

Guía docente de la asignatura

## Biodiversidad Microbiana (M46/56/1/3)

Fecha de aprobación por la Comisión Académica: 21/06/2023

Máster

Máster Universitario en Investigación y Avances en Microbiología

MÓDULO

Módulo de Docencia

RAMA

Ciencias

CENTRO RESPONSABLE DEL TÍTULO

Escuela Internacional de Posgrado

Semestre

Primero

Créditos

6

Tipo

Optativa

Tipo de enseñanza

Presencial

### PRERREQUISITOS Y/O RECOMENDACIONES

Los propios del máster

### BREVE DESCRIPCIÓN DE CONTENIDOS (Según memoria de verificación del Máster)

Clases teóricas: Técnicas moleculares generales y específicas utilizadas en los estudios de diversidad biológica de microorganismos. Metagenomas. Comparación de genomas. Biodiversidad de bacterias en cuanto a su metabolismo: Biodiversidad de microorganismos que intervienen en el ciclo del nitrógeno. Biodiversidad de hongos micorrícicos. Biodiversidad de bacterias endosimbiontes, endófitas y asociativas de plantas.

Clases prácticas: Aislamiento de ADN de muestras medioambientales. Amplificación del gen ARNr 16S a partir de ADN ambiental y de cultivo puro. Electroforesis de amplicones del gen ARNr 16S. Construcción de genotecas ARNr 16S de las muestras ambientales: clonación de los amplicones. Transformación. Análisis de los clones de la genoteca: aislamiento de ADN plasmídico y amplificación del gen ARNr 16S. Electroforesis de los amplicones del gen ARNr 16S. Análisis de la población: "Amplified Ribosomal DNA Restriction Análisis" (ARDRA). Restricción. Electroforesis. Visualización y análisis de resultados.

Conceptos básicos de Bioinformática. Análisis de secuencias de ADN (Sanger, masiva de nueva generación "NGS") y uso de Bases de Datos para la identificación de microorganismos.



## COMPETENCIAS

### COMPETENCIAS BÁSICAS

- CB6 - Poseer y comprender conocimientos que aporten una base u oportunidad de ser originales en desarrollo y/o aplicación de ideas, a menudo en un contexto de investigación.
- CB7 - Que los estudiantes sepan aplicar los conocimientos adquiridos y su capacidad de resolución de problemas en entornos nuevos o poco conocidos dentro de contextos más amplios (o multidisciplinares) relacionados con su área de estudio.
- CB8 - Que los estudiantes sean capaces de integrar conocimientos y enfrentarse a la complejidad de formular juicios a partir de una información que, siendo incompleta o limitada, incluya reflexiones sobre las responsabilidades sociales y éticas vinculadas a la aplicación de sus conocimientos y juicios.
- CB9 - Que los estudiantes sepan comunicar sus conclusiones y los conocimientos y razones últimas que las sustentan a públicos especializados y no especializados de un modo claro y sin ambigüedades.
- CB10 - Que los estudiantes posean las habilidades de aprendizaje que les permitan continuar estudiando de un modo que habrá de ser en gran medida autodirigido o autónomo.

### COMPETENCIAS ESPECÍFICAS

- CE01 - Reconocer un problema microbiológico que ofrezca interés para la investigación, describirlo apropiadamente en su entorno (antecedentes, estado de la cuestión, hipótesis planteadas por otros autores, etc.) y plantear con claridad los objetivos de la investigación correspondiente.
- CE02 - Diseñar el proceso de investigación apropiado para resolver el problema planteado, seleccionando las metodologías y técnicas más eficaces y los experimentos oportunos de acuerdo con los objetivos de la investigación propuesta.
- CE03 - Poner a punto las técnicas necesarias para la resolución del problema planteado, contrastando su corrección y validación.
- CE04 - Realizar la investigación diseñada, trabajando dentro de un equipo y/o en colaboración con otros investigadores.
- CE05 - Elaborar los datos de laboratorio y presentar los resultados de forma lógica y funcional.
- CE06 - Establecer de forma crítica la relevancia y significación de los resultados obtenidos respecto de los objetivos propuestos y elaborar las conclusiones pertinentes, en el marco del conocimiento científico actual sobre el tópico en cuestión.
- CE07 - Elaborar un *¿reporte?* científico/técnico o trabajo de investigación que comunique a la comunidad científica la aportación de la investigación realizada, manejando las tecnologías de la información útiles para la adquisición y difusión de resultados en investigación.
- CE08 - Presentar públicamente ideas, procedimientos o informes de investigación sobre microbiología para asesorar a personas y a organizaciones.

