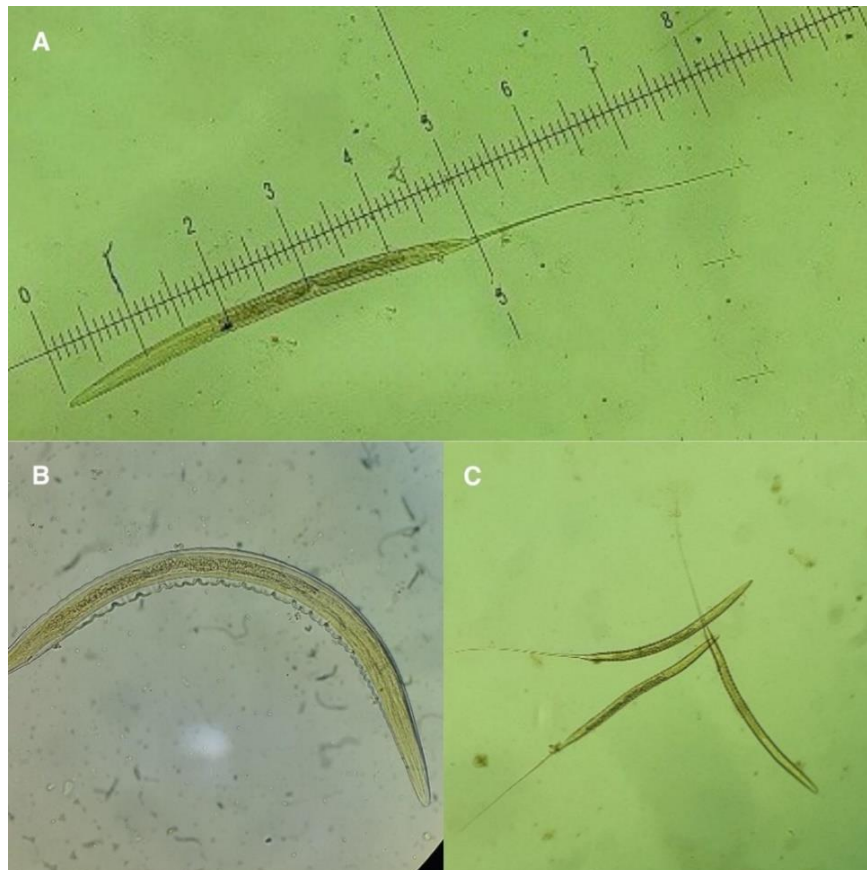


Fig. 2. Fotomicrografías obtenidas del cultivo larvario de las heces de los potros: A. Larva infectiva L3 (820μ) de nematodo estrongilido del grupo de los ciatostominos. Ocular 4x. B. Acercamiento de la porción anterior, del cuerpo y las células intestinales de una L3 de ciatostomino. Ocular 40x. C. Grupo de L3 de ciatostominos. Ocular 4x.

Resumen de datos de secuenciación de ADN

De un total de 10 muestras, se generaron 413623 secuencias, con 348648 secuencias retenidas, lo que representa alrededor del 80% y 278369 secuencias eliminadas más o menos del 20% (Tabla 1), Las secuencias tuvieron una longitud entre 281 y 321 pares de bases. El número de ASV detectadas fue de 573.

Análisis de alfa y beta diversidad

El análisis del índice de *Chao 1* y *Shannon* no reveló diferencias en la riqueza de la microbiota (Fig 3 A, B). El análisis de componentes principales (PCoA) de diversidad beta usando distancias *unifrac* no ponderadas y ponderadas no detectó diferencias significativas entre Pa y Po (Fig. 4. A, B).

Asignaciones taxonómicas

Las asignaciones taxonómicas en este estudio se realizaron en siete niveles: Filo, clase, orden, familia, género y especie (Fig 5-11).

A nivel de **Filo**, se identificaron un total de 10 grupos bacterianos (Fig 5Ay C). Los filos predominantes fueron Firmicutes: Pa 45.8% y Po 37.1%, Bacteroidetes: Pa 36.8% y Po 37.0%, Verrumicrobia: Pa 4.1 y Po 10.5%; y Proteobacteria: Pa 1.4% y Po 3.3%. El análisis ANOSIM ($r = 0.044$, $p = 0.2898$) y el PCoA (Fig 5B) demostraron que no existe diferencia significativa entre Pa y Po en este nivel (Tabla suplementaria 1).

Se identificaron un total de 22 microorganismos a nivel de **Clase** (Fig 6A y C). Sin importar el sexo las principales clases bacterianas identificadas fueron Bacteroidia: Pa 34.2% y Po 33.0% y Clostridia: Pa 38.8% y Po 42.1%. El análisis de ANOSIM y PCoA (Fig 6B) a nivel de clase demostraron que no existe diferencia significativa entre sexos ($r = -0.02$, $p = 0.4803$). En particular, se observó una diferencia ($p < 0.05$) (Tabla suplementaria 2) en la abundancia relativa de Proteobacteria siendo 2.3 veces mayor en Po en comparación de Pa.

Tabla 1. Resumen de las secuencias generadas, retenidas y eliminadas.

Grupo	Muestra	Secuencias generadas	Secuencias retenida	% secuencias retenidas	Secuencias eliminadas	% secuencias eliminadas
Potranca	1	37022	30470	82	23655	20
	2	40016	33961	85	27140	22
	3	38546	32271	84	24992	21
	4	42757	35891	84	28530	25
	5	32597	27192	83	20472	17
Potro	1	43232	37134	86	30033	26
	2	41554	35166	85	29000	26
	3	42236	35860	85	29040	23
	4	44783	37758	84	29986	26
	5	50880	42945	84	35521	16
Total		413623	348648		278369	

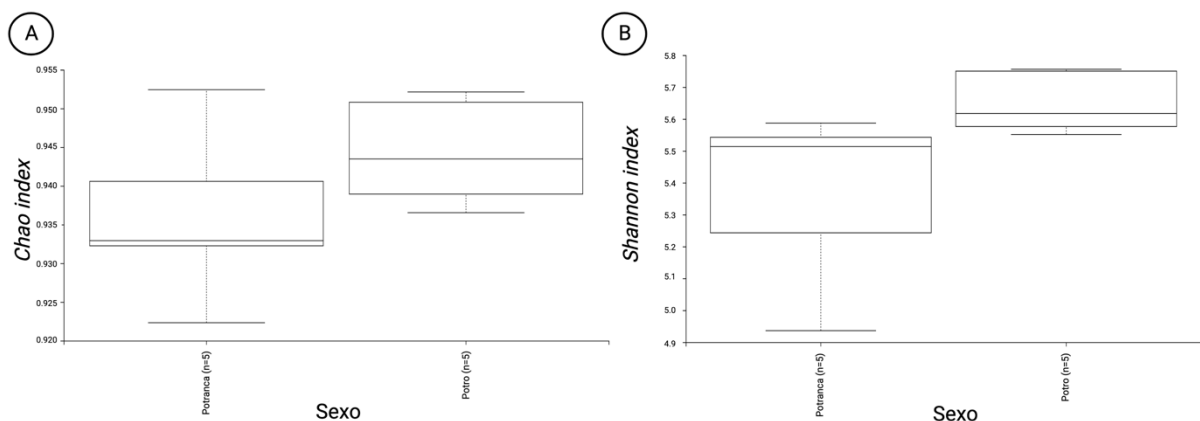


Fig. 3. Análisis de alfa diversidad (A) índice Chao, (B) índice Shannon de la comunidad bacteriana encontrada en heces de las potrancas y potros.

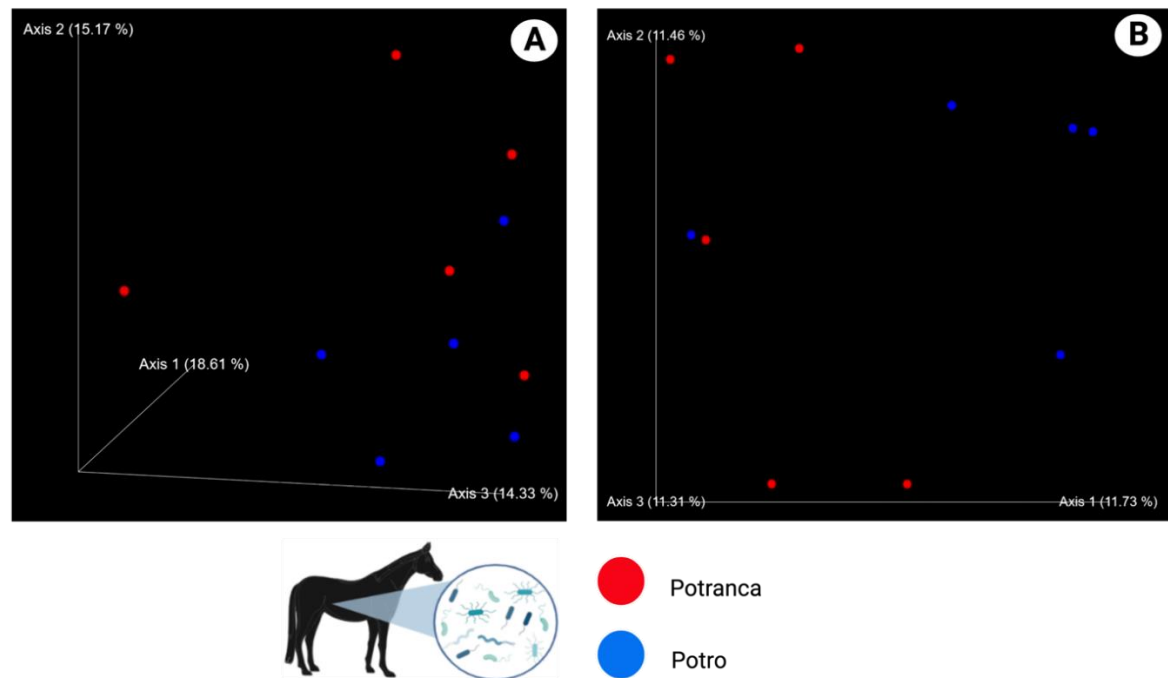


Fig. 4. Análisis de componentes principales (PCoA) distancia *unifrac* ponderada (A) y no ponderada (B) de la diversidad *beta* encontrada en heces de las potrancas y potros.

