

# **Aplicaciones metagenómicas en ecología microbiana**

**Curso Genómica  
(FCIEN)  
2024**

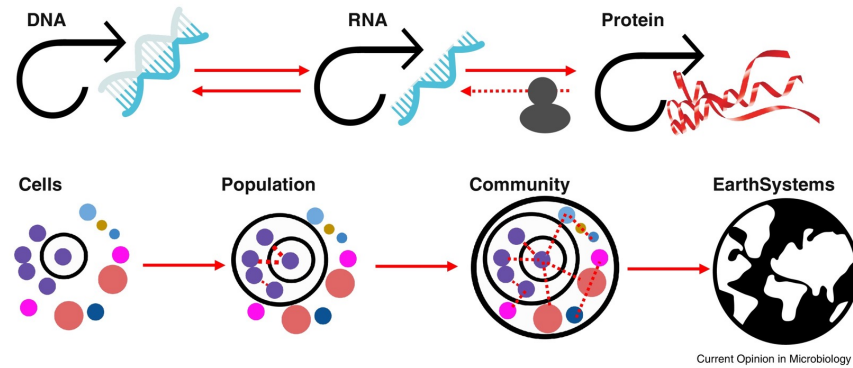


Ministerio  
de Educación  
y Cultura



ci  
co centro de  
investigación  
en ciencias  
ambientales

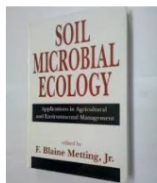
# Ecología microbiana



Microbial Ecology : M.W...  
bookdepository.com



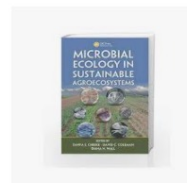
PDF) Microbial Ecology  
researchgate.net



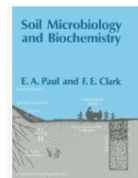
9780824787370: Soil Micro...  
abebooks.com



Methods in Gut Microbi...  
www.naweb.jaea.org



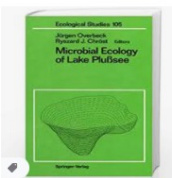
Microbial Ecology in Sustainable ...  
madrasahoppe.com



Fearghal Damijana: Sol...  
fearghaldamijana blonsen



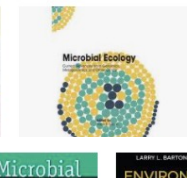
Top 18 books for Envir...  
microbiolnotes.com



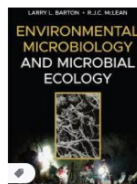
Microbial Ecology of Lake Plu...  
madrasahonne.com · Anotado



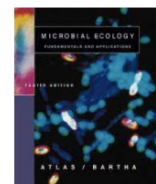
Microbial System...  
routledge.com · Fr



Microbial Ecology - 1st ...  
elsevier.com · En stock



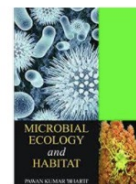
Environmental Microbiol...  
nhbs.com



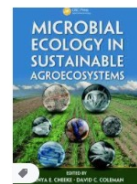
Microbial Ecology: Funda...  
nhbs.com



Microbial Ecology | Wiley  
wiley.com



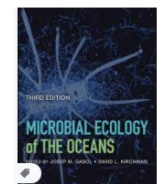
Microbial Ecology and ...  
amazon.com



Microbial Ecology in Su...  
routledge.com · En stock



Marine Microbiology: Ecolo...  
routledge.com · En stock



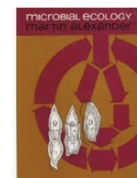
Microbial Ecology of the ...  
wiley.com



Environmental Microbiol...  
springer.com · En stock



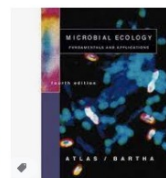
Microbial Ecology : Dia...  
bookdepository.com



Microbial Ecology: Alex...  
amazon.com



Microbial Ecology of Activ...  
iwipublishing.com



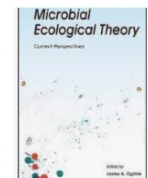
Microbial Ecology: Fundamentals a...  
abebooks.com · En stock



Aquatic Microbial Ecol...  
springer.com · En stock



Metagenomics and Mi...  
routledge.com · En stock

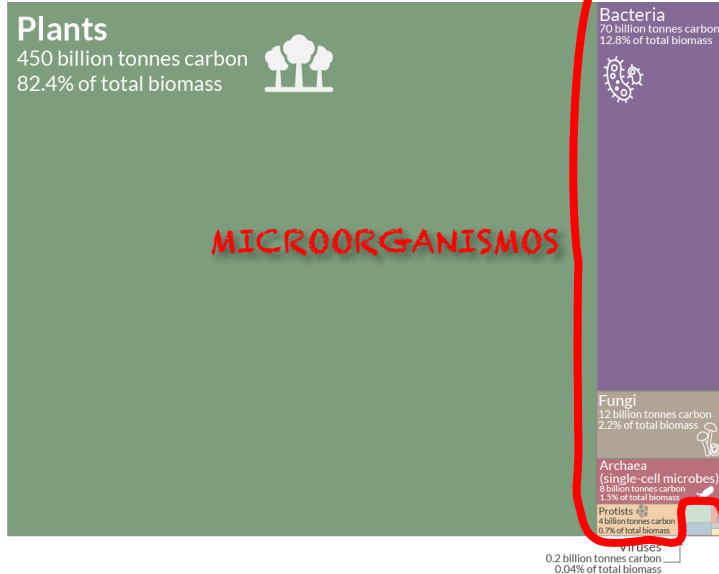


Microbial Ecological Th...  
caister.com

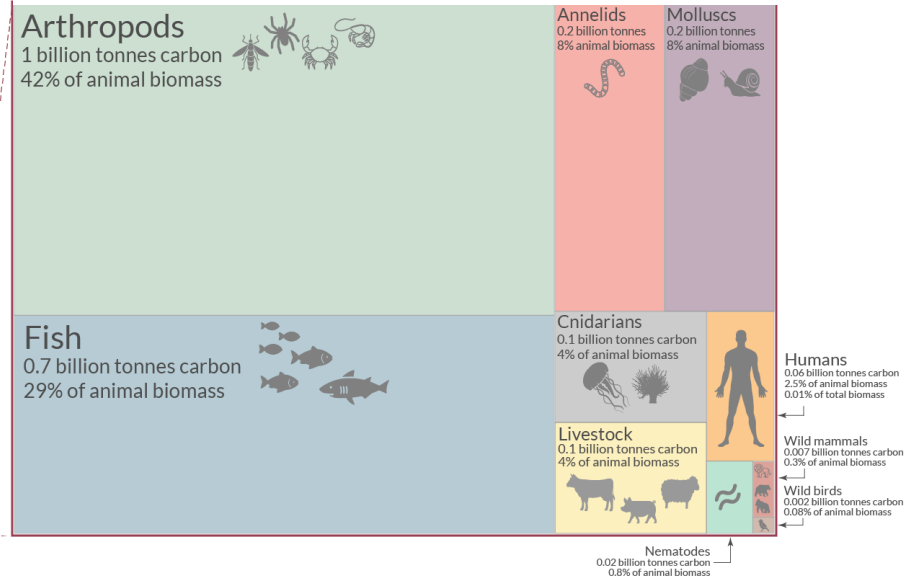
# Ecología microbiana

## Distribución de la biomasa de seres vivos en la Tierra

Biomasa global: 546.000 millones de toneladas de carbono

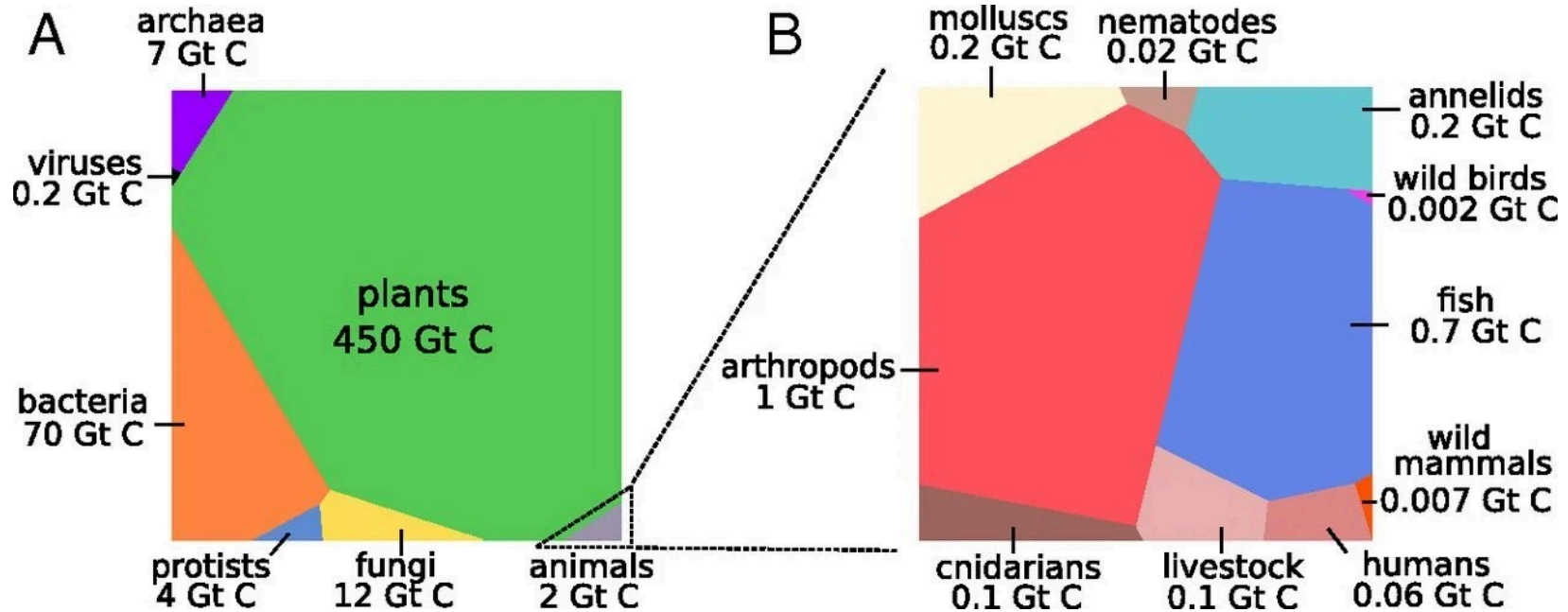


Biomasa animal: 2.000 millones de toneladas de carbono (0,4% del total)