## RESULTADOS DE APRENDIZAJE (Objetivos)

El alumnado sabrá/comprenderá: Conocimiento del estado actual de la investigación en biodiversidad microbiana en distintos ecosistemas. Esto incluye los siguientes aspectos generales: las técnicas moleculares generales y específicas utilizadas en los estudios de



diversidad biológica de microorganismos, análisis de genotecas de 16S, metagenomas, comparación de genomas. Biodiversidad de bacterias en cuanto a su metabolismo: Biodiversidad de microorganismos que intervienen en el ciclo del nitrógeno. Biodiversidad de hongos micorrícicos. Biodiversidad de endosimbiontes, microorganismos endofíticos y asociativos.

El alumnado será capaz de: Aislar microorganismos procariotas a partir de muestras medioambientales. Manejar las técnicas de manipulación de ADN ambiental y su análisis mediante técnicas dependientes de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR); obtener genotecas para el análisis de la biodiversidad microbiana. Realizar la identificación genotípica de procariotas. Usar “software” bioinformático especializado, bases de datos y “workflows” para el análisis de secuencias de ADN (análisis y filtrado de calidad, alineamiento y comparación, análisis filogenético, etc.) y la identificación de la biodiversidad microbiana a partir de cualquier muestra biológica.

## PROGRAMA DE CONTENIDOS TEÓRICOS Y PRÁCTICOS

### TEÓRICO

#### Módulo 1: Técnicas de análisis de la diversidad microbiana

- CLASE T1: Técnicas generales para el estudio de la biodiversidad microbiana
- CLASE T2: Técnicas moleculares específicas I: Secuenciación masiva (NGS): Conceptos y aplicaciones
- CLASE T3: Técnicas moleculares específicas II: Otras herramientas moleculares para el estudio de la biodiversidad microbiana in situ
- CLASE T4: Técnicas moleculares específicas III: Transcriptómica, proteómica y metabolómica
- CLASE T5: Bioinformática aplicada a la Biodiversidad microbiana: conceptos básicos, herramientas y bases de datos
- CLASE T6: Genómica comparada

#### Módulo 2: Ejemplos de análisis de la diversidad bacteriana en grupos funcionales específicos

- CLASE T7: Biodiversidad de microorganismos que intervienen en el ciclo del Nitrógeno
- CLASE T8: Aplicación de las herramientas de análisis masivo al estudio de la diversidad microbiana en la naturaleza. Metagenómica
- CLASE T9: Diversidad de hongos micorrícicos
- CLASE T10: Biodiversidad de bacterias endosimbiontes, endófitas y asociativas de plantas I
- CLASE T11: Biodiversidad de bacterias endosimbiontes, endófitas y asociativas de plantas II
- CLASE T12: Biodiversidad de bacterias endosimbiontes, endófitas y asociativas de plantas III

### PRÁCTICO

- Clase P1: Análisis de secuencias de ADN para la identificación de microorganismos
- Clase P2: Exploración de la biodiversidad microbiana a partir de datos de secuenciación masiva



- Clase P3: Exposición de un trabajo bibliográfico por parte de los alumnos

Los alumnos podrán elegir de una lista de trabajos propuestos o un trabajo relacionado con su propio trabajo de investigación. La presentación se llevará a cabo en 20 minutos, distribuidos en 15 de exposición y 5 de preguntas.