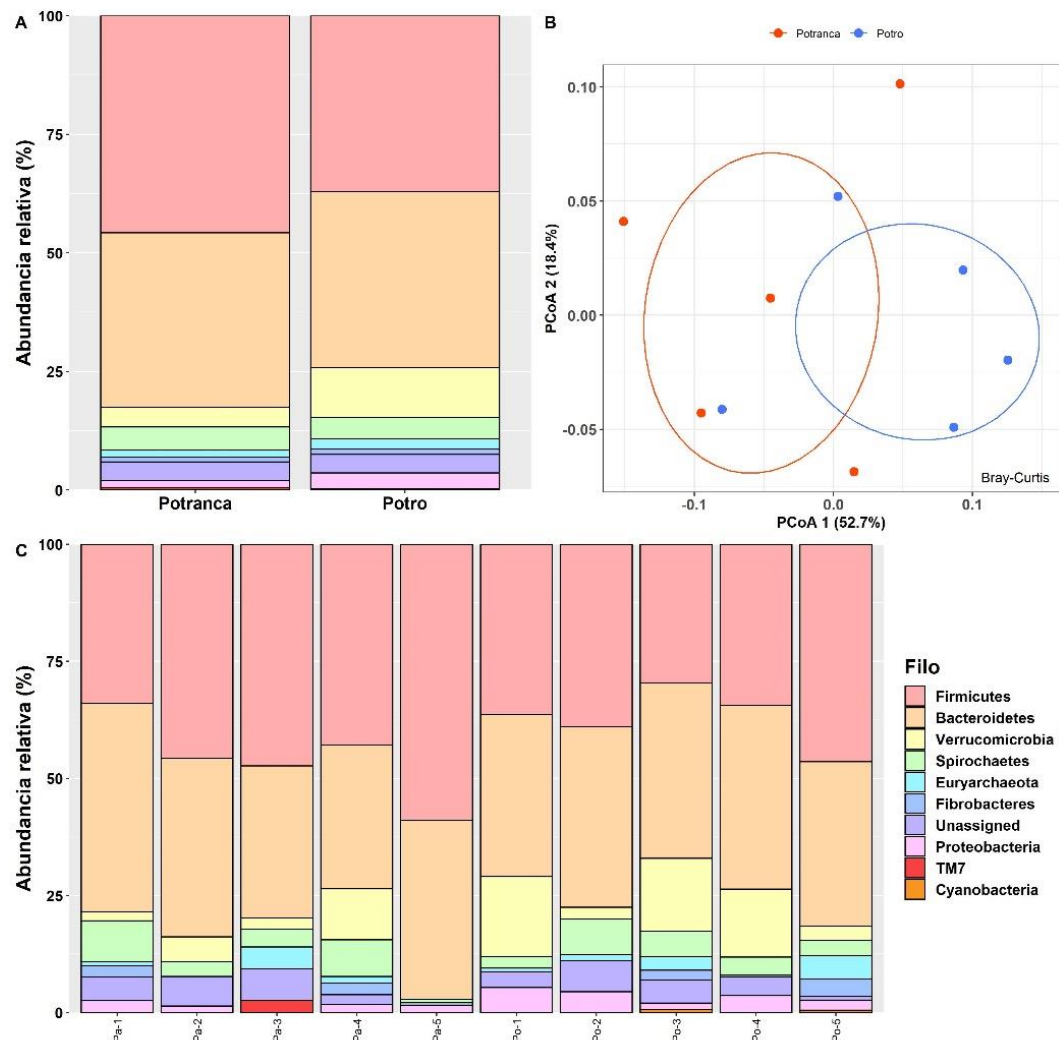


Fig.5. Asignación de los principales grupos microbianos a nivel **Filo** de potrancas y potros cuarto de milla.

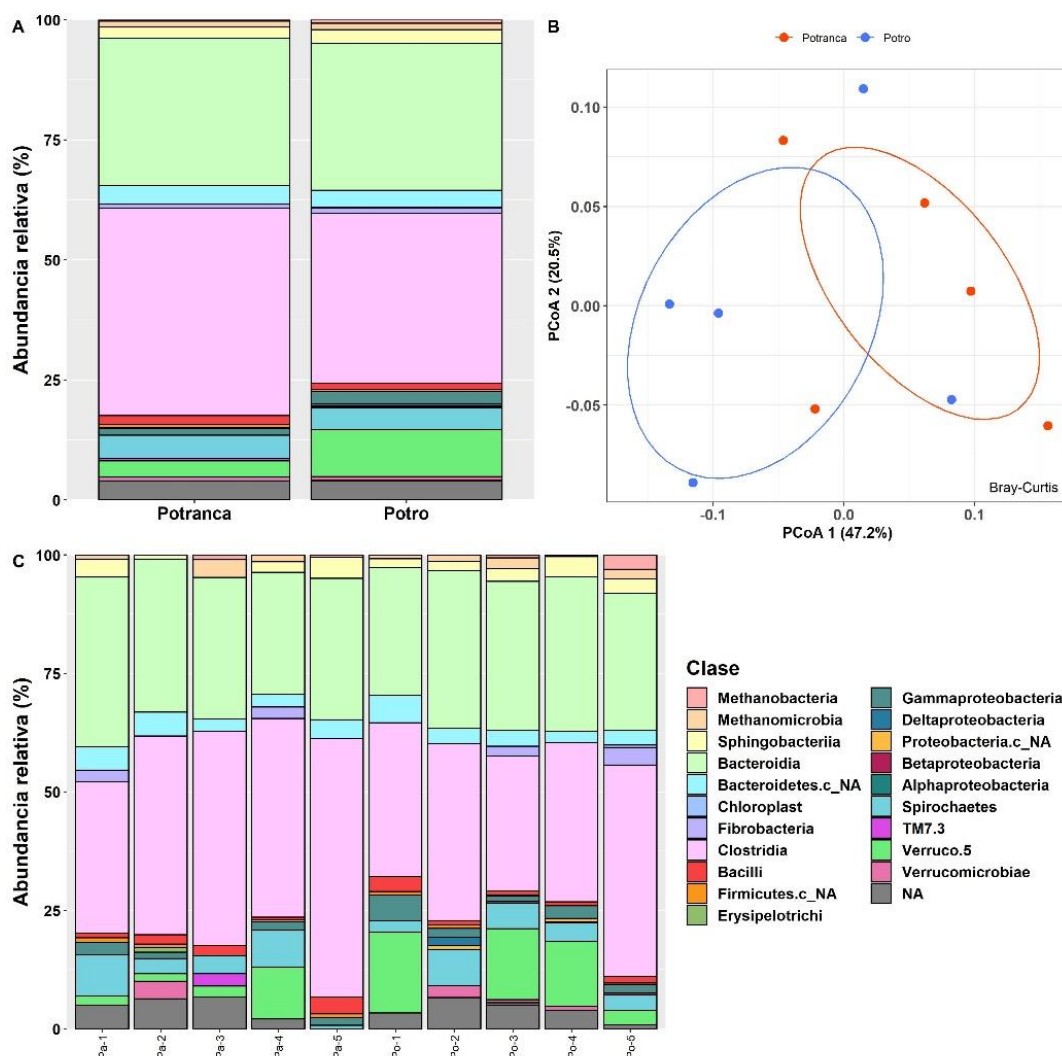


Fig. 6. Asignación de los principales grupos microbianos a nivel **Clase** de potrancas y potros cuarto de milla.