# Ecología microbiana

## Distribución de la biomasa de seres vivos en la Tierra





# Microorganismos en el ambiente

Pequeños

Incoloros

Adheridos a partículas

No son fácilmente cultivables

No todos crecen en el laboratorio



Anfibio – rana o sapo

# Microorganismos en el ambiente

Pequeños

Incoloros

Adheridos a partículas

No son fácilmente cultivables

No todos crecen en el laboratorio



Anfibio – rana o sapo



# Microorganismos en el ambiente

Pequeños

Incoloros

Adheridos a partículas

No son fácilmente cultivables

No todos crecen en el laboratorio

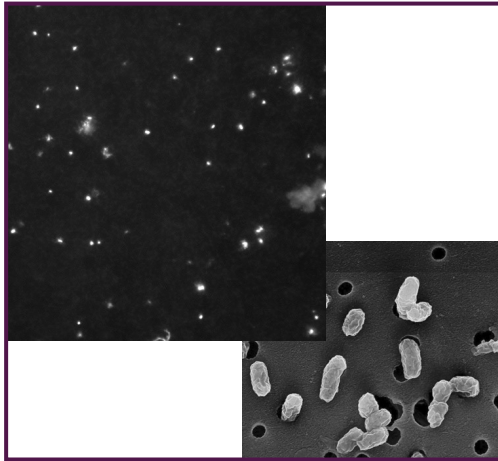


Anfibio – rana o sapo



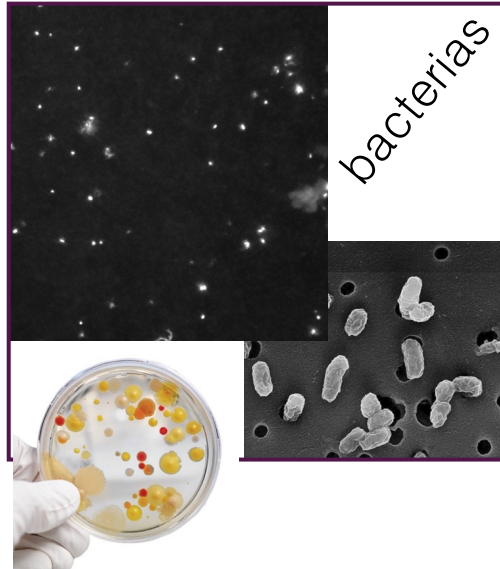
sapito de Darwin

# Microorganismos en el ambiente



¿?

# Microorganismos en el ambiente

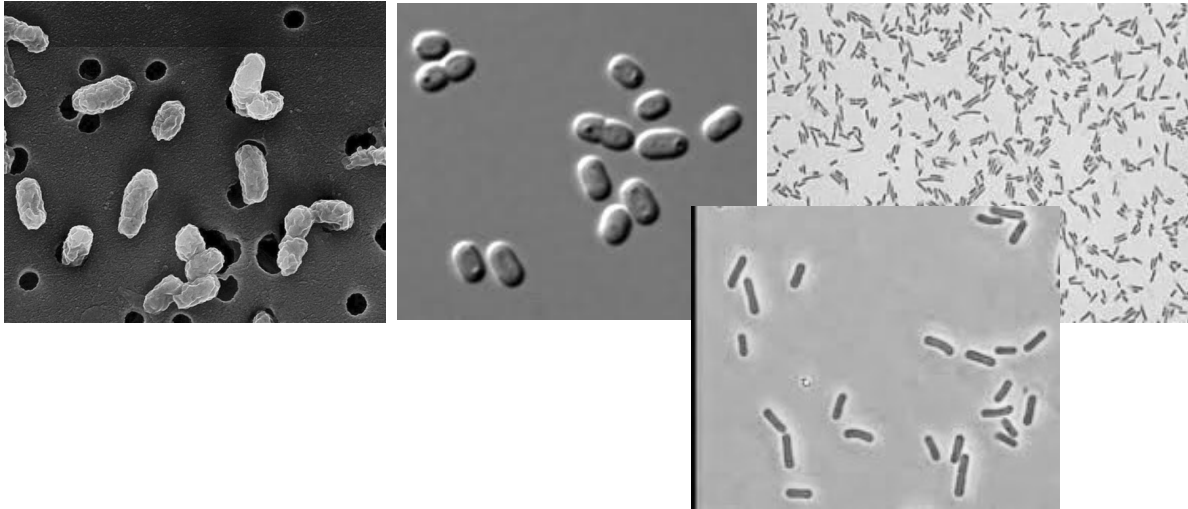


bacterias

| Habitat                     | Culturability (%) <sup>a</sup> | Reference(s) |
|-----------------------------|--------------------------------|--------------|
| Seawater                    | 0.001–0.1                      | 48, 81, 82   |
| Freshwater                  | 0.25                           | 75           |
| Mesotrophic lake            | 0.1–1                          | 150          |
| Unpolluted estuarine waters | 0.1–3                          | 48           |
| Activated sludge            | 1–15                           | 160, 161     |
| Sediments                   | 0.25                           | 75           |
| Soil                        | 0.3                            | 153          |

<sup>a</sup> Culturable bacteria are measured as CFU.

# Microorganismos en el ambiente

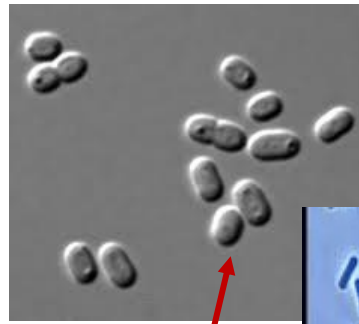




# Microorganismos en el ambiente

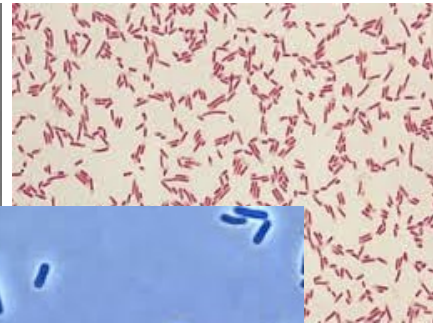


*Pelagibacter ubiquus*



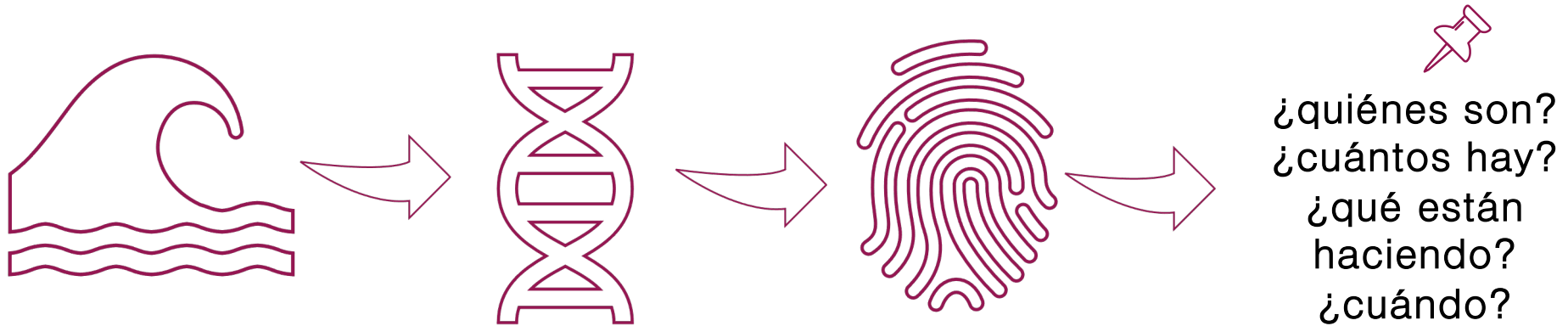
*Synechococcus*

*Escherichia coli*



# Ecología molecular

Aproximación que usa la información provista por las moléculas de los organismos (ADN, ARN, proteínas, ribosomas, etc.) para responder preguntas evolutivas y ecológicas, tanto a nivel individual como poblacional o comunitario.



# Herramientas en ecología microbiana

¿qué rasgos no fenotípicos se emplean cuando el cultivo no es posible?

Secuencias de ADN (individual, poblacional, comunitario):

- genes marcadores evolutivos
- genes funcionales
- genomas
- metagenomas

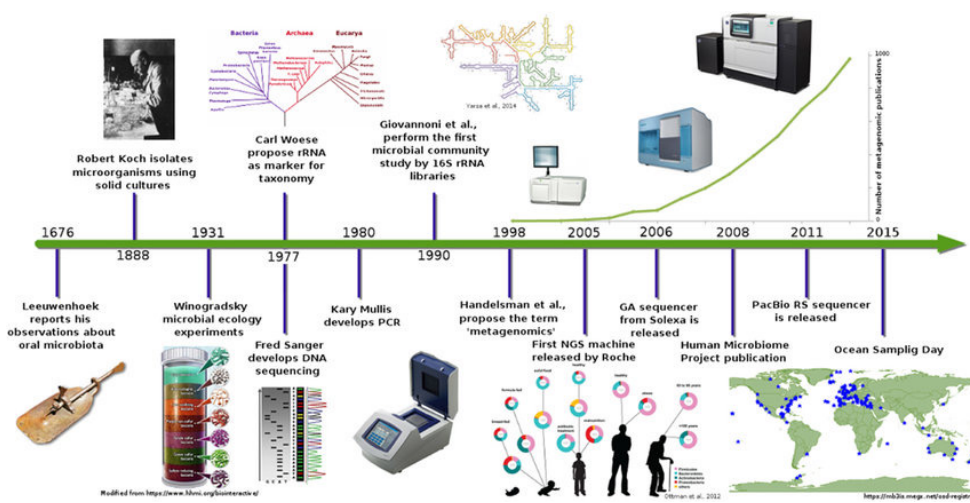
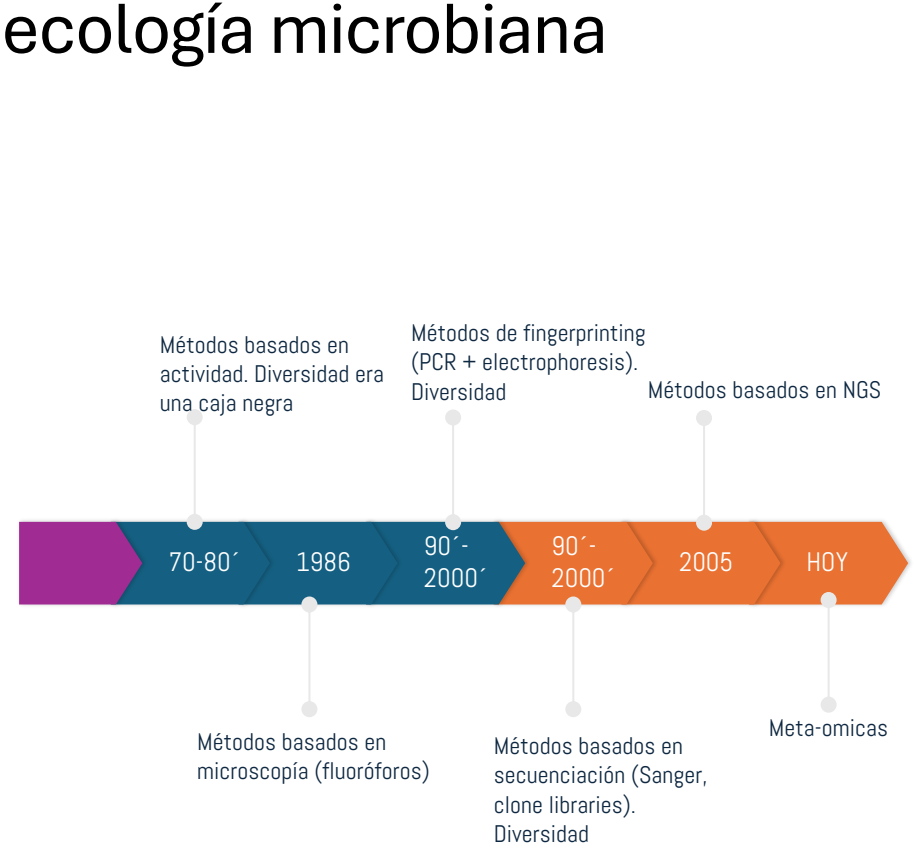
Secuencias de ARN (individual, poblacional, comunitario):

- ARNm de metabolitos tóxicos
- transcriptomas

Secuencias de proteínas (individual, poblacional, comunitario):

- Proteómica

# Evolución de los métodos empleados en ecología microbiana



# Herramientas en ecología microbiana



¿Qué preguntas ecológicas y cómo las respondo?