Las prácticas de laboratorio consistirán en el desarrollo de un caso práctico que incluye las clases P1 y P2:

- Clase L1: Aislamiento de ADN de muestras medioambientales obtenidas de diferentes ecosistemas. Comprobación en geles de agarosa
- Clase L2: Aislamiento de microorganismos del medio ambiente en distintos medios selectivos
- Clase L3: Amplificación del gen ARNr 16S a partir de colonias y de ADN ambiental. Electroforesis. Control paralelo con ADN genómico de cultivos puros
- Clase L4: Construcción de una genoteca del gen ARNr 16S de las muestras medioambientales: Transformación y siembra en medio selectivo
- Clase L5: Preparación de plásmidos de la genoteca para su posterior secuenciación/análisis
- Clase L6: Análisis de la biodiversidad de las muestras: análisis de la restricción del amplicón del gen ARNr 16S (ARDRA)

## BIBLIOGRAFÍA

### BIBLIOGRAFÍA FUNDAMENTAL

- Achim Quaiser A, Bodi X, Dufresne A, Naquin D, Francez AJ, Dheilly A, Coudouel S, Pedrot M, Vandenkoornhuysen P. 2014. Unraveling the stratification of an iron-oxidizing microbial mat by metatranscriptomics. *PLoS ONE* 9: e102561.
- Alguacil MM, Torrecillas E, Torres P, García-Orenes F, Roldán A. 2012. Long-term effects of irrigation with waste water on soil AM fungi diversity and microbial activities: The implications for agro-ecosystem resilience. *PLoS ONE* 7: e47680.
- Bedini S, Turrini A, Rigo C, Argese E, Giovannetti M. 2010. Molecular characterization and glomalin production of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing a heavy metal polluted ash disposal island, downtown Venice. *Soil. Biol. Biochem.* 42: 758-765.
- Castellano-Hinojosa A, Correa-Galeote D, Bedmar EJ. 2015. Isolation of N<sub>2</sub>-fixing rhizobacteria from *Lolium perenne* and evaluating their plant growth promoting traits. *J. Basic Microbiol.* 55: 1-7. DOI 10.1002/jobm.201500247.
- Chahboune R, Barrijal S, Moreno S, Bedmar EJ. 2011. Identification of *Bradyrhizobium* species isolated from root nodules of *Cytisus villosus* grown in Morocco. *Syst. App. Microbiol.* 34: 440-445.
- Cobo-Díaz, J.F., Fernández-González, A.J., Villadas, P.J., Robles, A.B., Toro, N., and Fernández-López, M. 2015. Metagenomic assessment of the potential microbial nitrogen pathways in the rhizosphere of a mediterranean forest after a wildfire. *Microb. Ecol.* 69:895-904.