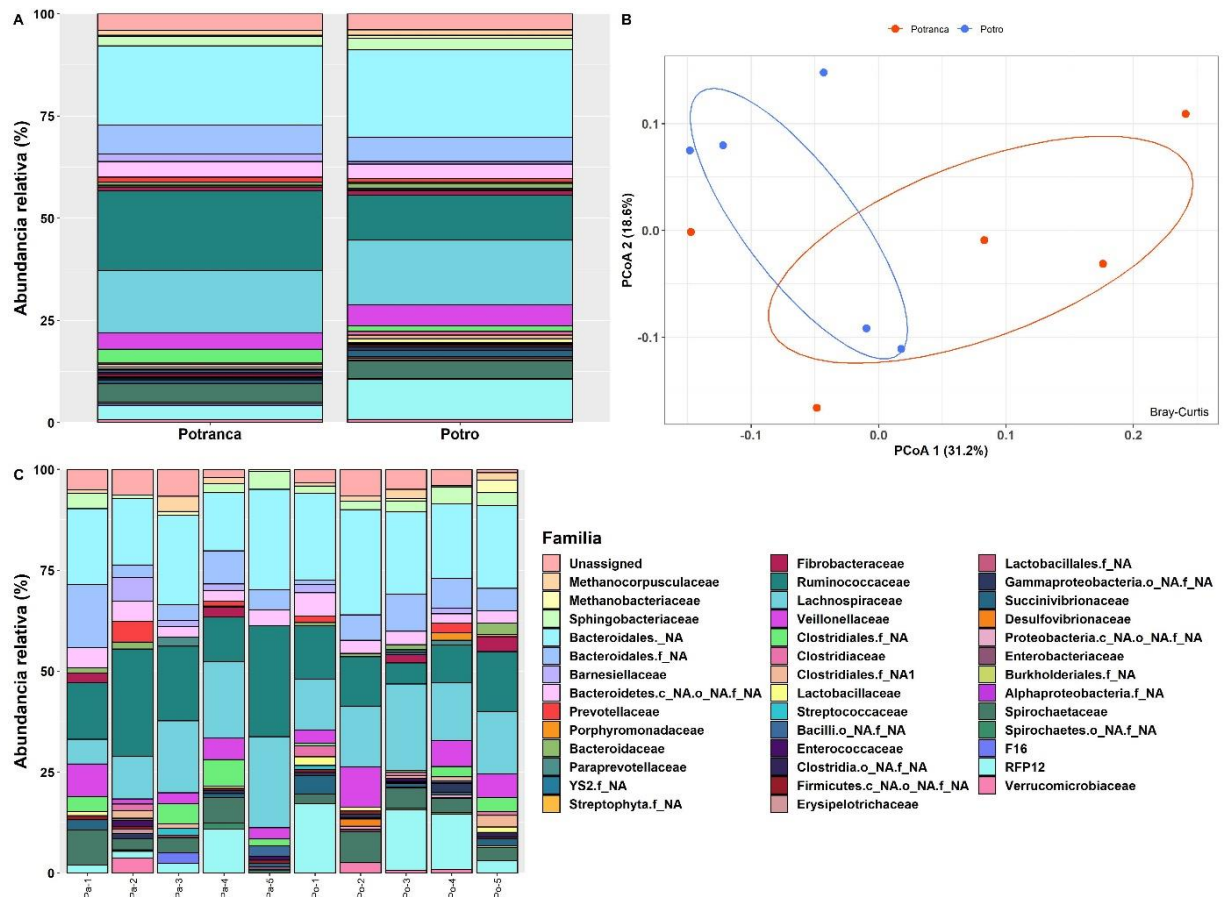
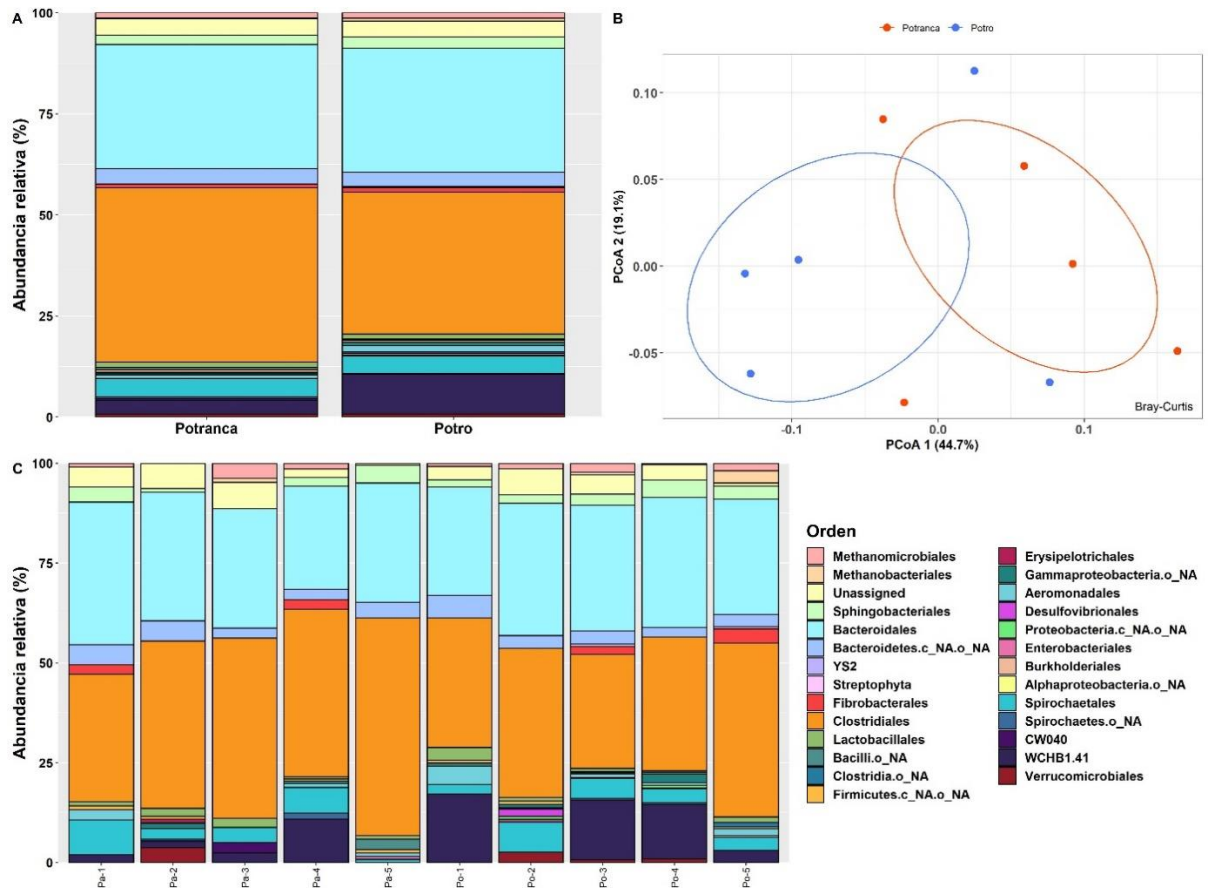
Se identificaron un total de 27 microorganismos a nivel de **Orden** (Fig 7A y C). Los principales órdenes bacterianos identificados fueron Bacteroidales una abundancia relativa para Pa y Po de 30.6% y Clostridiales: Pa 43.11% y Po 35.09%. A nivel de orden el análisis ANOSIM y PCoA (Fig. 7B) demostraron que no existe diferencia significativa entre sexos ($r = -0.068$, $p = 0.647$) (Tabla suplementaria 3).

A nivel **Familia** se identificaron 41 grupos bacterianos (Fig 8A y C). Las principales familias bacterianas identificadas fueron Ruminococcaceae: Pa 19.5% y Po 10.9%, familia no asignada de Bacteroidales: Pa 19.3% y Po 21.3%), Lachnospiraceae: Pa 15.1% y Po 15.7%. El análisis ANOSIM y PCoA (Fig 8B) demostraron que no existe diferencia significativa entre sexos ($r = 0.032$, $p = 0.3338$) (Tabla suplementaria 4).

Se identificaron un total de 58 grupos bacterianos a nivel de **Género** (Fig 9A y C). Los géneros bacterianos más abundantes en Pa y Po fueron géneros no asignados de Bacteroidales: Pa 26.5 y Po 27.4%; Ruminococcaceae Pa 10.0% y Po 5.5%; y

Lachnospiraceae: Pa 8.8 y Po 6.1%; mientras que, los géneros bacterianos asignados más abundantes fueron Clostridium: Pa 4.8% y Po 9.3% y Treponema: Pa 4.1% y Po 3.5%. El análisis ANOSIM y PCoA (Fig 9B) demostraron que no existe diferencia significativa entre sexos ($r = 0.096$, $p = 0.2212$) (Tabla suplementaria 5).

A nivel de **Especie** se identificaron un total de 61 grupos bacterianos (Fig 10A y C). Las especies bacterianas más abundantes en Pa y Po fueron especies no asignadas de *Methanocorpusculaceae*: Pa 19.4% y Po 21.8%; *Pedobacter*: Pa 10.0% y Po 5.5%), *Bacteroidales*: Pa 8.8% y Po 6.1% y *Prevotella*: Pa 3.8% y Po 3.5%; mientras que las especies asignadas más abundantes fueron *Fibrobacter succinogenes*: Pa 1.6% y Po 0.92%, *Succinospira mobilis*: Pa 1.2% y Po 1.3%. El análisis ANOSIM y PCoA (Fig 10B) demostraron que no existe diferencia significativa entre sexos ($r = 0.104$, $p = 0.2056$). En Po observamos un incremento ($p < 0.05$) de 3.2 veces en comparación a Pa en la abundancia relativa de *Clostridium paraputrificum* (Tabla suplementaria 6).