¿ABUNDANCIA?

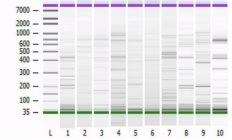
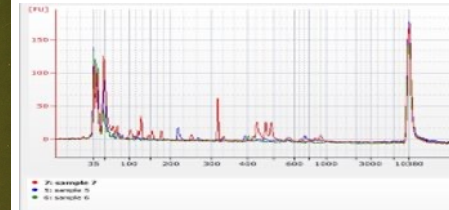
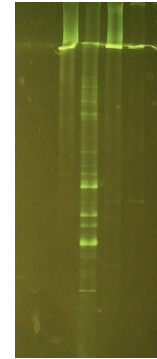
¿BIOMASA?

¿ACTIVIDAD?

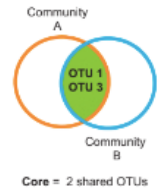
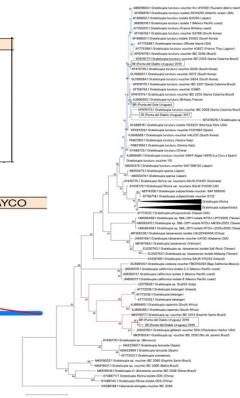
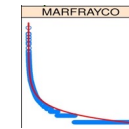
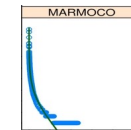
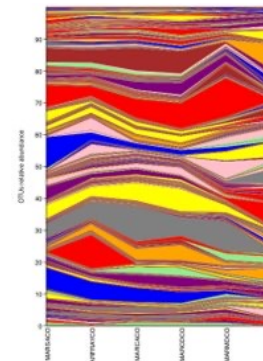
¿COMPOSICIÓN?

¿FUNCIONES?

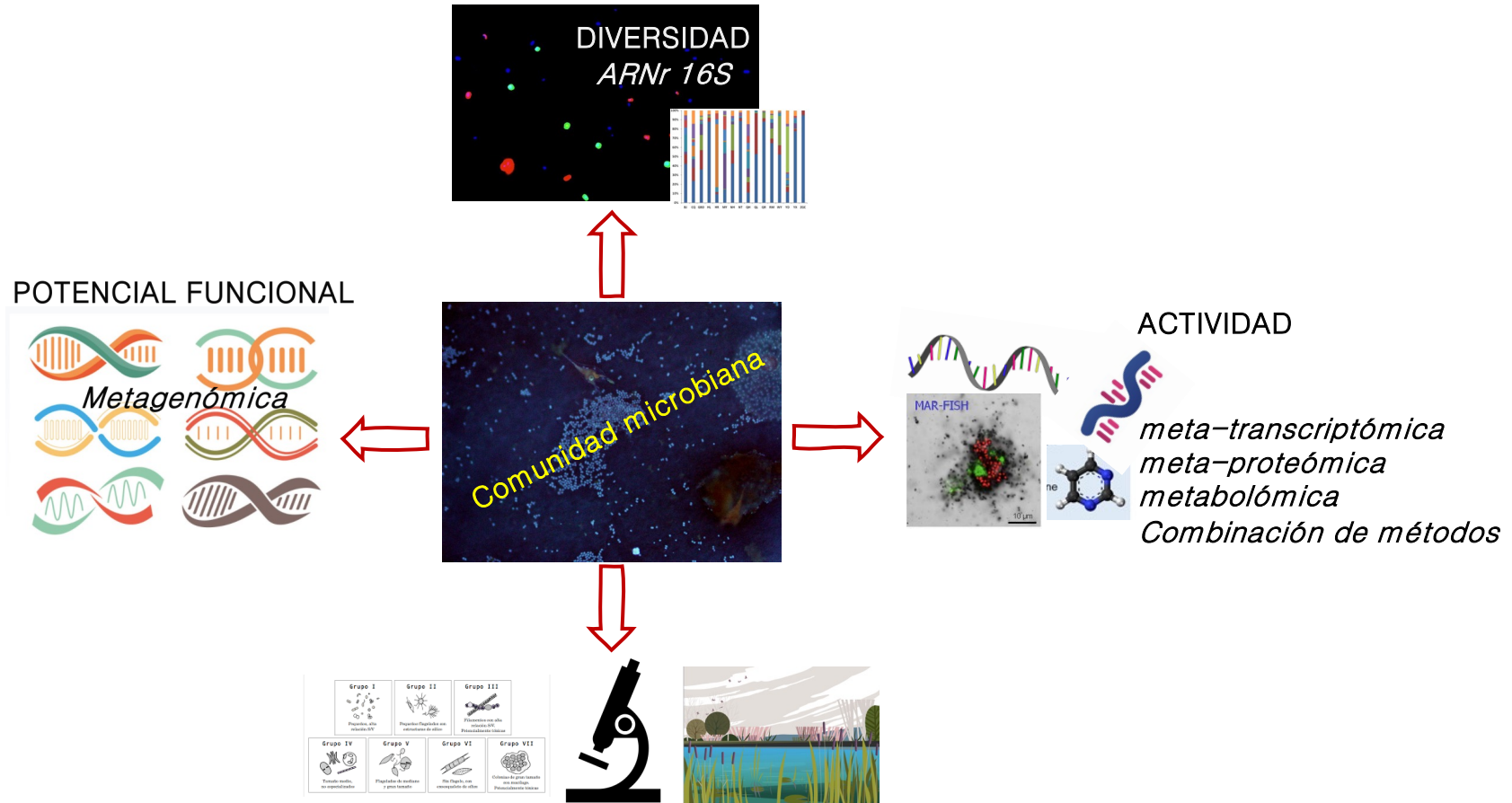
Basados en PCR de  
marcadores  
(DGGE, RISA, ARISA)



## Basados en secuencias



# Herramientas en ecología microbiana



# Microorganismos en el ambiente

Pequeños

Incoloros

Adheridos a partículas

No son fácilmente cultivables

No todos crecen en el laboratorio



## Cronómetros evolutivos



### ¿QUE GEN O MOLECULA ELEGIR?

- Distribución universal
- Homólogas desde un punto de vista funcional (constancia)
- Ser comparables (posibilidad de alineación)
- Relación de la tasa de cambio con la distancia filogenética
- Secuencias grandes
- Sin transferencia horizontal

# ¿qué rasgos (moléculas) se emplean? SECUENCIAS

## Gen ARNr 16S

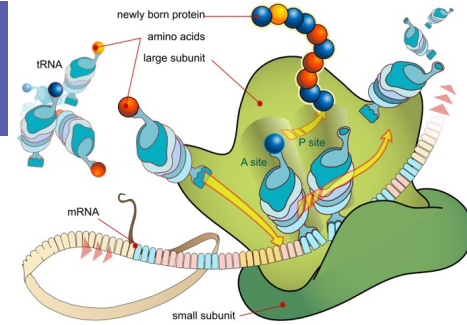
Componente central de la síntesis proteica (universal, conservado funcionalmente)

Tiene regiones en las que los nucleótidos están conservados en todos los organismos (zonas de contacto con proteínas, evolucionan más lentamente)

Tiene regiones que evolucionan más rápidamente (regiones variables)

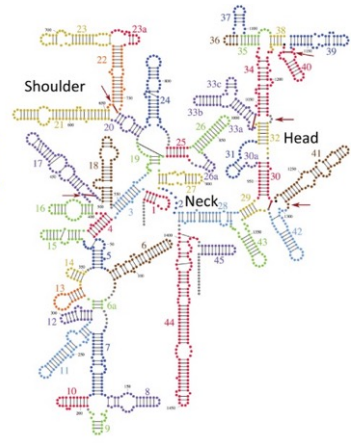
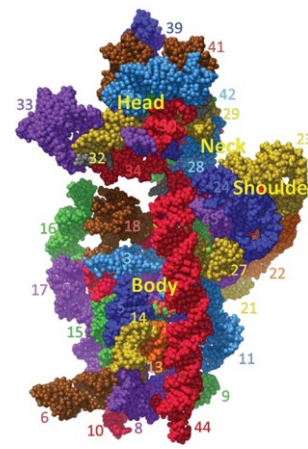
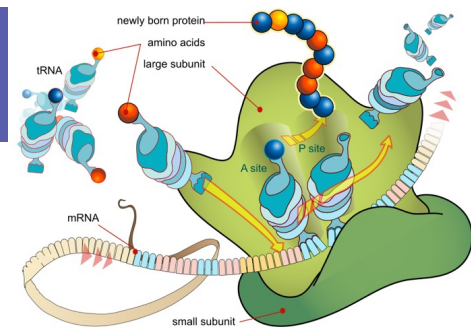
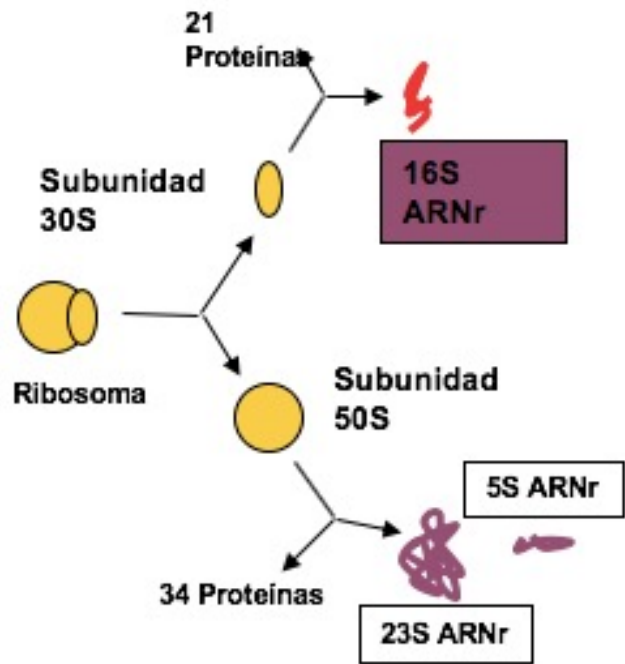
Número estadísticamente suficiente de nucleótidos

No sufre transferencia horizontal...¿?