- de Lajudie, P. M., Andrews, M., Ardley, J., Eardly, B., Jumas-Bilak, E., Kuzmanović, N., Lassalle, F., Lindström, K., Mhamdi, R., Martínez-Romero, E., Moulin, L., Mousavi, S. A., Nesme, X., Peix, A., Puławska, J., Steenkamp, E., Stępkowski, T., Tian, C. F., Vinuesa, P., Wei, G., Young, P. 2019. Minimal standards for the description of new genera and species of rhizobia and agrobacteria. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 69, 1852-1863.
- El Batanony NH, Castellano-Hinojosa A, Correa-Galeote D, Bedmar EJ. 2015. The diversity of rhizobia nodulating the Medicago, Melilotus and Trigonella inoculation group in Egypt is marked by the dominance of two genetic types. *Symbiosis*. DOI 10.1007/s13199-015-0365-8.
- Gómez-Villalba, C. Calvo, R. Vilchez, J. González-López & B. Rodelas. 2006. TGGE analysis of the diversity of ammonia-oxidizing and denitrifying bacteria in submerged filter biofilms for the treatment of urban wastewater. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 72:393-400.
- Goodwin S, John D. McPherson JD, W. Richard McCombie WR. 2016. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nature* 17: 333-351.
- Gosalbes MJ, Durbán A, Pignatelli M, Abellan JJ, Jiménez-Hernández N, Pérez-Cobas AE, Latorre A, Moya A. 2011. Metatranscriptomic approach to analyze the functional human gut microbiota. *PLoS ONE* 6: e17447. doi:10.1371/journal.pone.0017447.
- Gosling P, Mead A, Proctor M, Hammond HP, Bending GD. 2013. Contrasting arbuscular mycorrhizal communities colonizing different host plants show a similar response to a soil phosphorus concentration gradient. *New Phytologist* 198: 546-556.
- Grube M, Gaya E, Kauserud H, Smith AM, Avery SV, Fernstad SJ, Muggia L, Martin MD, Eivindsen T, Koljalg U, Bendiksby M. 2017. The next generation fungal diversity researcher. *British Mycological Society* 1749-4613.
- Gutiérrez T, Singleton DR, Berry D, Yang T, Aitken MD and Teske A. 2013. Hydrocarbon-degrading bacteria enriched by the Deepwater Horizon oil spill identified by cultivation and DNA-SIP. *ISME J.* 7, 2091-2104.
- Jain, C, Rodriguez-R LM, Phillippy AM et al. 2018. High throughput ANI analysis of 90K prokaryotic genomes reveals clear species boundaries. *Nat. Commun.* 9, 5114. doi: 10.1038/s41467-018-07641-9.
- Knight R, Vrbanac A, Taylor BC, Aksenov A, Callewaert C, et al. 2018. Best practices for analysing microbiomes. *Nat. Rev. Microbiol.* 16: 410-422. doi: 10.1038/s41579-018-0029-9.
- Marchetti M, Capela D, Glew M, Cruveiller S, Chane-Woon-Ming B, et al. 2010. Experimental Evolution of a plant pathogen into a legume symbiont. *PLoS Biol.* 8: e1000280. doi:10.1371/journal.pbio.1000280.
- Mardis ER. 2013. Next-Generation Sequencing Platforms. *Annu. Rev. Anal. Chem.* 6: 287-303.
- Melkonian, R, Moulin, L, Bena, G, Tisseyre, P, Chaintreuil, C., Heulin, K, Rezkallah, N, Klonowska, A, Gonzalez, S, Simon, M, Chen, WM, James, EK, and Laguerre, G. 2014. The geographical patterns of symbiont diversity in the invasive legume *Mimosa pudica* can be explained by the competitiveness of its symbionts and by the host genotype. *Environ.*



Microbiol. 16:2099-2111.