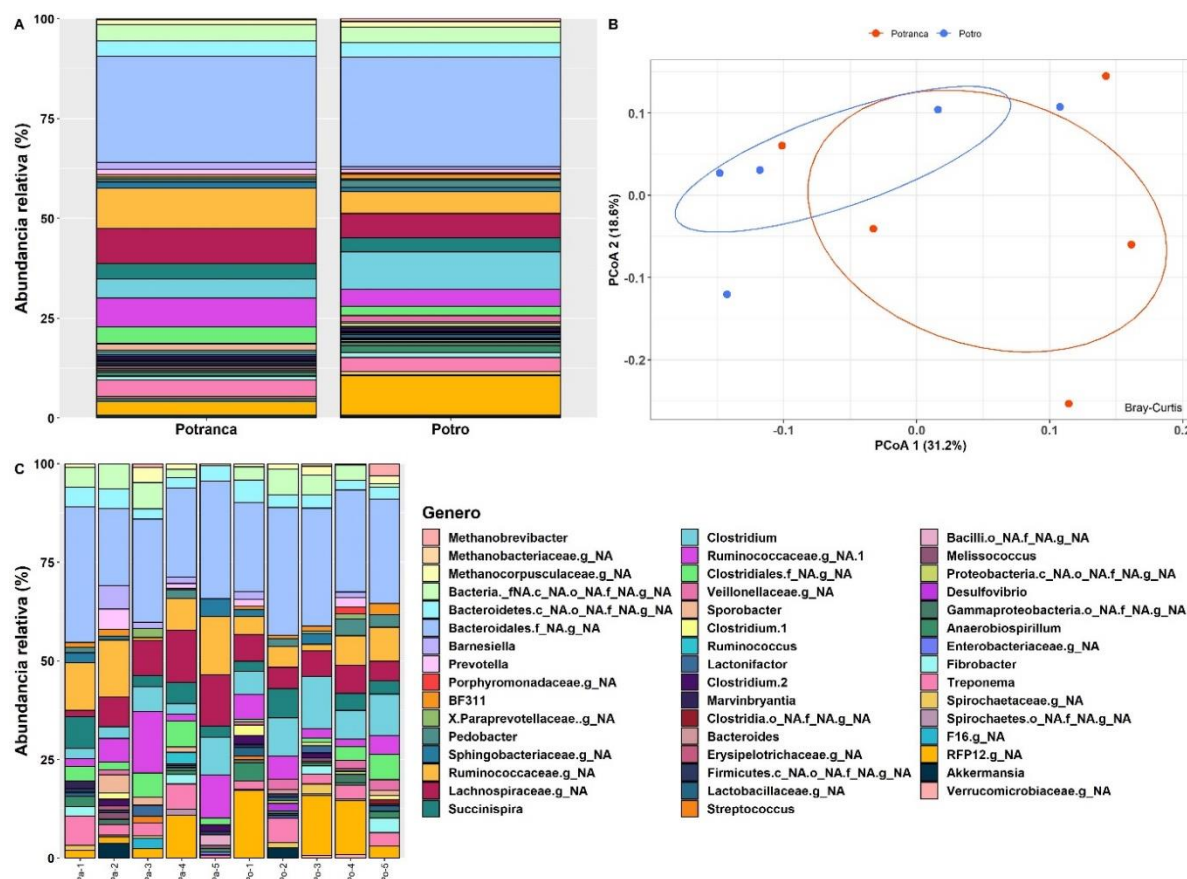


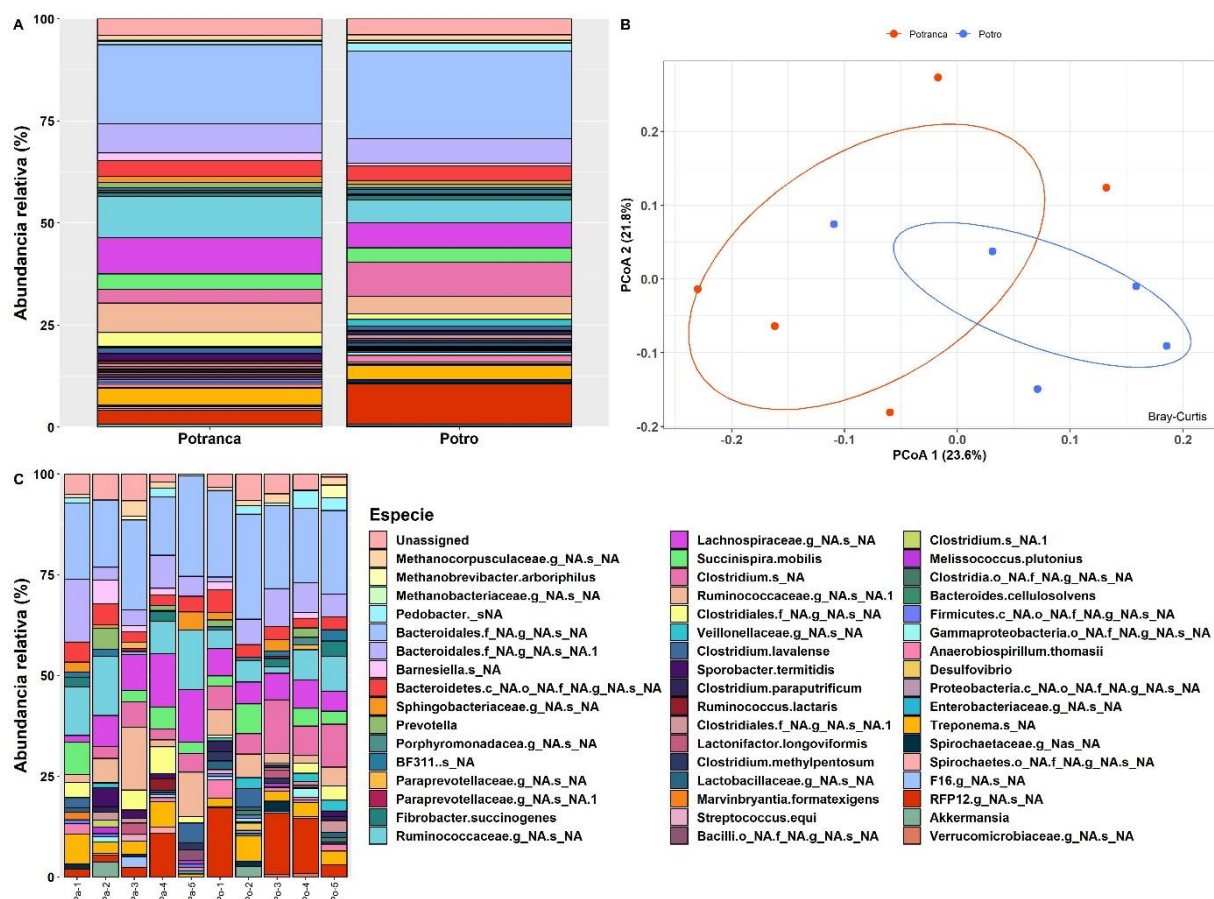
Fig. 9. Asignación de los principales grupos microbianos a nivel **Género** de potrancas y potros cuarto de milla

DISCUSIÓN

El presente estudio describe de manera general los hallazgos en las heces de los potros añales infectados naturalmente con ciatostominos. La siguiente discusión pretende hipotetizar, relacionar, interpretar y visualizar las implicaciones del rol del parasitismo como parte del microbioma y su probable interacción con los grupos bacterianos.

A pesar de que los umbrales de HPG para potros añales no se consideran clínicamente, ya que son desparasitados frecuentemente, los caballos de este estudio presentaron cargas parasitarias altas con un promedio de HPG de 1390 ± 698 , según los umbrales establecidos para caballos en la guía de control parasitario de la *American Association of Equine Practitioners* (AAEP, 2019) y la *European Scientific Council Companion Animal Parasites* (ESCCAP, 2020) (Fig 1). Además, los resultados del cultivo larvario confirmaron que se trata en esta ocasión una infección por ciatostominos al encontrar el 100% de larvas de este grupo (Fig. 2), hecho que permite reflexionar sobre la baja o nula presencia del género *Strongylus* como se ha reportado en otros países (Kaplan y Nielsen, 2010; ESCCAP, 2020). Estos

resultados constituyen en conjunto individuos de una población de altos eliminadores con ciatostominosis, recreando el fenómeno de *overdispersion* como lo establecen varios autores (Sréter *et al.*, 1994; Hoste *et al.*, 2001; 2002; Kaplan y Nielsen, 2010) (ver Fig.1). En este estudio el umbral encontrado en esta población de potros que pastan en la misma pradera fue de alrededor de ≥ 1600 HPG (25% de los animales) un valor por encima de lo que reportan en E.E.U.U.A.A. (AAEP, 2019) que es de ≥ 500 HPG y en Europa que es de ≥ 200 HPG (ESCAP, 2020; Misuno *et al.*, 2018). Este hallazgo permite reflexionar que los valores encontrados en otros países con la determinación de “alto eliminador” no necesariamente deben ser tomados como referencia en las diferentes y diversas zonas ecológicas y probablemente estos animales con cargas menores a los 1600 son moderados eliminadores. Se necesitan más estudios epidemiológicos en México para poder corroborar esto y poder profundizar la interacción de todos los agentes participantes en el microbioma equino, específicamente en colon y ciego, sin dejar a un lado otras especies de helmintos como *Parascaris* spp que afecta también a este grupo etario equino, considerando coocurrencias y multiparasitismo (Martínez-Ortiz-de-Montellano *et al.*, 2022b).



Con estas referencias internacionales, estos potros a pesar de ser altos eliminadores y estar en esa población de animales sujetos a una desparasitación forzosa es importante referirse a otros umbrales clínicos que no se vieron afectadas como el subjetivo estado de ánimo en un caballo y las variaciones en el peso estimado (Fig. 1). Tanto Pa como Po presentaron pesos ideales a su edad, raza y desempeño: 432kg y 399 kg respectivamente. Lo anterior coincide con Green (1961) que establece que un caballo debe tener en promedio al año de edad alrededor de un 60% de kg y su peso adulto ronda los 500kg.

Es importante resaltar que ningún caballo presentó signos clínicos de parasitismo, por lo tanto, se deduce que los animales cursaban una parasitiasis y que en este particular caso el grupo de animales puede considerarse resiliente. El principal factor para una resiliencia ante el parasitismo es el bienestar animal y la buena alimentación. La manifestación de resiliencia en parasitología es definida como “la habilidad del animal de mantener niveles productivos aceptables a pesar de la infección parasitaria” (Bishop, 2012) lo cual no debe ser confundido con la resistencia cuyo efecto en el animal es suprimir la infección, tener la capacidad de eliminar al parásito. Tener animales resistentes y resilientes a las enfermedades puede tener sentido en un rancho como en el que se llevó a cabo este

estudio, donde se puede proporcionar una nutrición constante de alta calidad. Esto nos lleva a reflexionar qué solamente los esfuerzos se están enfocando a cubrir las necesidades de producción de un caballo cuarto de milla como lo establecen (Martínez-Ortiz-de-Montellano *et al.*, 2022b). Es en este punto donde el Manejo Integrado Parasitario Equino puede dirigirse, sobre todo, a mejorar la nutrición animal para que de manera indirecta se tolere el parasitismo y ocurra simbiosis como el comensalismo, como otros autores han mencionado (Peachey *et al.*, 2018, 2019; Walshe *et al.*, 2020; Martínez-Ortiz-de-Montellano *et al.*, 2022b). En caballos, los cuadros clínicos de cólico por ciatostomins son asociados a la salida abrupta de las larvas del estadio cuatro a la luz intestinal, al parecer lo adultos establecidos en el lumen son menos patógenos. Esa particularidad del ciclo de vida de los nematodos también nos hace recapacitar sobre la interacción con las bacterias asociadas a la inflamación, que seguro agravan dichos cuadros clínicos. ¿Qué rol juegan las bacterias en un caballo alto eliminador y bien nutrido?, ¿acaso forma parte de esta comunidad?, ¿está ocurriendo una interacción equilibrada?, ¿sería necesario desparasitar con tanta frecuencia o podremos identificar un buen momento para hacerlo? Estas preguntas podrán responderse si se piensa de manera simplista que una adecuada nutrición puede regular el buen funcionamiento del tracto gastrointestinal (Martínez-Ortiz-de-

Montellano *et al.*, 2022b). Considerar lo anterior es importante ya que la microbiota de los caballos estudiados pudo sufrir escenarios de perturbación, en donde los animales presentarían *resistencia*, *resiliencia* y *redundancia*, pero tal vez nunca se llegó a *disbiosis*, justo porque no existieron episodios de enfermedad que lo demostraran y la función metabólica nunca se perdió. Esto se pudo observar en el peso vivo, en su estado de salud y ánimo, caballos que estaban listos para la subasta nacional. Se necesitan estudios más profundos para evidenciar lo anterior.

La composición del microbioma del ciego y del colon es esencial para comprender lo antes mencionado. Si bien, en este estudio se obtuvo la microbiota fecal, esta misma nos permitió proyectar la colónica y cecal. En estas porciones anatómicas, la interacción de sus poblaciones, en el caso de este estudio bacterias y nematodos, sin dejar de lado a los protozoarios, hongos y virus, son foco de estudio actualmente como “interacciones de la macrobiota-microbiota” (Martínez-Ortiz-de-Montellano *et al.*, 2022b). Percibir al huésped con un enfoque de *holobionte*, es decir un organismo multicelular complejo -el caballo- y todos sus microorganismos asociados (Zilber-Rosenberg y Rosenberg, 2008; Dheily *et al.*, 2019; Martínez-Ortiz-de-Montellano *et al.*, 2022b). Este estudio de caso es el primer esfuerzo en reportar la microbiota de potros y potrancas en México con cargas parasitarias de ciatostomídeos de moderadas a altas y represente el día a día de muchas manadas grandes o pequeñas en nuestros ecosistemas: caballos parasitados vs. caballos sin parásitos.