# ¿qué rasgos (moléculas) se emplean? SECUENCIAS

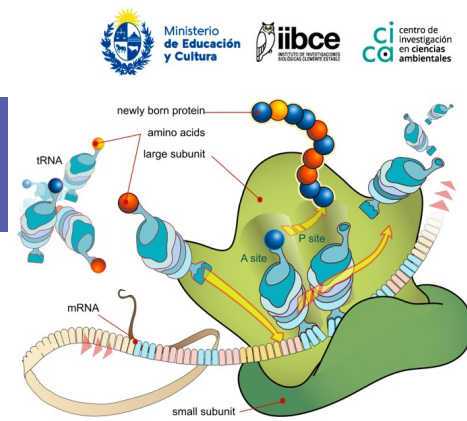
## Gen ARNr 16S



estructura terciaria e interacción con proteínas: zonas más conservadas que otras, distinta tasa de evolución

# ¿qué rasgos (moléculas) se emplean? SECUENCIAS

## Gen ARNr 16S



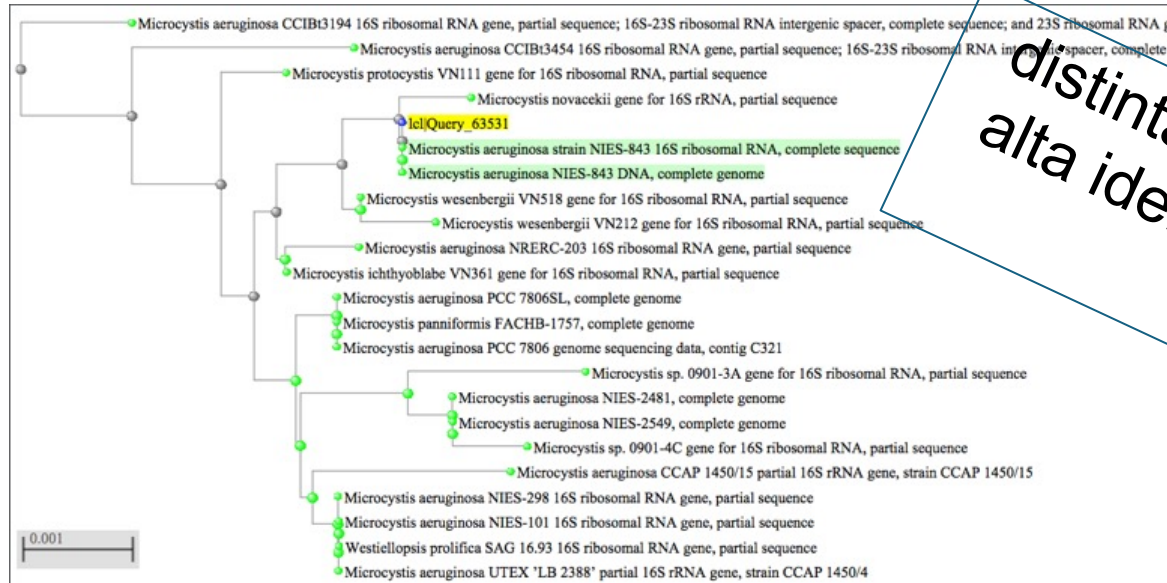
Divergencia en el gen para el ARNr 16S: cepas con más de 3% de divergencia son casi siempre miembros de distintas especies (Stackebrandt y Goebel, 1994).

PERO.....

# ¿especie? 🤔

- Divergencia en el gen para el ARNr 16S para demarcar especies: cepas con más de 3% de divergencia son casi siempre miembros de distintas especies (Stackebrandt y Goebel, 1994).

A MENUDO NO SE CUMPLE



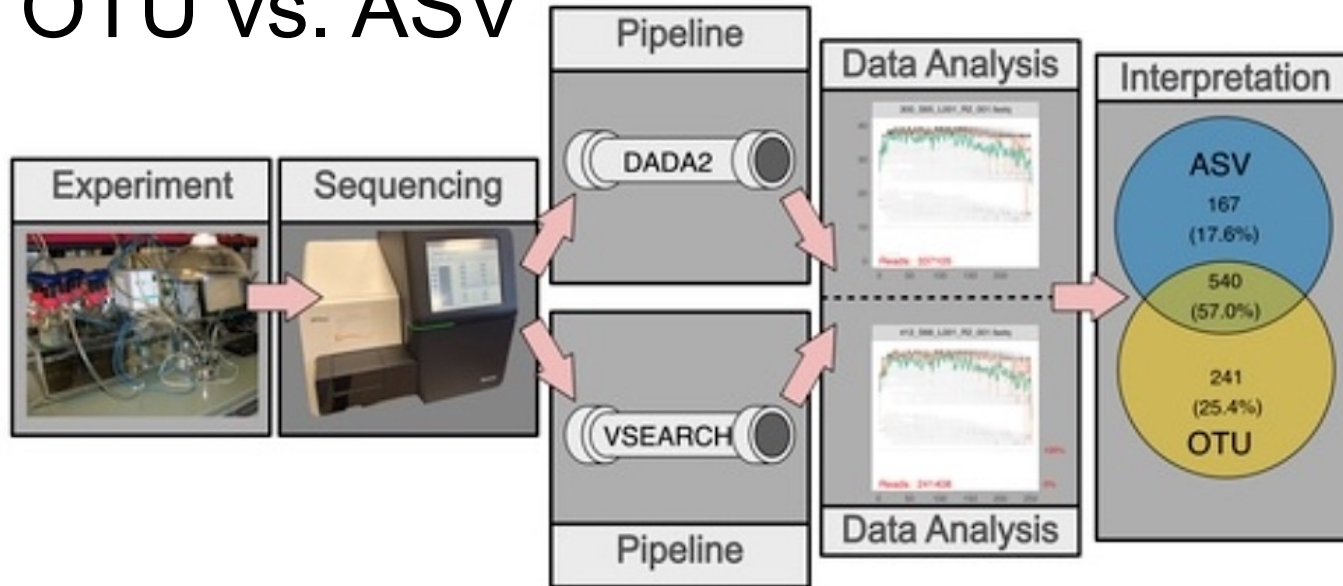
distintas "especies" con alta identidad en el gen 16S

El nivel de similitud elegido para agrupar a las secuencias y delimitar una “especie” o taxón es arbitrario y depende de la pregunta.

OTUs: Unidades taxonómicas operativas (*operational taxonomic units*). Clusters de lecturas que difieren por una cantidad de nucleótidos fija (en general 3%).

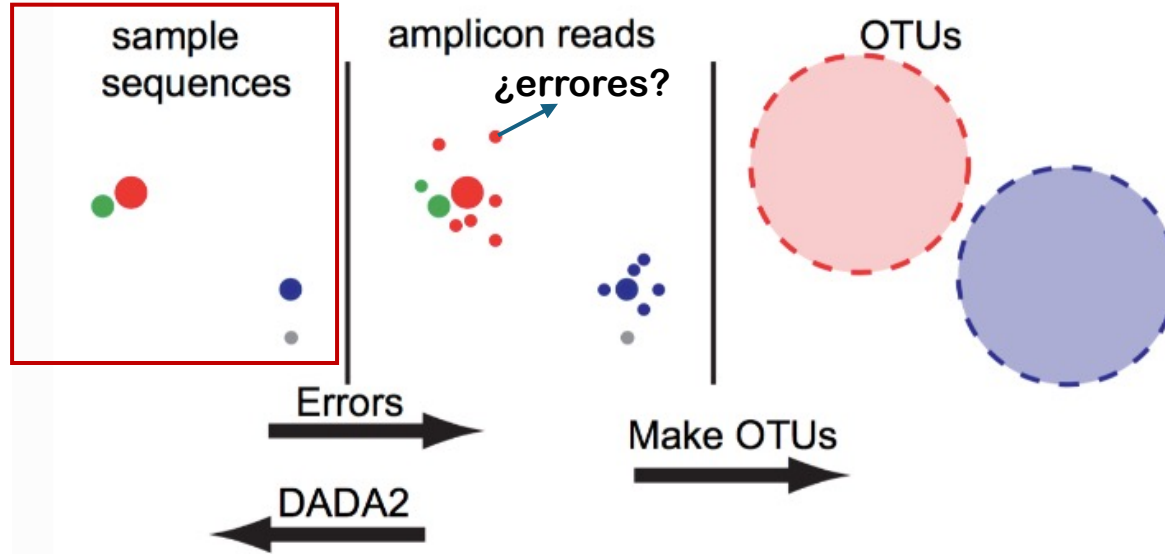
ASVs: variantes de secuencia de amplicones (*amplicon exact sequence variants*). No depende de un valor umbral arbitrario sino que distingue variantes genéticas que difieran por un nucleótido. Mayor sensibilidad y especificidad para discriminar patrones ecológicos (Eren et al., 2013; Eren et al., 2015; Callahan et al., 2016; Needham et al., 2017).

# OTU vs. ASV



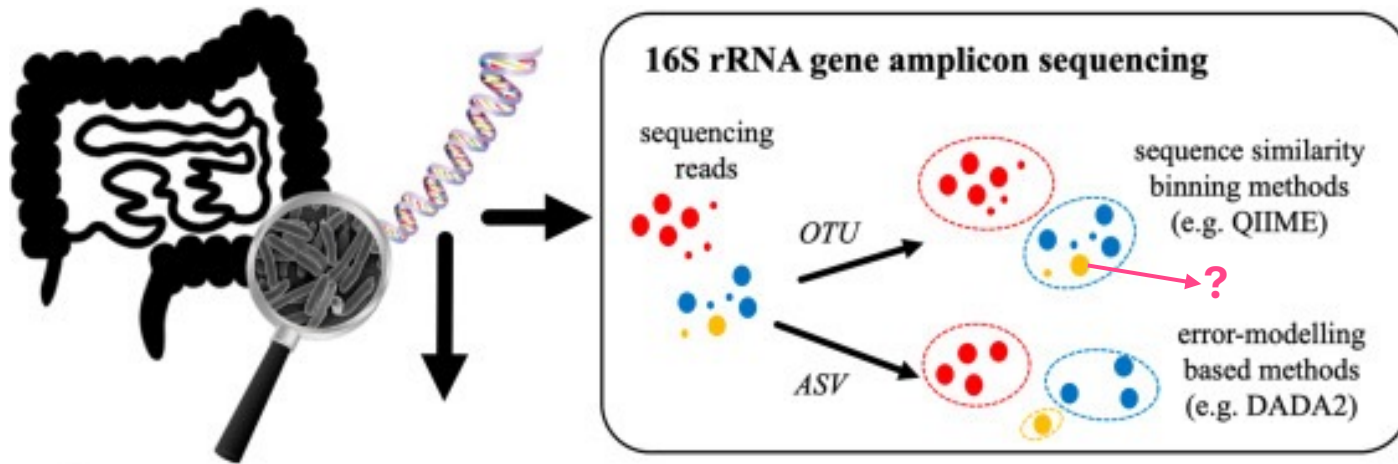


Schematic of OTU and DADA2 approaches towards amplicon sequencing errors.



**Figure 1.** Circles represent identical sets of sequencing reads with size scaled by abundance and color corresponding to the true error-free sequence (there are four distinct sequences in the sample: red, green, blue and grey). Errors are introduced by amplicon sequencing from the left to the middle part of the diagram. OTU methods guard against false positive inferences by lumping similar sequences together. DADA2 uses a statistical model of amplicon errors to infer the underlying sample sequences directly, and thus tries to denoise the data from the middle to the left.