- Menéndez E, Flores-Félix JD, Ramírez-Bahena MH, et al. 2020. Genome analysis of *Endobacterium cerealis*, a novel genus and species isolated from *Zea mays* roots in North Spain. *Microorganisms* 8:E939. Published 2020 Jun 22.
- Miranda-Sánchez, F., Rivera, J., and Vinuesa, P. 2016. Diversity patterns of Rhizobiaceae communities inhabiting soils, root surfaces and nodules reveal a strong selection of rhizobial partners by legumes. *Environ. Microbiol.* 18:2375-2391.
- Nilsson RH, Sten Ansla S, Bahram M, Wurzbache C, Baldrian P, Tedersoo L. 2019. Mycobiome diversity: high-throughput sequencing and identification of fungi *Nature Rev. Microbiol.* 17: 95-109.
- Peix, A., Ramírez-Bahena, M.H., Velázquez, E., Bedmar, E. 2015. Bacterial associations with legumes. *Crit. Rev. Plant Sci.* 34: 17-42.
- Ramírez-Bahena MH, Flores-Félix JD, Chahboune R, Toro M, Velázquez E, Peix A. 2016. *Bradyrhizobium centrosemae* (symbiovar *centrosemae*) sp. nov., *Bradyrhizobium americanum* (symbiovar *phaseolarum*) sp. nov. and a new symbiovar (*tropici*) of *Bradyrhizobium viridifuturi* establish symbiosis with *Centrosema* species native to America. *Syst. Appl. Microbiol.* 39: 378-383.
- Ramírez-Bahena MH, Flores-Félix JD, Velázquez E, Peix A. 2020. The Mimosoid tree *Leucaena leucocephala* can be nodulated by the symbiovar *genistearum* of *Bradyrhizobium canariense*. *Syst. Appl. Microbiol.* 43:126041.
- Schlaeppli K, Bender SF, Mascher F, Russo G, Patrignani A, Camenzind T, Hempel S, Rillig MC, van der Heijden MGA. 2016. High-resolution community profiling of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 212: 780-791.
- See-Too WS, Salazar S, Ee R, Convey P, Chan KG, Peix A. 2017. *Pseudomonas versuta* sp nov., isolated from Antarctic soil. *Syst. Appl. Microbiol.* 40: 191-198.
- Shokralla S, Jennifer L. Spall JL, Gibson JF, Hajibabaei M. 2012. Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research. *Mol. Ecol.* 21, 1794-1805.
- Talbi C., Delgado MJ, Girard L, Ramírez-Trujillo A, Caballero-Mellado J, Bedmar EJ. 2010. *Burkholderia phymatum* capable of nodulating *Phaseolus vulgaris* are present in Moroccan soils. *App. Environ. Microbiol.*, 76: 4587-4591.
- Zhulin IB. 2015. Databases for microbiologists. *J. Bacteriol.* 197: 2458-2467. doi:10.1128/JB.00330-15.

## BIBLIOGRAFÍA COMPLEMENTARIA

## ENLACES RECOMENDADOS



### Bases de datos y herramientas de identificación (taxonómica y funcional) de secuencias:

- NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- EMBL-EBI: <https://www.ebi.ac.uk/>
- IMG: <http://img.jgi.doe.gov/>
- KEGG: <https://www.kegg.jp/>
- SILVA: <https://www.arb-silva.de>

### Herramientas y “workflows” para el análisis de secuencias y biodiversidad microbiana:

- Molecular Bioinformatics Tools: <http://molbiol-tools.ca/>
- Galaxy: <https://usegalaxy.org>
- USEARCH: <https://www.drive5.com/usearch/>
- QIIME2: <https://qiime2.org/>

## METODOLOGÍA DOCENTE

- MD01 Clases magistrales
- MD02 Experimentación
- MD03 Colección, estudio y análisis bibliográfico

## EVALUACIÓN (instrumentos de evaluación, criterios de evaluación y porcentaje sobre la calificación final)

### EVALUACIÓN ORDINARIA

- El método de evaluación está basado esencialmente en la evaluación continua de los estudiantes, de forma que la asistencia, obligatoria al 80% como mínimo de las clases, constituirá el 50% de la evaluación
- La actitud y participación en clase constituirá el 5% de la evaluación
- Se valorará además la realización de un trabajo complementario con exposición pública del mismo con un 20%
- Las respuestas al desarrollo de un supuesto práctico con un 25%



### EVALUACIÓN EXTRAORDINARIA

La evaluación se basará en las respuestas al desarrollo de un supuesto práctico con un 100% de la calificación

### EVALUACIÓN ÚNICA FINAL

La evaluación en tal caso consistirá en la realización de un supuesto práctico con un 100% de la calificación

### INFORMACIÓN ADICIONAL

Información de interés para estudiantado con discapacidad y/o Necesidades Específicas de Apoyo Educativo (NEAE): [Gestión de servicios y apoyos](https://ve.ugr.es/servicios/atencion-social/estudiantes-con-discapacidad) (<https://ve.ugr.es/servicios/atencion-social/estudiantes-con-discapacidad>).