La microbiota gastrointestinal tiene un papel primordial en la nutrición, salud y enfermedad del hospedero y factores como la dieta, edad, sexo, infecciones y tratamientos médicos pueden alterar la microbiota provocando diferentes condiciones patológicas (Garber *et al.*, 2020; Martínez-Ortiz-de-Montellano *et al.*, 2022b). Nuestros resultados muestran que los principales **filos** bacterianos en las heces de caballo son Firmicutes y Bacteroidetes, Verrucomicrobia y Proteobacteria lo cual coincide con lo reportado en la literatura (Costa y Weese, 2012; Dicks *et al.*, 2014; Kauter *et al.*, 2019, Theelen *et al.*, 2021). Dentro de estos filos bacterianos se albergan grupos bacterianos con funciones específicas en ciego, colon y recto (Dicks *et al.*, 2014; Kauter *et al.*, 2019) que intervienen en eventos de inflamación, meteorización, cólico, síndromes de mala absorción y digestión, que se asocia al parasitismo por ciatostomídeos. Estudios en humanos han demostrado que un incremento en la abundancia relativa del filo Proteobacteria se asocia con disbiosis y con el desarrollo de enfermedades como síndrome metabólico, inflamación y cáncer (Shin *et al.*, 2015) en el presente estudio observamos que los potros presentan una mayor ($p < 0.05$) abundancia relativa de Proteobacteria, lo que podría ser un indicativo de una posible alteración de la

microbiota en estos asociada a la presencia de ciatostomídeos. En Pa se observó una mayor abundancia relativa de la Clostridiales en comparación a Po. En humanos, la disminución en la abundancia relativa de Clostridiales se ha asociado con el desarrollo de síndrome metabólico (Falalyeyeva *et al.*, 2022) y con síndrome de colon irritable (Rangel *et al.*, 2015). En equinos se ha demostrado que un incremento en la abundancia de Clostridiales puede estimular la respuesta inmune (Lindenberg *et al.*, 2019), debido a lo anterior es posible que Pa presenten una mejor respuesta inmune en comparación a las Po. Es interesante que en Po se observó una mayor abundancia relativa de la **Familia** Veillonellaceae en comparación a Pa. La familia Veillonellaceae se ha asociado con un incremento en la respuesta inflamatoria sistémica (Maynard, 2019). De igual manera a nivel Familia Pa presentaron una abundancia relativa mayor ($p = 0.06$) de Ruminococcaceae (19.55%) en comparación Po (10.98 %); en humanos se ha demostrado que la presencia elevada de la familia Ruminococcaceae se asocia con una microbiota sana (Ishiguro *et al.*, 2018) y con la disminución en la respuesta inflamatoria (Roy, 2017). A nivel especie los Po presentaron una mayor abundancia de *Clostridium paraputrificum*, en humanos, esta especie de Clostridiales se ha asociado con una gran variedad de enfermedades infecciosas (Muñoz *et al.*, 2019). Con respecto a lo anterior, no se tienen los elementos para asegurar que probablemente los Po de este estudio sean más susceptibles a cambios en la respuesta inflamatoria asociada a la infección parasitaria, pero expone que puede ser una función que deba estudiarse para confirmar esta hipótesis, a través de futuros estudios de metaproteómica y metabolómica. Si se toma en cuenta que la ciatostomíasis ocurren por nematodos estrongilidos que se encuentran en ciego y colon, lugar donde se encontró esta comunidad bacteriana y que no se sabe si esta interacción es benéfica o perjudicial, el estudio del microbioma es importante. El caballo se vale de la microbiota para muchos procesos de detoxificación. La microbiota es dinámica y varía con la edad del individuo y factores externos, más de 2000 géneros actúan en el metabolismo digestivo: fermentación, energía, biotransformación de toxinas y procesos de inmunidad. Pero también, la microbiota está asociada a 50 patologías del intestino. El abuso de químicos antihelmínticos y antimicrobianos generará también procesos de perturbación bajo escenarios muy probables de disbiosis. El estudio más reciente de Kunz *et al.* (2019), sugiere que la moxidectina y el praziquantel disminuyeron la diversidad microbiana. Sin embargo, otros autores aseguran necesitar más estudios con el proceso de hipersensibilidad causado por la ciatostomíasis tratada con moxidectina, específicamente cuando las larvas del estadio cuatro emergen al lumen (Walshe *et al.*, 2019;) y otros factores bióticos y abióticos incluyendo el mismo abuso del tratamiento antihelmíntico (Garber *et al.*, 2020; Martínez-Ortiz-de-Montellano *et al.*, 2022b).

La propia comunidad de ciatostominos es compleja para los veterinarios en el mundo, se habla de más de 50 especies involucradas, difíciles de identificar, el ciclo es también poco conocido sobre todo en la fase de hipobiosis, el rol y la interacción huésped-microbiota-macrobiota hace necesario los estudios con herramientas ómicas para poder comprender esta asociación que puede ser facultativa cuando es comensalismo o antagonica como el parasitismo.

CONCLUSIÓN

Este estudio logró caracterizar una población microbiana de caballos altamente infectados con nematodos del gran grupo de los ciatostominos. También, este trabajo proporciona información actual y relevante sobre la microbiota de los caballos que, hasta la fecha, solo hay comparativamente pocos estudios en México. El presente estudio se circunscribe a una descripción de la ocurrencia simultánea de grupos bacterianos y ciatostominos pero no se descarta la interacción con otros helmintos como *Parascaris* spp o *Anoplocephala* spp e incluso protozoarios, los cuales serían un buen blanco de estudio en potros de este grupo etario. Aunque este es un reporte del hallazgo de los componentes de la microbiota de la común situación del caballo parasitado y es relevante en México para futuros estudios, es categórico explorar la composición de la metacomunidad de un caballo libre de parásitos. En este trabajo se plantea la posibilidad de que factores ambientales y de alimentación intervinieron para que los caballos tuvieran un estatus resiliente y regularan las altas cargas parasitarias, mismos que probablemente modificaron la composición bacteriana y también resultara resistente, resiliente o redundante. Se necesitan más estudios para corroborar que la nutrición en este tipo de criaderos juega un rol importante ante el parasitismo, así como también estudios de metaproteómica y metabolómica para poder encontrar al menos los géneros involucrados en el metabolismo y dilucidar las rutas metabólicas involucradas en la resistencia y resiliencia del hospedero a los parásitos. La identificación de estos factores y la investigación del impacto en la relación huésped-macrobiota-microbiota contribuirán significativamente a nuestra comprensión del papel del holobioma en la salud del caballo dentro del Manejo Integrado Parasitario Equino y la Medicina Preventiva.

Agradecimientos

Este estudio fue posible a la Universidad Nacional Autónoma de México a través del Proyecto PAPIIT IN226120. Los autores agradecen especialmente el apoyo médico y técnico del MVZ. Bernardo Monroy-Hernández durante las visitas al rancho. Al MVZ. Jorge Luis Lemus y los propietarios del rancho Hacienda Santiago, por las facilidades, la confianza y el apoyo otorgados durante la colecta de las muestras.

Funding. It was granted through the Dirección General del Personal Académico (DGAPA) of the UNAM with the Program of Support for Research and Technological Innovation Projects, with Project number PAPIIT IN226120 registered in the FMVZ UNAM, México.

Conflict of interest. The authors of this article declare that there is no real or potential conflict of interest that could inappropriately influence the work presented.

Compliance with ethical standards. All applicable international, national and/or institutional guidelines for the care and use of animals were followed through protocol #682 submitted and approved by the Internal Committee for the Care and Use of Animals (CICUA) of the FMVZ of UNAM.

Data availability. Data are available for consultation upon request.

Author Contribution Statement (CRediT).

C. Martínez-Ortiz-de-Montellano- Conceptualization, Funding acquisition, Investigation, Methodology, Project administration, Resources, Supervision, Validation, Visualization Writing – original draft, Writing – review & editing.
C.C. Márquez Mota- Conceptualization, Data curation, Formal Analysis, Investigation, Methodology, Resources, Software, Writing – original draft, Writing – review & editing.
L.M. Montes-Carreto- Data curation, Formal Analysis, Software, Writing – review & editing
H.O. Toledo Alvarado- Data curation, Formal Analysis, Software, Writing – review & editing.
R.E. Quiroz-Castañeda- Validation, Visualization, Writing – review & editing.
E. Dantán-González- Validation, Visualization, Writing – review & editing.

REFERENCIAS

- Bellaw, J. and Nielsen, M.K., 2015. Evaluation of Baermann apparatus sedimentation time on recovery of *Strongylus vulgaris* and *S. edentatus* third stage larvae from equine coprocultures. *Veterinary Parasitology*, 211(1-2), pp. 99-101. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.05.001>
- Bishop, S., 2012. A consideration of resistance and tolerance for ruminant nematode infections. *Frontiers in Genetics*, 3, p. 168. <https://doi.org/10.3389/fgene.2012.00168>
- Bokulich, N.A., Kaehler, B.D., Rideout, J.R., Dillon, M., Bolyen, E., Knight, R., Huttley, G.A. and Caporaso, J.G., 2018. Optimizing taxonomic classification of marker-gene amplicon sequences with QIIME 2's q2-feature-classifier plugin. *Microbiome*, 6 (1), pp.1-17. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0470-z>