OTU vs.  
ASV

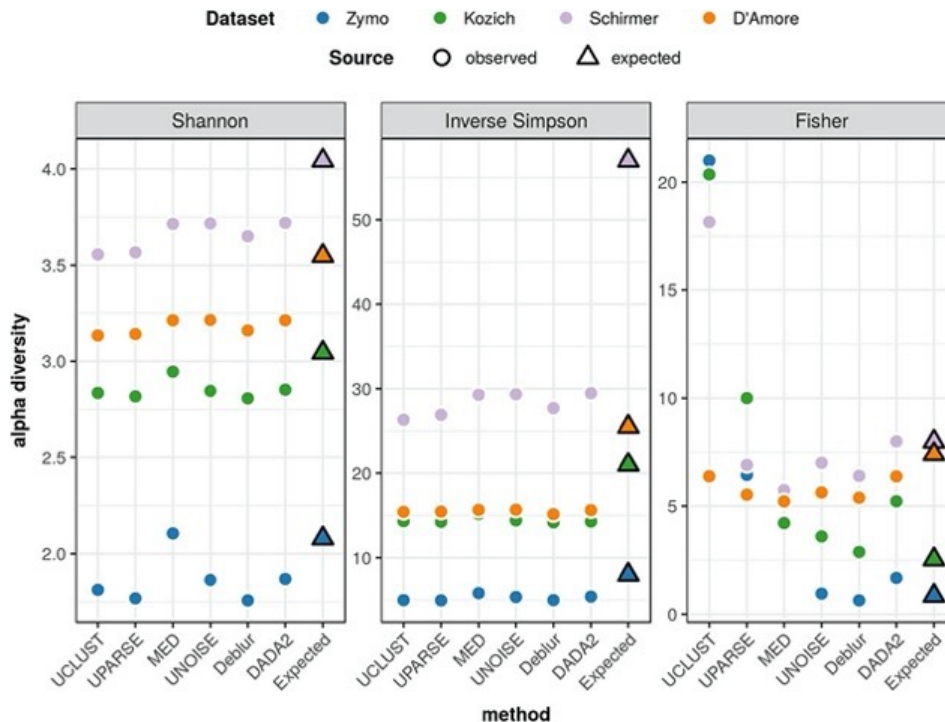


OTU vs.  
ASV

# Performance of Microbiome Sequence Inference Methods in Environments with Varying Biomass

Vincent Caruso, Sukh Sang, Mark Aspinall, Lisa Kershenbaum

Según el índice de diversidad empleado, hay diferencias entre OTUs y ASVs (Fisher es el que da más diferencias a favor de ASV).

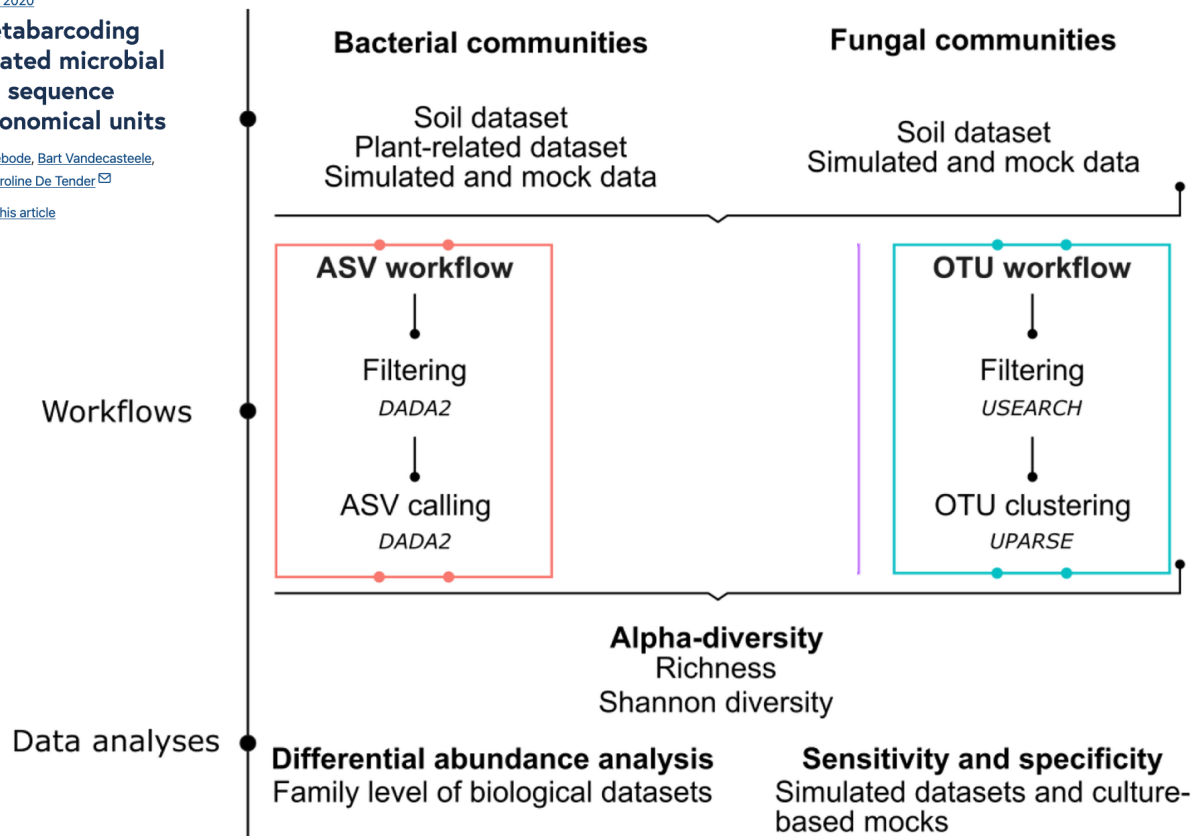


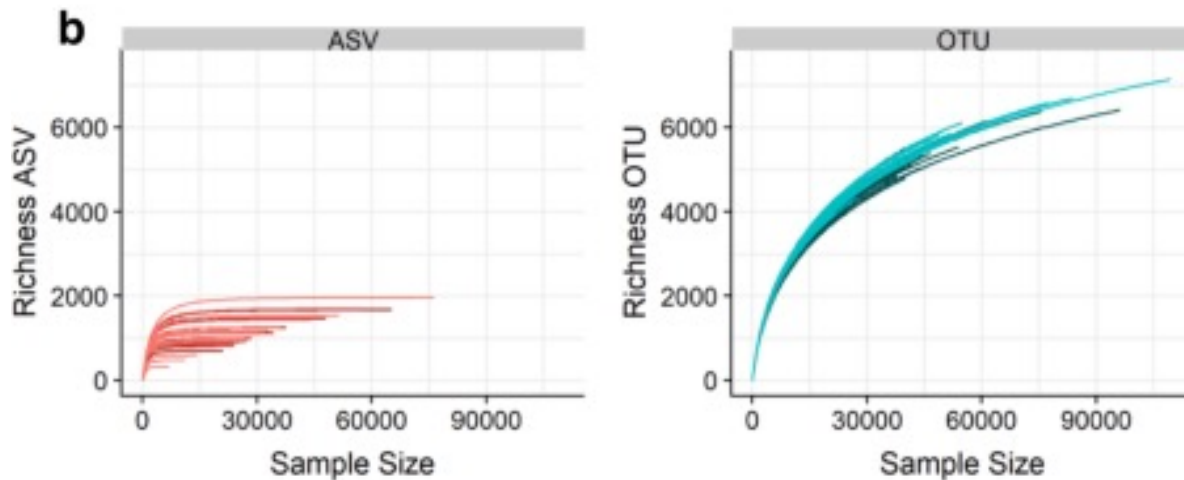
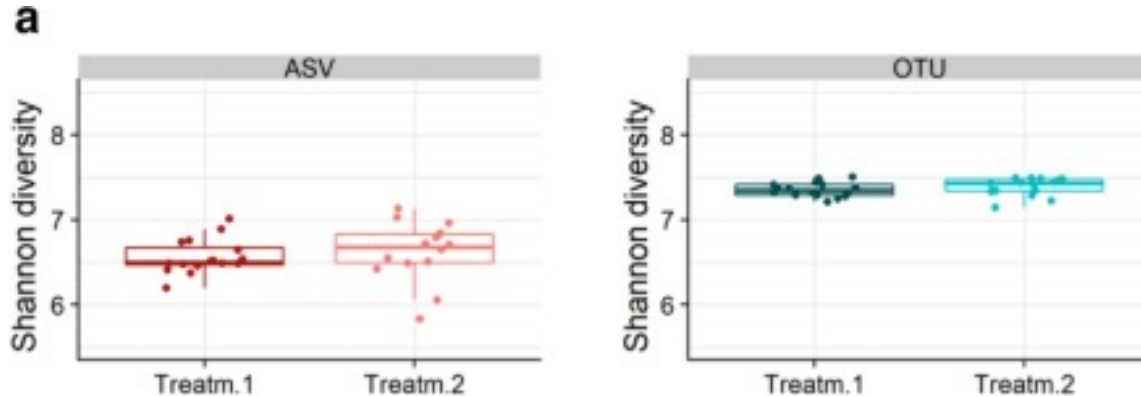
| Data set name (reference) | No. of strains |
|---------------------------|----------------|
| Kozich (26)               | 21             |
| Schirmer (27)             | 57             |
| D'Amore (28)              | 53             |
| Zymo                      | 8              |

# Daring to be differential: metabarcoding analysis of soil and plant-related microbial communities using amplicon sequence variants and operational taxonomical units

[Lisa Joos](#), [Stien Beirinckx](#), [Annelies Haegeman](#), [Jane Debode](#), [Bart Vandecasteele](#),  
[Steve Baeyen](#), [Sofie Goormachtig](#), [Lieven Clement](#) & [Caroline De Tender](#) 

