

Guía docente de la asignatura

Fecha de aprobación por la Comisión  
Académica: 05/07/2024**Biodiversidad Microbiana**  
**(M46/56/1/3)****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 microbiana y de hongos micorrícicos aplicada al tratamiento de residuos orgánicos
- 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, Vandenkoornhuyse 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.
- Chun J., Oren A., Ventosa A., Christensen H., Arahal D.R., da Costa M.S., Rooney A.P., Yi H., Xu X.W., De Meyer S., Trujillo M.E. 2018. Proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 68:461-466.



DOI: 10.1099/ijsem.0.002516.

- 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, Koljal 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, Urbanac 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.
- Martínez-Romero E., Peix A., Hungría M., Mousavi S.A., Martínez-Romero J., Young P. 2024. Guidelines for the description of rhizobial symbiovars. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 74:006373. DOI: 10.1099/ijsem.0.006373.
- 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.
- Riesco R., Trujillo M.E. 2024. Update on the proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 74:006300. DOI: 10.1099/ijsem.0.006300.
- Schlaeppi 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.

- Tortosa G., Fernández-González A.J., Lasa A.V., Aranda E., Torralbo F., González-Murua C., Fernández-López M., Benítez E., Bedmar E.J. 2021. Involvement of the metabolically active bacteria in the organic matter degradation during olive mill waste composting. Sci. Total Environ. 789:147975. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.147975.
- 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>
- EZBiocloud: <https://www.ezbiocloud.net/>
- STRING: <https://string-db.org/>

### 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>).