- Bolyen, E., Rideout, J.R., Dillon, M.R., Bokulich, N.A., Abnet, C.C., Al-Ghalith, G.A., Alexander, H., Alm, E.J., Arumugam, M., Asnicar, F., Bai, Y., Bisanz, J.E., Bittinger, K., Brejnrod, A., Brislawn, C.J., Brown, C.T., Callahan, B.J., Caraballo-Rodríguez, A.M., Chase, J., Cope, E.K., Da Silva, R., Diener, C., Dorrestein, P.C., Douglas, G.M., Durall, D.M., Duvallet, C., Edwardson, C.F., Ernst, M., Estaki, M., Fouquier, J., Gauglitz, J.M., Gibbons, S.M., Gibson, D.L., Gonzalez, A., Gorlick, K., Guo, J., Hillmann, B., Holmes, S., Holste, H., Huttenhower, C., Huttley, G.A., Janssen, S., Jarmusch, A.K., Jiang, L., Kaehler, B.D., Bin Kang, K., Keefe, C.R., Keim, P., Kelley, S.T., Knights, D., Koester, I., Kosciulek, T., Kreps, J., Langille, M.G.I., Lee, J., Ley, R., Liu, Y.X., Loftfield, E., Lozupone, C., Maher, M., Marotz, C., Martin, B.D., McDonald, D., McIver, L.J., Melnik, A.V., Metcalf, J.L., Morgan, S.C., Morton, J.T., Naimey, A.T., Navas-Molina, J.A., Nothias, L.F., Orchanian, S.B., Pearson, T., Peoples, S.L., Petras, D., Preuss, M.L., Priesse, E., Rasmussen, L.B., Rivers, A., Robeson II, M.S., Rosenthal, P., Segata, N., Shaffer, M., Shiffer, A., Sinha, R., Song, S.J., Spear, J.R., Swafford, A.D., Thompson, L.R., Torres, P.J., Trinh, P., Tripathi, A., Turnbaugh, P.J., Ul-Hasan, S., van der Hoof, J.J.J., Vargas, F., Vázquez-Baeza, Y., Vogtmann, E., von Hippel, M., Walters, W., Wan, Y., Wang, M., Warren, J., Weber, K.C., Williamson, C.H.D., Willis, A.D., Xu, Z.Z., Zaneveld, J.R., Zhang, Y., Zhu, Q., Knight R. and Caporaso, J.G., 2019. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology*, 37(8), pp. 852–857. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>
- Buttigieg, P.L. and Ramette, A., 2014. A guide to statistical analysis in microbial ecology: A community-focused, living review of multivariate data analyses. *FEMS Microbiology Ecology*, 90(3), pp. 543–550. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12437>
- Callahan, B.J., Mc Murdie, P.J., Rosen, M.J., Han, A.W., Johnson, A. J. and Holmes, S.P., 2016. DADA2: High resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), pp. 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- Costa, M.C. and Weese, S., 2012. The equine intestinal microbiome. *Animal Health Research Reviews*, 13(1), pp. 121–128. <https://doi.org/10.1017/S1466252312000035>
- Corticelli, B. and Lai, M., 1963. Ricerche sulla tecnica di coltura delle larve infestive degli strongili gastro-intestinali del bovino. *Acta Medica Veterinaria*, 9(V–VI).
- Chen, S., Zhou, Y., Chen, Y. and Gu, J., 2018. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics* 34(17), pp. i884–i890. 10.1093/bioinformatics/bty560
- Dheilly, N.M., Martínez Martínez, J., Rosario, K., Brindley, P.J., Fichorova, R.N., Kaye, J.Z., Kohl, K.D., Knoll, L.J., Lukeš, J., Perkins, S.L., Poulin, R., Schriml, L. and Thompson, L.R., 2019. Parasite microbiome project: Grand challenges. *PLoS Pathogenes*, 15(10), p. e1008028. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008028>
- Dicks, L.M.T., Botha, M., Dicks, E. and Botes, M., 2014. The equine gastro-intestinal tract: An overview of the microbiota, disease and treatment. *Livestock Science*, 160, pp. 69–81. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2013.11.025>
- European Scientific Counsel Companion Animal Parasites (ESCCAP)., 2020. pp. 22–24. www.esccap.es
- Falalyeyeva, T., Chornenka, N., Cherkasova, L., Tsyryuk, O., Molchek, N., Kovalchuk, O., Kyriachenko, Y., Ostapchenko, L. and Kobylak, N., 2022. Gut Microbiota Interactions With Obesity. In: Reference Module in Food Science. Elsevier. pp. 201–219. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819265-8.00030-9>
- Garber, A., Hastie, P. and Murray, J.A., 2020. Factors Influencing Equine Gut Microbiota: Current Knowledge. *Journal of Equine Veterinary Science*, 88, pp. 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2020.102943>
- Green, D.A., 1961. A review of studies on the growth rate of the horse. *British Veterinary Journal*, 117(5), pp. 181–191.
- García, E., 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto de Geografía. México: Universidad Nacional Autónoma de México. p. 50–75.
- Gause, W.C. and Maizels, R.M., 2016. Macrobiota — helminths as active participants and partners of the microbiota in host intestinal homeostasis. *Current Opinion in Microbiology* 32, pp. 14–18.
- Hayes, K. and Copeland, S.M., 2001. Hands on Senior Horse Care: The Complete Book of Senior Equine Management and First Aid. USA. Trafalgar Square Books.
- Hoste, H., Le Frieux, Y., Goudeau, C., Chartier, C., Pors, I., Broqua, C. and Bergeaud, J.P., 2002. Distribution and repeatability of nematode fecal egg counts in dairy goats: a farm survey and implications for worm control. *Research of Veterinary Science*, 72(3), pp. 211–215. <https://doi.org/10.1053/rvsc.2002.0546>
- Hoste, H., Le Frieux, Y. and Pommaret A., 2001. Distribution and repeatability of fecal egg counts and blood parameters in dairy goats naturally infected with gastrointestinal nematodes. *Research*

of *Veterinary Science*, 70(1), pp. 57-60.
<http://doi.org/10.1053/rvsc.2000.0442>

Ishiguro, E., Haskey, N. and Campbell, K., 2018. Gut Microbiota Throughout the Lifespan. *Gut Microbiota*, p.p. 41-55.

Kaplan, R.M. and Nielsen, M.K., 2010. An evidence-based approach to equine parasite control: It ain't the 60s anymore. *Equine Veterinary Education*, 22(6), pp. 306-316.
<https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.2010.00084.x>

Kauter, A., Epping, L., Semmler, T., Antao, E.M., Kannapin, D., Stoeckle, S.D., Gehlen, H., Lübke-Becker, A., Günther, S., Wieler, L.H. and Walther, B., 2019. The gut microbiome of horses: current research on equine enteral microbiota and future perspectives. *Animal Microbiome* 1(1), pp. 1-15.
<https://doi.org/10.1186/s42523-019-0013-3>

Kornaś, S., Gawor, J., Cabaret, J., Molenda, K., Skalska, M. and Nowosad, B., 2009. Morphometric identification of equid cyathostome (Nematoda: Cyathostominae) infective larvae. *Veterinary Parasitology*, 162(3-4), pp. 290-294.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.03.018>

Kunz, I.G.Z., Reed, K.J., Metcalf, J.L., Hassel, D.M., Coleman, R.J., Hess, T.M. and Coleman, S.J., 2019. Equine fecal microbiota changes associated with anthelmintic administration. *Journal of Equine Veterinary Science*, 77, pp. 98-105.
<https://doi.org/10.1016/j.jevs.2019.01.018>

Lindenberg, F., Krych, L., Fielden, J., Frokiaer, H., van Galen, G., Nielsen, D.S. and Hansen, A.K., 2019. Expression of immune regulatory genes correlate with the abundance of specific Clostridiales and Verrucomicrobia species in the equine ileum and cecum. *Scientific Reports*, 9(1), pp. 1-10.
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-49081-5>

Lozupone, C. A., Hamady, M., Kelley, S. T. and 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), pp. 1576-1585. <https://doi.org/10.1128/AEM.01996-06>

Lozupone, C. and Knight, R. (2005). UniFrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(12), pp. 8228-8235.
<https://doi.org/10.1128/AEM.71.12.8228-8235.2005>

Martínez-Ortiz-de-Montellano, C., Rodríguez-Vivas, R.I., Rosado-Aguilar, J.A. and Galicia-Velázquez, G., 2021. Estudio de la eficacia de lactonas macrocíclicas en cuatro criaderos equinos en el centro de México. XXVI Congreso

Panamericano de Ciencias Veterinarias PANVET.
www.federacionmvz.org/programa-panvet

Martínez-Ortiz-de-Montellano, C., Quiroz-Castañeda, R.E., Dantán-González, E., Aguilar-Díaz, H., Márquez-Mota, C.C. and Toledo-Alvarado, H.O., 2022b. Concepción integrativa del parasitismo: redefiniendo nuevos conceptos. *Bioagrociencias* 15(2), pp. 48-49.
<http://dx.doi.org/10.56369/BAC.4448>.

Martínez-Ortiz-de-Montellano, C., Torres-Acosta, J.F.J., Ojeda-Robertos, N.F., González-Reyes, L. and Muñoz-Marín, S., 2022a. Manejo Integrado de Parásitos en Pequeños Rumiantes. *Bioagrociencias*. 15 (2), pp. 1-10.
<http://dx.doi.org/10.56369/BAC.4463>.

Matthews, J., 2014. Anthelmintic resistance in equine nematodes. *International Journal of Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 4(3), pp. 310-315.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2014.10.003>

Maynard, C.L., 2019. The microbiota in immunity and inflammation. Rich, R.R., Fleisher, T.A., Shearer, W.T., Schroeder, H.W., Frew, A.J., Weyand, C.M., editors. In: *Clinical Immunology*. Elsevier, pp. 207-219.

Misuno, E., Stacy, C., Anderson, L., Jenkins, E., Wagner, B., Dembek, K. and Petrie, L., 2018. Characteristics of parasitic egg shedding over a 1-year period in foals and their dams in 2 farms in central Saskatchewan. *Canadian Veterinary Journal*, 59(3), pp. 284-292.

Muñoz, M., Restrepo-Montoya, D., Kumar, N., Iraola, G., Herrera, G., Ríos-Chaparro, D. I., Díaz-Arevalo, D., Patarroyo, M.A., Lawley, T.D. and Ramírez, J. D., 2019. Comparative genomics identifies potential virulence factors in *Clostridium tertium* and *C. paraputrificum*. *Virulence*, 10(1), pp. 657-676.
<https://doi.org/10.1080/21505594.2019.1637699>

McDonald, D., Price, M.N., Goodrich, J., Nawrocki, E.P., DeSantis, T.Z., Probst, A., Andersen, G.L., Knight, R. and Hugenholtz, P., 2012. An improved Greengenes taxonomy with explicit ranks for ecological and evolutionary analyses of bacteria and archaea. *The ISME Journal*, 6(3), pp. 610- 618.