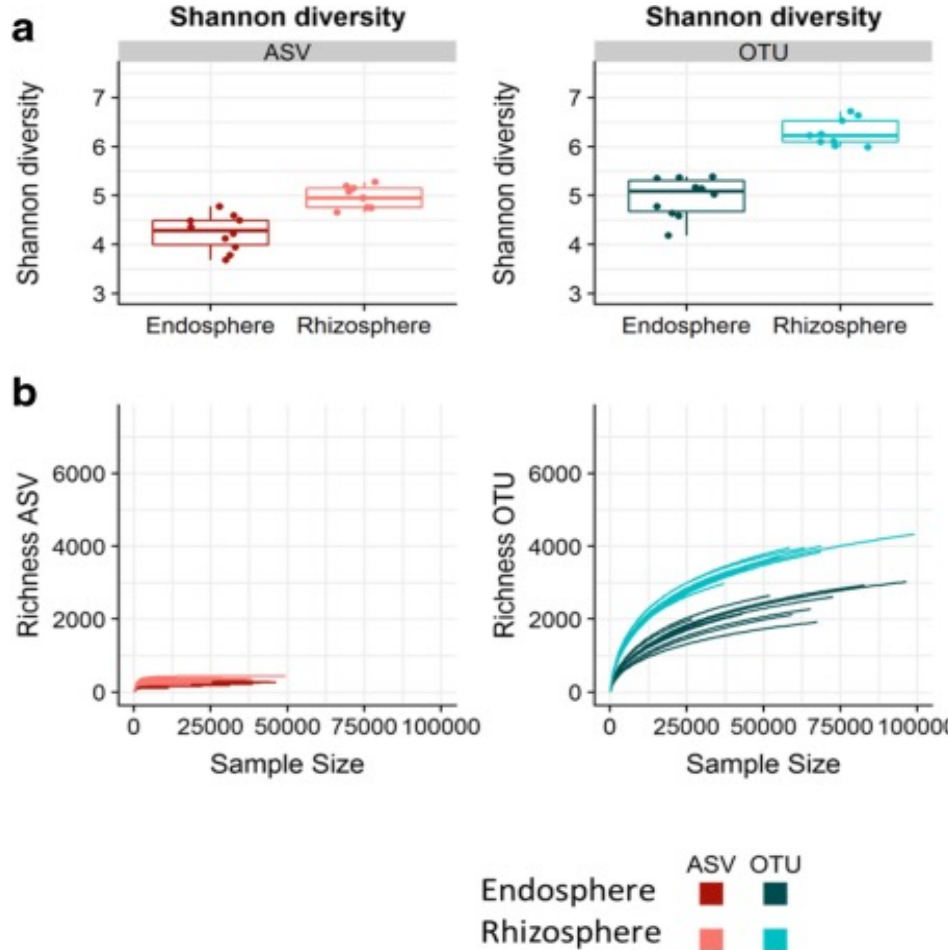
*BMC Genomics* 21, Article number: 733 (2020) | [Cite this article](#)





|             | ASV                                       | OTU                                      |
|-------------|-------------------------------------------|------------------------------------------|
| Treatment 1 | <span style="color: red;">■</span>        | <span style="color: darkgreen;">■</span> |
| Treatment 2 | <span style="color: lightcoral;">■</span> | <span style="color: cyan;">■</span>      |

# Comunidades bacterianas del suelo

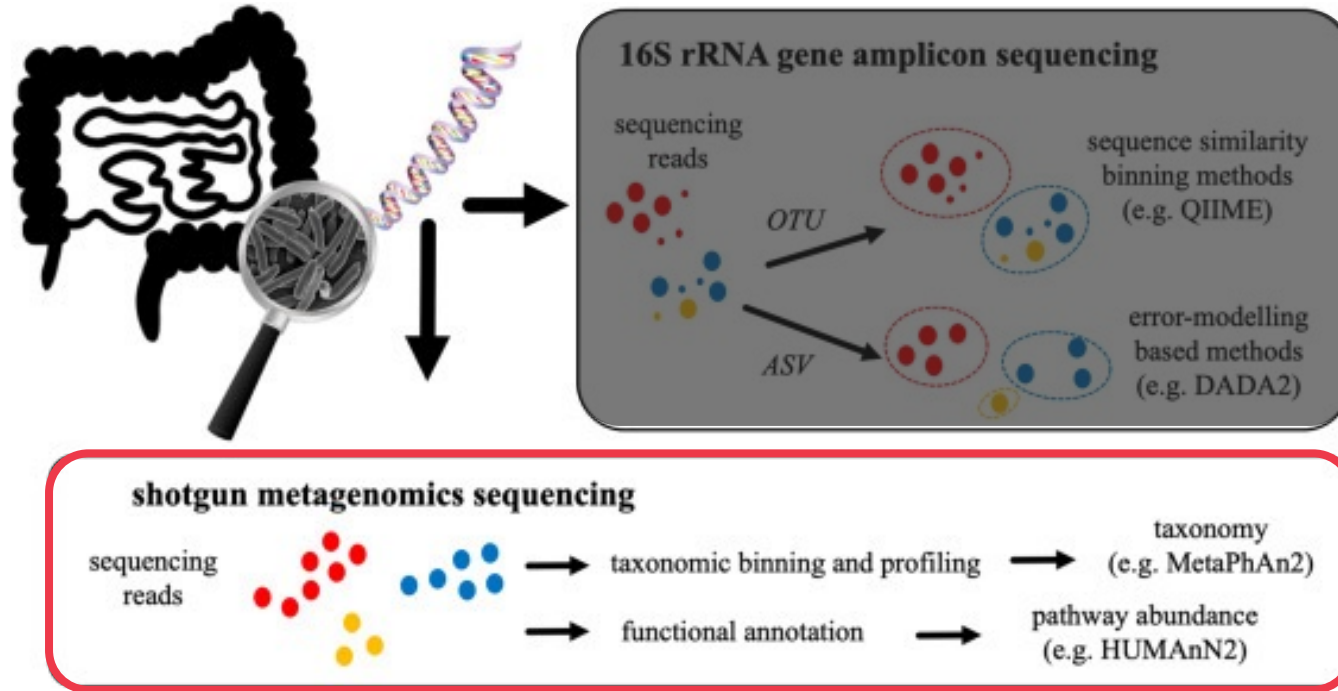


Comunidades bacterianas asociadas a las plantas

Los resultados de diversidad obtenidos pueden variar dependiendo del método utilizado para asignar secuencias a un taxón (para inferir las especies o taxones), de la aproximación informática (pipelines), de cuestiones metodológicas vinculadas a la tecnología de secuenciación.

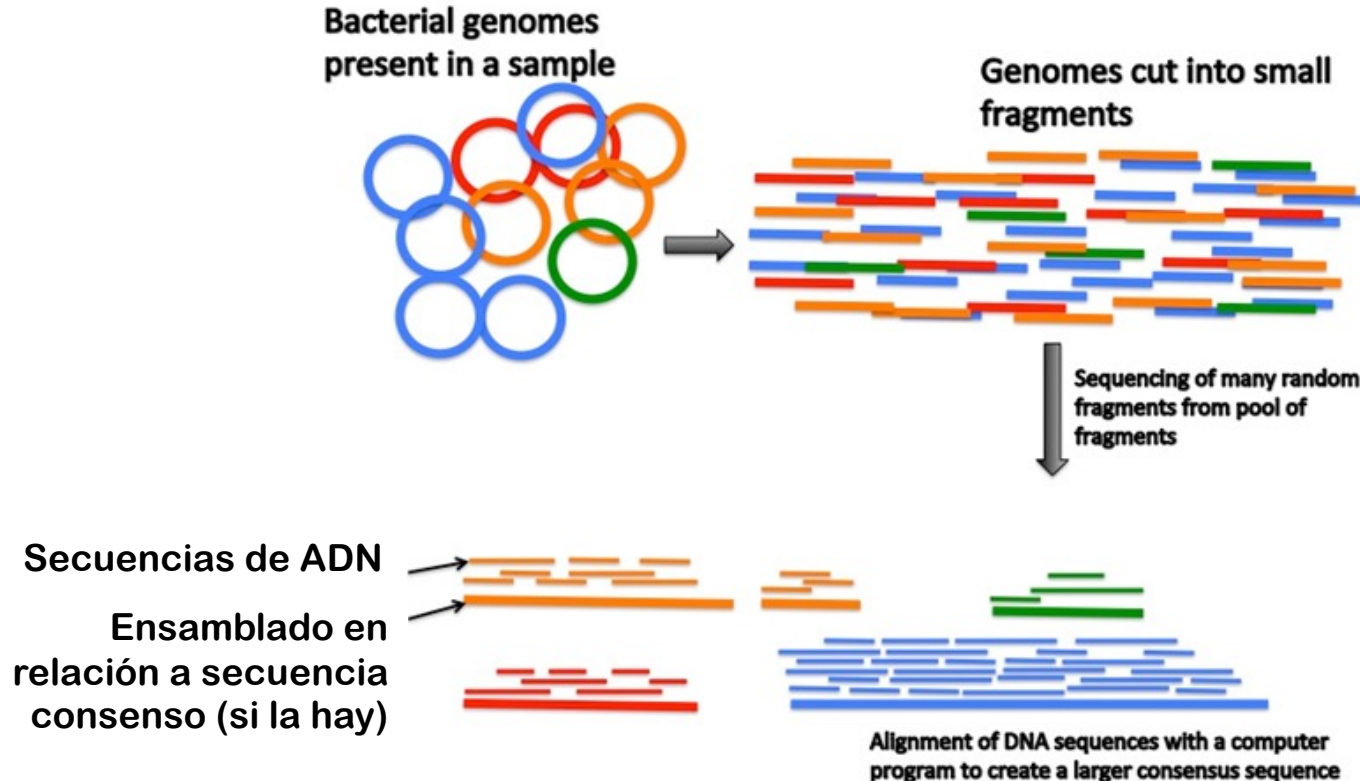
# Diversidad microbiana basada en metagenomas

la asignación de taxonomía difiere del método anterior

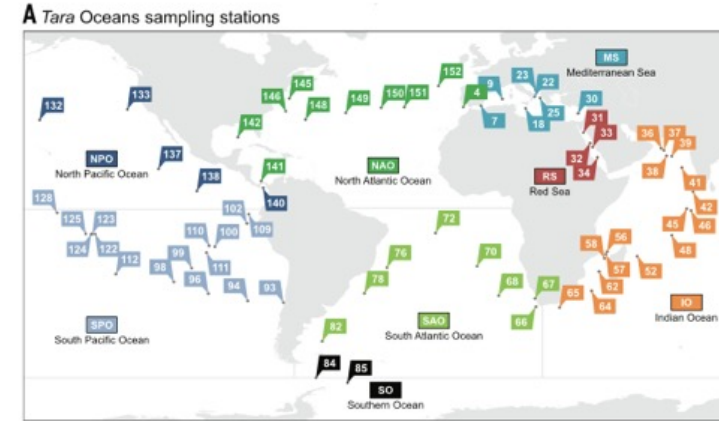




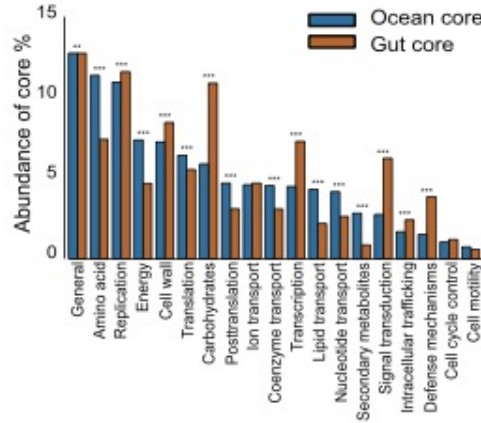
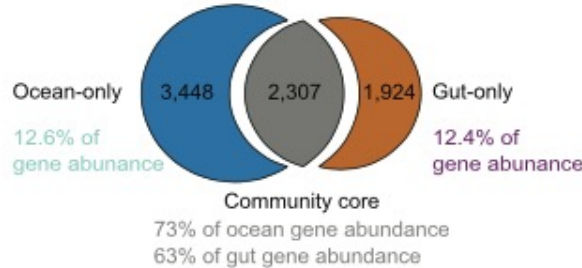
# Diversidad microbiana basada en metagenomas (shotgun metagenomics)



# Diversidad microbiana basada en metagenomas

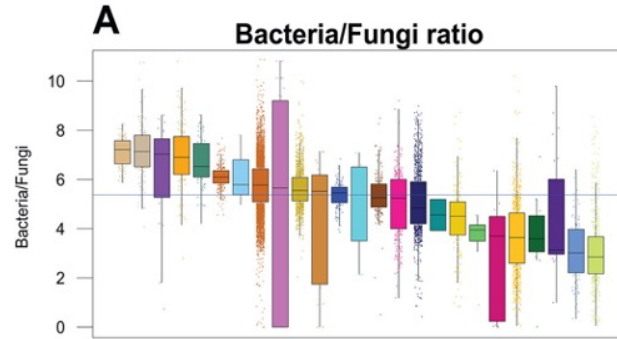


## C Ocean core vs gut core orthologous groups

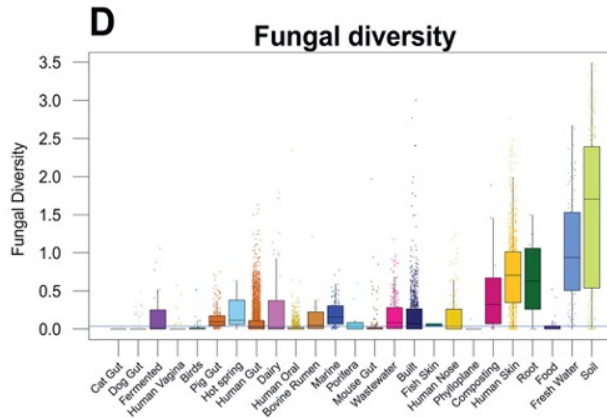
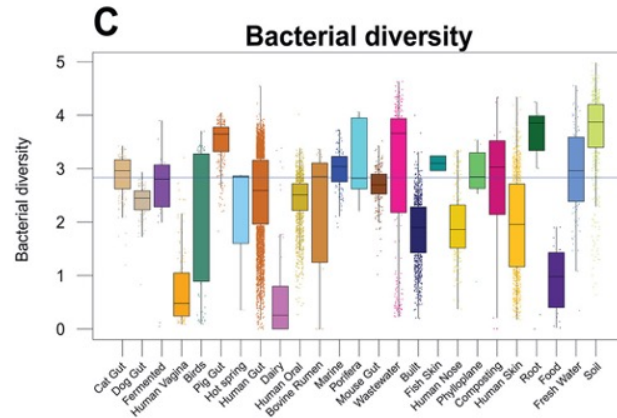


>73% de las funciones “core” del microbioma del océano se comparten con la del microbioma del intestino humano.

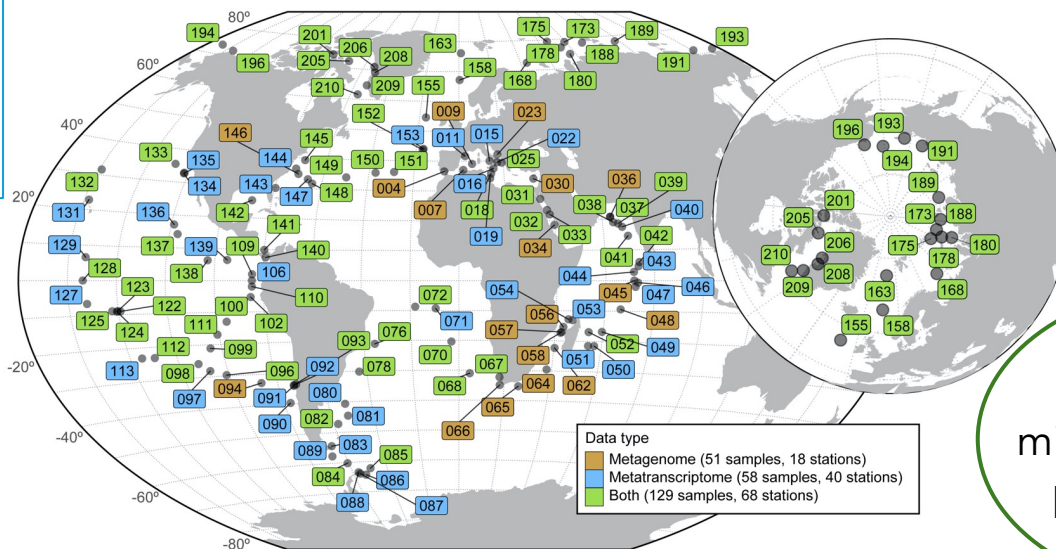
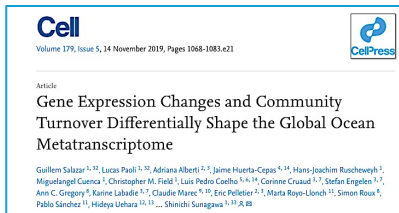
# Metagenomic assessment of the global diversity and distribution of bacteria and fungi



Usaron una base de datos global de **13.483 metagenomas** para analizar la estructura y función del microbioma (hongos y bacterias) en **25 host-associated and environmental habitats**.

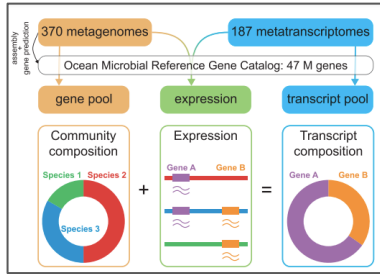


# Diversidad microbiana: combinando ADN y ARN (metagenomas y metatranscriptomas)

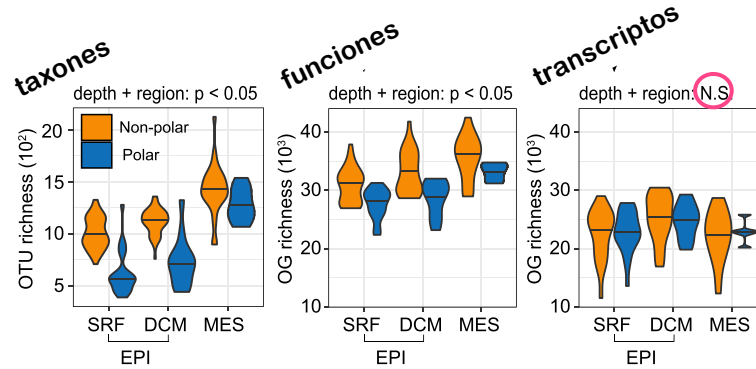


Generaron un  
 catálogo de 47  
 millones de genes a  
 partir de los 370  
 metagenomas

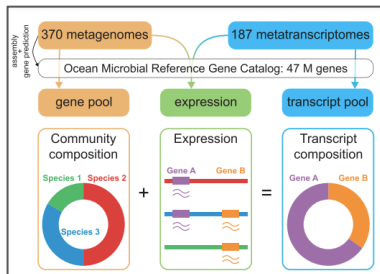
Here, we present a dataset of 187 metatranscriptomes and 370 metagenomes from 126 globally distributed sampling stations and establish a resource of 47 million genes to study community-level transcriptomes across depth layers from pole-to-pole.



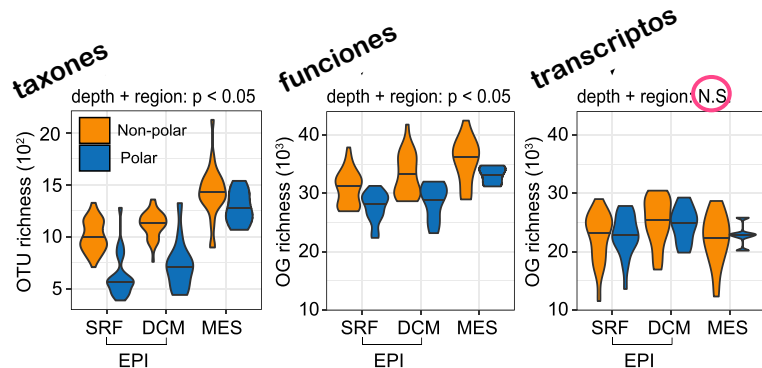
SRF: AGUA SUPERFICIAL  
 DCM: MÁXIMA PROFUNDIDAD DE LA CLOROFILA  
 MES: MESOPELÁGICA (entre 200 y 1000 m)



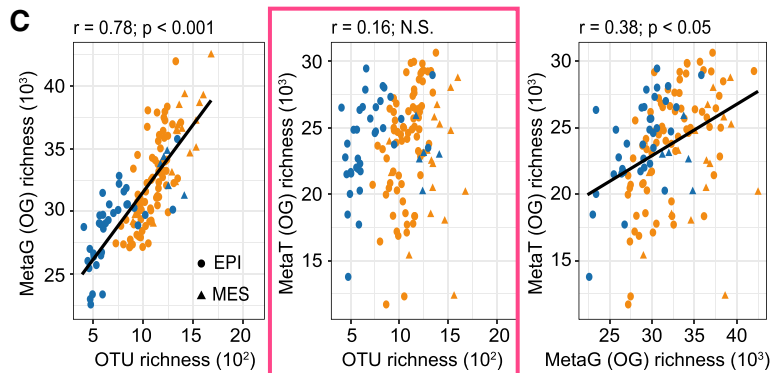
Diferencias debidas a  
 temperatura en taxones y  
 funciones, **pero no en**  
**transcriptos** (menos riqueza  
 taxonómica y funcional en aguas polares)



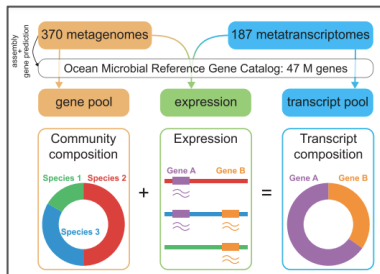
SRF: AGUA SUPERFICIAL  
 DCM: MÁXIMA PROFUNDIDAD DE LA CLOROFILA  
 MES: MESOPELÁGICA (entre 200 y 1000 m)



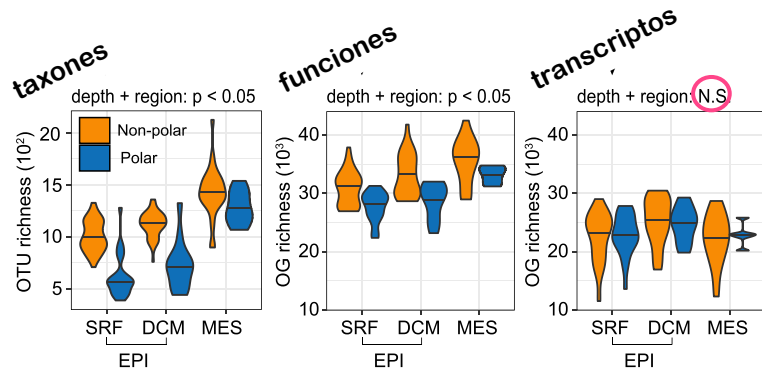
Diferencias debidas a temperatura en taxones y funciones, **pero no en transcritos** (menos riqueza taxonómica y funcional en aguas polares)



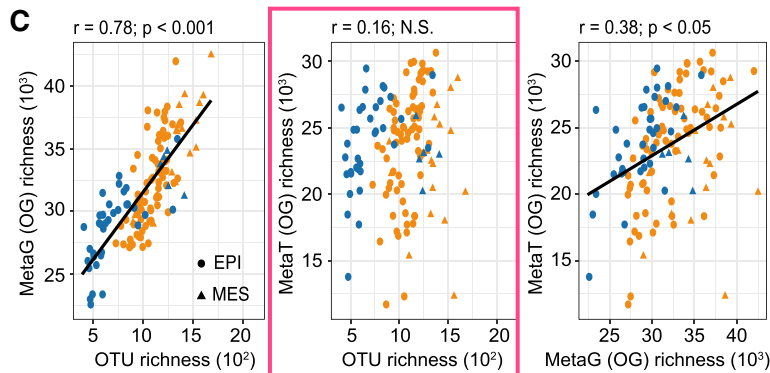
La riqueza de transcritos **no se correlaciona** con la **riqueza taxonómica** pero sí con la **funcional**



SRF: AGUA SUPERFICIAL  
 DCM: MÁXIMA PROFUNDIDAD DE LA CLOROFILA  
 MES: MESOPELÁGICA (entre 200 y 1000 m)



Diferencias debidas a temperatura en taxones y funciones, **pero no en transcritos** (menos riqueza taxonómica y funcional en aguas polares)



La riqueza de transcritos **no se correlaciona** con la **riqueza taxonómica** pero sí con la **funcional**



La **contribución** de los cambios en el transcriptoma es significativamente **menor en aguas polares** que en aguas **no polares**.