Nielsen, M.K., 2012. Sustainable Equine Parasite Control. *Veterinary Parasitology*, 185(1), pp. 32-44.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.10.012>

Nielsen, M.K., 2021. Parasite faecal egg counts in equine veterinary practice. *Equine Veterinary Education* pp. 1-8 <https://doi.org/10.1111/eve.13548>

Nielsen, M.K., Mittel, L., Grice, A., Erskine, M., Graves, E., Vaala, W., Tully, R.C., French, D.D.,

- Bowmann, R. and Kaplan, R.M., 2019. *AAEP Parasite Control Guidelines*. American Association of Equine Practitioners. www.aaep.org
- Peachey, L.E., Castro, C., Molena, R.A., Jenkins, T.P., Griffin, J.L. and Cantacessi, C., 2019. Dysbiosis associated with acute helminth infections in herbivorous youngstock - observations and implications. *Science Reports*, 9(1), pp. 1.16. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47204-6>
- Peachey, L.E., Molena, R.A., Jenkins, T.P., Di Cesare, A., Traversa, D., Hodgkinson, J.E. and Cantacessi, C., 2018. The relationships between faecal egg counts and gut microbial composition in UK Thoroughbreds infected by cyathostomins. *International Journal of Parasitology*, 48(6), pp. 403-412. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2017.11.003>
- Rangel, I., Sundin, J., Fuentes, S., Repsilber, D., De Vos, W.M. and Brummer, R.J., 2015. The relationship between faecal-associated and mucosal-associated microbiota in irritable bowel syndrome patients and healthy subjects. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 42(10), pp. 1211-1221. <https://doi.org/10.1111/apt.13399>
- Requena, T. and Velasco, M., 2021. The human microbiome in sickness and in health. *Revista Clínica Española*, 221(4), pp. 233-240. <https://doi.org/10.1016/j.rceng.2019.07.018>
- Roy, D., 2017. Fecal Microbiota and Probiotic Yogurt Intake. Shah NP, editor. In: *Yogurt in Health and Disease Prevention*. USA: Academic Press, p. 237-258.
- Sommer, F., Anderson, J., Bharti, R., Raes, J. and Rosenstiel, P., 2017. The resilience of the intestinal microbiota influences health and disease. *Nature*, 15(10), pp. 630-638. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.58>
- Shin, N. R., Whon, T. W. and Bae, J. W., 2015. Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota. *Trends in biotechnology*, 33(9), 496-503.
- Sréter, T., Molnár, V. and Kassai, T. 1994. The distribution of nematode egg counts and larval counts in grazing sheep and their implications for parasite control. *International Journal of Parasitology*, 24(1), pp. 103-108. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(94\)90063-9](https://doi.org/10.1016/0020-7519(94)90063-9)
- Theelen, M.J.P., Luiken, R.E.C., Wagenaar, J.A., Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, M.M., Rossen, J.W.A. and Zomer, A.L., 2021. The Equine Faecal Microbiota of Healthy Horses and Ponies in The Netherlands: Impact of Host and Environmental Factors. *Animals*, 11(6), p. 1762. <https://doi.org/10.3390/ani11061762>
- Ursell, L.K., Metcalf, J.L., Parfrey, L.W. and Knight, R., 2012. Defining the human microbiome. *Nutrition Reviews*, 70, pp. 38-44. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2012.00493.x>
- Walshe, N., Duggan, V., Cabrera-Rubio, R., Crispie, F., Cotter, P., Feehan, O. and Mulcahy, G., 2019. Removal of adult cyathostomins alters faecal microbiota and promotes an inflammatory phenotype in horses. *International Journal of Parasitology*, 49(6), pp. 489-500. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2019.02.003>
- Walshe, N., Mulcahy, G., Hodgkinson, J. and Peachey, L., 2020. No Worm Is an Island; The Influence of Commensal Gut Microbiota on Cyathostomin Infections. *Animals*, 10(12), p. 2309. <https://doi.org/10.3390/ani10122309>
- Woellner- Santos, D., Madeira de Carvalho, L.M.D. and Molento, M.B., 2018. Identification of third stage larval types of cyathostomins of equids: An improved perspective. *Veterinary Parasitology*, 260, pp. 49-52. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.08.007>
- Zajac, M.A. and Conboy, A.G., 2012. *Veterinary Clinical Parasitology*. 8th Ed. Blackwell publishing, London, UK. pp. 67-72.
- Zilber-Rosenberg, I. and Rosenberg, E., 2008. Role of microorganisms in the evolution of animals and plants: the hologenome theory of evolution. *FEMS Microbiology Reviews*, 32(5), pp. 723-735. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00123.x>

Tablas suplementarias

Tabla 1. Abundancia relativa de los principales grupos microbianos a nivel Filo de potrancas y potros.

Filo	Grupo		EE	P
	Potranca	Potro		
No asignado (NA)	4.01	3.93	0.756	0.96
Euryarchaeota	1.53	2.07	0.569	0.60
Firmicutes	45.77	37.17	2.72	0.12
Bacteroidetes	36.80	37.00	0.24	0.94
Verrucomicrobia	4.10	10.54	2.06	0.13
Spirochaetes	4.86	4.55	0.829	0.86
Proteobacteria	1.43	3.38	0.509	0.05
Cyanobacteria	0.00	0.22	0.074	0.14
Fibrobacteres	0.97	1.15	0.451	0.99
TM7	0.52	0.00	0.261	0.32

Tabla 2. Abundancia relativa de los principales grupos microbianos a nivel Clase de potrancas y potros.

Filo	Clase	Grupo		EE	P
		Potranca	Potro		
No asignado (NA)	NA	4.01	3.93	0.76	0.96
Euryarchaeota	Methanobacteria	0.31	0.74	0.30	0.81
	Methanomicrobia	1.23	1.34	0.37	0.89
Bacteroidetes	Sphingobacteriia	2.28	2.82	0.46	0.59
	Bacteroidia	30.68	30.64	0.95	0.99
	Bacteroidetes;c_NA	3.84	3.54	0.37	0.71
Cyanobacteria	4C0d-2	0.00	0.12	0.06	0.32
	Chloroplast	0.00	0.10	0.05	0.32
Fibrobacteres	Fibrobacteria	0.97	1.15	0.45	0.99
Firmicutes	Clostridia	43.11	35.33	2.51	0.13
	Bacilli	1.85	1.39	0.33	0.13
	Firmicutes;c_NA	0.62	0.39	0.12	0.39
	Erysipelotrichi	0.20	0.06	0.10	0.88
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	1.43	2.54	0.44	0.23
	Deltaproteobacteria	0.00	0.36	0.18	0.32
	Proteobacteria;c_NA	0.00	0.29	0.10	0.14
	Betaproteobacteria	0.00	0.13	0.05	0.14
	Alphaproteobacteria	0.00	0.05	0.03	0.32
Spirochaetes	Spirochaetes	4.86	4.55	0.83	0.86
TM7	TM7-3	0.52	0.00	0.26	0.32
Verrucomicrobia	Verruco-5	3.36	9.75	2.14	0.14
	Verrucomicrobiae	0.74	0.79	0.41	0.41

Tabla 3. Abundancia relativa de los principales grupos microbianos a nivel Orden de potrancas y potros.

Filo	Orden	Grupo		EE	P
		Potranca	Potro		
Euryarchaeota	Methanomicrobiales	0.31	0.74	0.30	0.89
	Methanobacteriales	1.23	1.34	0.37	0.81
No asignado (NA)	NA	4.01	3.93	0.76	0.96
Bacteroidetes	Sphingobacteriales	2.28	2.82	0.46	0.60
	Bacteroidales	30.68	30.65	0.95	0.99
	Bacteroidetes;c_NA;o_NA	3.83	3.54	0.37	0.71
Cyanobacteria	YS2	0.00	0.12	0.06	0.32
	Streptophyta	0.00	0.10	0.05	0.32
Fibrobacteres	Fibrobacterales	0.97	1.15	0.45	0.99
Firmicutes	Clostridiales	43.11	35.09	2.48	0.11
	Lactobacillales	1.33	1.29	0.28	0.95
	Bacilli;o_NA	0.53	0.11	0.26	0.88
	Clostridia;o_NA	0.00	0.24	0.12	0.32
	Firmicutes;c_NA;o_NA	0.62	0.39	0.12	0.39
	Erysipelotrichales	0.20	0.06	0.10	0.88
	Gammaproteobacteria;o_NA	0.42	0.80	0.22	0.43
	Aeromonadales	0.88	1.61	0.44	0.60
Proteobacteria	Desulfovibrionales	0.00	0.37	0.18	0.32
	Proteobacteria;c_NA;o_NA	0.00	0.29	0.10	0.14
	Enterobacteriales	0.13	0.13	0.09	0.88
	Burkholderiales	0.00	0.14	0.05	0.14
	Alphaproteobacteria;o_NA	0.00	0.05	0.03	0.32
	Spirochaetes	4.48	4.37	0.79	0.81
	Spirochaetes;o_NA	0.38	0.17	0.15	0.95
TM7	CW040	0.52	0.00	0.26	0.32
Verrucomicrobia	WCHB1-41	3.36	9.75	2.14	0.14
	Verrucomicrobiales	0.74	0.79	0.41	0.41

Tabla 4. Abundancia relativa de los principales grupos microbianos a nivel Familia de potrancas y potros.

Filo	Familia	Grupo		EE	P
		Potranca	Potro		
No asignado (NA)	NA	4.01	3.93	0.76	0.96
Euryarchaeota	Methanocorpusculaceae	1.23	1.34	0.37	0.89
	Methanobacteriaceae	0.31	0.74	0.30	0.81
Bacteroidetes	Bacteroidetes.c_NA.o_NA.f_NA	3.84	3.54	0.37	0.71
	Sphingobacteriaceae	2.28	2.82	0.46	0.59
	Bacteroidales._NA	19.36	21.37	1.13	0.41
	Bacteroidales.f_NA	7.13	5.93	1.27	0.67
	Barnesiellaceae	1.81	0.68	0.58	0.44
	Prevotellaceae	1.27	0.80	0.53	0.99
	Porphyromonadaceae	0.00	0.37	0.19	0.32
	Bacteroidaceae	0.66	1.14	0.29	0.44
	Paraprevotellaceae	0.45	0.36	0.24	0.70
Cyanobacteria	YS2.f_NA	0.00	0.12	0.06	0.32
	Streptophyta.f_NA	0.00	0.10	0.05	0.32
Fibrobacteres	Fibrobacteraceae	0.97	1.15	0.45	0.99
Firmicutes	Ruminococcaceae	19.55	10.98	2.26	0.06
	Lachnospiraceae	15.18	15.79	1.59	0.86
	Veillonellaceae	4.03	5.15	0.99	0.60
	Clostridiales.f_NA	3.40	1.42	0.71	0.74
	Clostridiaceae	0.32	0.87	0.29	0.29
	Clostridiales.f_NA1	0.62	0.88	0.32	0.19
	Bacilli.o_NA.f_NA	0.53	0.11	0.26	0.88
	Lactobacillaceae	0.39	0.86	0.23	0.34
	Streptococcaceae	0.34	0.20	0.19	0.88
	Enterococcaceae	0.50	0.22	0.18	0.64
	Clostridia.o_NA.f_NA	0.00	0.24	0.12	0.32
	Firmicutes.c_NA.o_NA.f_NA	0.62	0.39	0.12	0.39
	Erysipelotrichaceae	0.20	0.06	0.10	0.88
	Lactobacillales.f_NA	0.10	0.00	0.05	0.32
Proteobacteria	Gammaproteobacteria.o_NA.f_NA	0.42	0.80	0.22	0.43
	Succinivibrionaceae	0.88	1.61	0.44	0.60
	Enterobacteriaceae	0.13	0.13	0.09	0.88
	Desulfovibrionaceae	0.00	0.36	0.18	0.32
	Proteobacteria.c_NA.o_NA.f_NA	0.00	0.29	0.10	0.14
	Burkholderiales.f_NA	0.00	0.13	0.05	0.14
	Alphaproteobacteria.f_NA	0.00	0.05	0.03	0.32
Spirochaetes	Spirochaetaceae	4.48	4.37	0.79	0.92
	Spirochaetes.o_NA.f_NA	0.38	0.17	0.15	0.72
TM7	F16	0.52	0.00	0.26	0.32
Verrucomicrobia	RFP12	3.36	9.75	2.14	0.14
	Verrucomicrobiaceae	0.74	0.79	0.41	0.41

Tabla 5. Abundancia relativa de los principales grupos microbianos a nivel Género de potrancas y potros.

Filo	Género	Grupo		EE	P
		Potranca	Potro		
Euryarchaeota	Methanobrevibacter	0.20	0.62	0.41	0.88
	Methanobacteriaceae.g_NA	0.11	0.13	0.12	0.88
	Methanocorpusculaceae.g_NA	1.23	1.35	1.29	0.97
No asignado (NA)	NA	4.03	3.94	3.98	0.96
Bacteroidetes	Bacteroidetes;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA	3.84	3.55	3.70	0.72
	Bacteroidales;f_NA;g_NA	26.53	27.44	26.99	0.78
	Barnesiella	1.82	0.69	1.25	0.44
	Prevotella	1.27	0.80	1.04	1.00
	Porphyromonadaceae;g_NA	0.00	0.37	0.19	0.32
	BF311	0.66	1.15	0.90	0.43
	[Paraprevotellaceae];g_NA	0.46	0.36	0.41	0.70
	Pedobacter	0.72	1.91	1.32	0.32
	Sphingobacteriaceae;g_NA	1.56	0.92	1.24	0.58
	Firmicutes;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA	0.62	0.39	0.50	0.39
	Ruminococcaceae;g_NA	10.06	5.53	7.79	0.60
	Lachnospiraceae;g_NA	8.86	6.16	7.51	0.12
	Succinispira	3.80	3.51	3.65	0.88
	Clostridium	4.82	9.35	7.08	0.04
	Ruminococcaceae;g_NA	7.25	4.22	5.73	0.17
Firmicutes	Clostridiales;f_NA;g_NA	4.03	2.32	3.17	0.31
	Veillonellaceae;g_NA	0.24	1.66	0.95	0.06
	Sporobacter	1.61	0.28	0.94	0.20
	Clostridium	0.32	0.87	0.60	0.29
	Ruminococcus	0.58	0.00	0.29	0.32
	Lactonifactor	0.56	0.38	0.47	0.88
	Clostridium	0.68	0.72	0.70	0.99
	Marvinbryantia	0.39	0.00	0.20	0.14
	Clostridia;o_NA;f_NA;g_NA	0.00	0.25	0.12	0.32
	Bacteroides	0.00	0.22	0.11	0.32
	Erysipelotrichaceae;g_NA	0.20	0.00	0.10	0.32
	Lactobacillaceae;g_NA	0.31	0.87	0.59	0.27
	Streptococcus	0.35	0.20	0.27	0.88
	Bacilli;o_NA;f_NA;g_NA	0.53	0.11	0.32	0.88
	Melissococcus	0.50	0.23	0.36	0.64
	Proteobacteria;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA	0.00	0.29	0.15	0.14
	Desulfovibrio	0.00	0.37	0.18	0.32
	Gammaproteobacteria;o_NA;f_NA;g_NA	0.42	0.81	0.61	0.43
	Anaerobiospirillum	0.88	1.62	1.25	0.60
	Enterobacteriaceae;g_NA	0.13	0.13	0.13	0.88
Fibrobacteres	Fibrobacter	0.97	1.16	1.06	0.32
Spirochaetes	Treponema	4.13	3.53	3.83	0.69
	Spirochaetaceae;g_NA	0.36	0.87	0.61	0.44
	Spirochaetes;o_NA;f_NA;g_NA	0.39	0.18	0.28	0.81
TM7	F16;g_NA	0.53	0.00	0.26	0.39
Verrucomicrobia	RFP12;g_NA	3.36	9.80	6.58	0.14
	Akkermansia	0.74	0.50	0.62	0.88
	Verrucomicrobiaceae;g_NA	0.00	0.29	0.15	0.14

Tabla 6. Abundancia relativa de los principales grupos microbianos a nivel Especie de potrancas y potros.

Filo	Especie	Género		EE	P
		Potrancia	Potro		
No asignado (NA)	NA	4.04	3.94	0.76	0.95
Euryarchaeota	Methanocorpusculaceae;g_NA;s_NA	1.23	1.35	0.37	0.60
	Methanobrevibacter arboriphilus	0.20	0.62	0.31	0.88
	Methanobacteriaceae;g_NA;s_NA	0.11	0.13	0.08	0.92
Bacteroidetes	Pedobacter;s_NA	0.72	1.91	0.50	0.32
	Bacteroidales;f_NA;g_NA;s_NA	19.44	21.48	1.12	0.40
	Bacteroidales;f_NA;g_NA;s_NA	7.14	5.96	1.27	0.67
	Barnesiella;s_NA	1.83	0.69	0.59	0.44
	Bacteroidetes;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_NA	3.85	3.55	0.37	0.71
	Sphingobacteriaceae;g_NA;s_NA	1.56	0.92	0.50	0.58
	Prevotella	1.29	0.80	0.54	0.99
	Porphyromonadaceae;g_NA;s_NA	0.00	0.37	0.19	0.32
	BF311 ;s_NA	0.66	1.15	0.29	0.44
	Paraprevotellaceae;g_NA;s_NA	0.30	0.24	0.18	0.88
	Paraprevotellaceae;g_NA;s_NA	0.16	0.12	0.09	0.88
	Fibrobacter succinogenes	0.97	1.16	0.46	0.99
Firmicutes	Ruminococcaceae;g_NA;s_NA	10.09	5.53	1.57	0.60
	Lachnospiraceae;g_NA;s_NA	8.88	6.16	1.12	0.29
	Succinispira mobilis	3.80	3.51	0.86	0.88
	Clostridium;s_NA	3.33	8.42	1.22	0.32
	Ruminococcaceae;g_NA;s_NA	7.26	4.22	1.43	0.17
	Clostridiales;f_NA;g_NA;s_NA	3.41	1.43	0.72	0.74
	Veillonellaceae;g_NA;s_NA	0.24	1.66	0.37	0.06
	Clostridium lavalense	1.50	0.93	0.65	0.52
	Sporobacter termitidis	1.62	0.28	0.48	0.20
	Clostridium parapatricum	0.27	0.87	0.28	0.03
	Ruminococcus lactaris	0.58	0.00	0.29	0.32
	Clostridiales;f_NA;g_NA;s_NA	0.62	0.89	0.32	0.19
	Lactonifactor longoviformis	0.56	0.38	0.32	0.88
	Clostridium methylpentosum	0.35	0.72	0.28	0.52
	Lactobacillaceae;g_NA;s_NA	0.31	0.87	0.24	0.32
	Marvinbryantia formatexigens	0.39	0.00	0.19	0.14
	Streptococcus equi	0.34	0.20	0.19	0.88
	Bacilli;o_NA;f_NA;g_NA;s_NA	0.53	0.11	0.26	0.88
	Clostridium;s_NA	0.34	0.00	0.17	0.27
	Melissococcus plutonius	0.50	0.23	0.18	0.64
	Clostridia;o_NA;f_NA;g_NA;s_NA	0.00	0.24	0.12	0.32
	Bacteroides cellulosolvens	0.00	0.22	0.11	0.32
	Firmicutes;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_NA	0.62	0.39	0.12	0.38
	Proteobacteria;Gammaproteobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_NA	0.43	0.81	0.22	0.43
	Anaerobiospirillum thomasii	0.88	1.62	0.44	0.60
	Desulfovibrio	0.00	0.36	0.18	0.32
	Proteobacteria;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_NA	0.00	0.29	0.10	0.14
	Enterobacteriaceae;g_NA;s_NA	0.13	0.13	0.09	0.88
Spirochaetes	Treponema;s_NA	4.13	3.53	0.68	0.69
	Spirochaetaceae;g_Nas_NA	0.36	0.87	0.27	0.44
	Spirochaetes;o_NA;f_NA;g_NA;s_NA	0.39	0.18	0.15	0.72

Filo	Especie	Género		EE	P
		Potranca	Potro		
TM7	F16;g_NA;s_NA	0.52	0.00	0.26	0.32
Verrucomicrobia	RFP12;g_NA;s_NA	3.37	9.80	2.15	0.14
	Akkermansia	0.75	0.50	0.43	0.88
	Verrucomicrobiaceae;g_NA;s_NA	0.00	0.29	0.10	0.14