# Diversidad microbiana: combinando ADN y ARN (metagenomas y metatranscriptomas)

Cell

Volume 179, Issue 5, 14 November 2019, Pages 1068–1081.e21



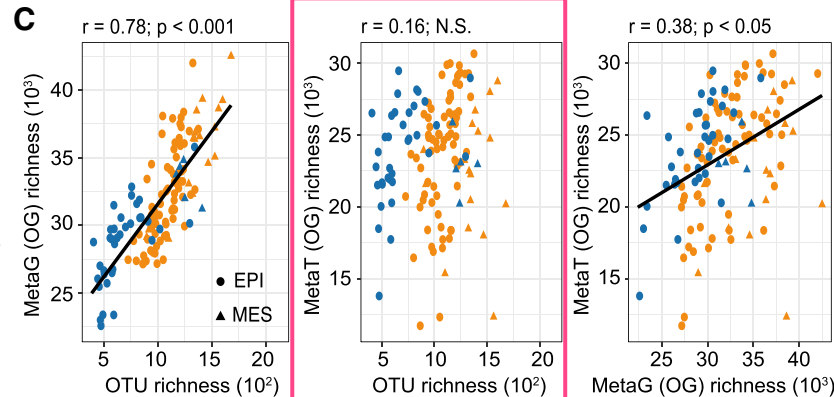
Article

## Gene Expression Changes and Community Turnover Differentially Shape the Global Ocean Metatranscriptome

Guillermo Salazar<sup>1,12</sup>, Lucas Paoli<sup>1,12</sup>, Adriana Alberti<sup>2,3</sup>, Jaime Huerta-Cepas<sup>4,14</sup>, Hans-Joachim Ruscheweyh<sup>5</sup>, Miguelangel Cuenca<sup>1</sup>, Christopher M. Field<sup>1</sup>, Luis Pedro Coelho<sup>6,9,14</sup>, Caroline Cruaud<sup>7,7</sup>, Stefan Engelen<sup>1,7</sup>, Ann C. Gregory<sup>8</sup>, Karine Labadie<sup>1,7</sup>, Claude Marie<sup>9,12</sup>, Eric Pelletier<sup>1,12</sup>, Marta Royo-Llonch<sup>12</sup>, Simon Roux<sup>4</sup>, Pablo Sánchez<sup>12</sup>, Hideo Uehara<sup>12,12</sup>, ... Shintaro Sunagawa<sup>1,12</sup>, R. BB

¿Por qué la transcripción de genes no sigue un patrón latitudinal?

¿A qué se debe la falta de correlación entre taxonomía y transcriptos?



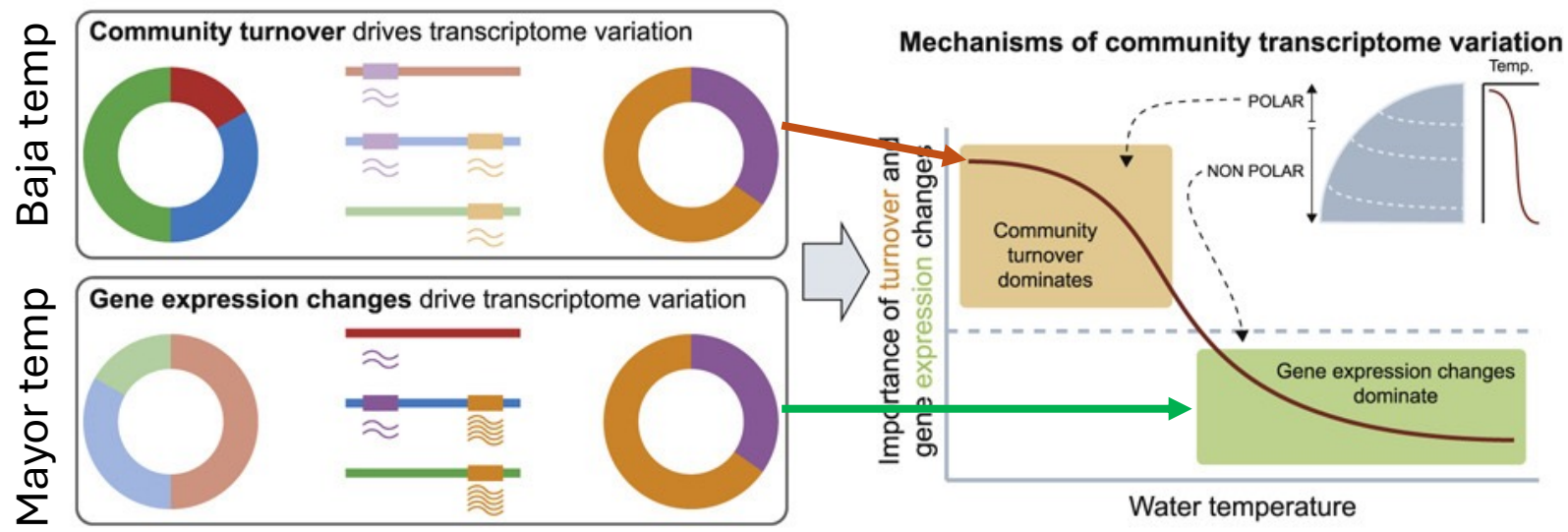


# Diversidad microbiana: combinando ADN y ARN

## (metagenomas y metatranscriptomas)

A baja T: cambios en los transcriptomas se explican por **cambio de especies y funciones** (*turnover*)

A mayores T: cambios en los transcriptomas se explican por **cambios en la expresión génica**

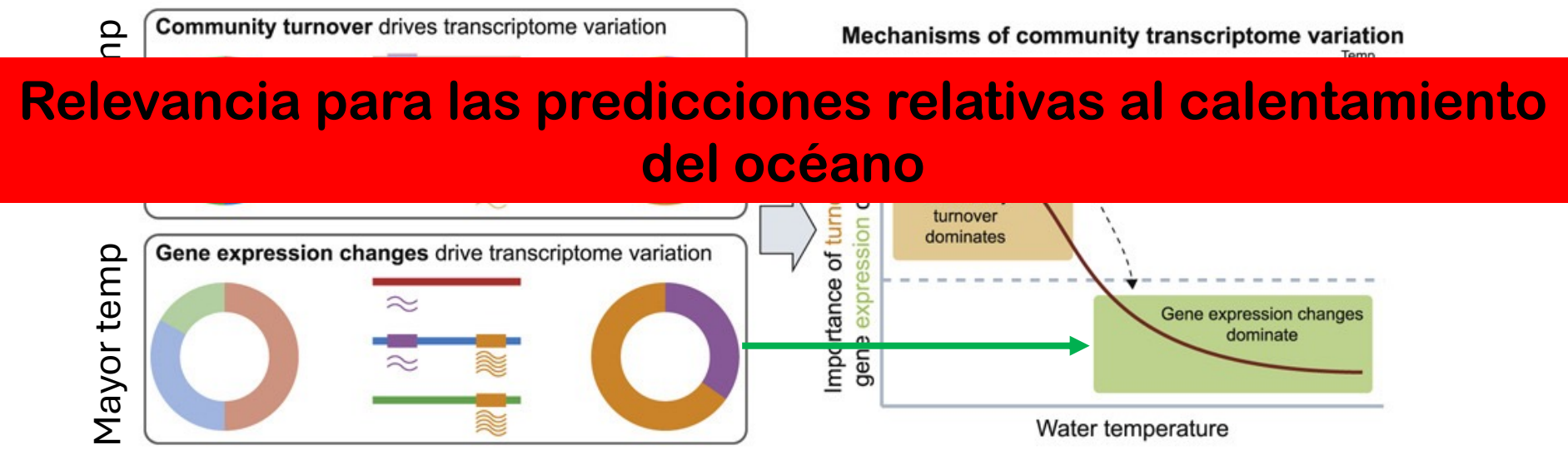


# Diversidad microbiana: combinando ADN y ARN

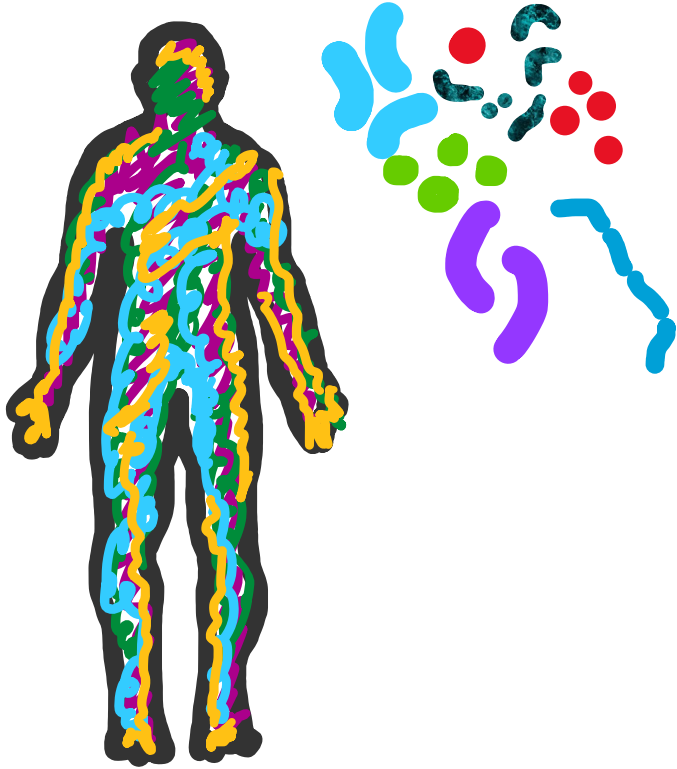
## (metagenomas y metatranscriptomas)

A baja T: cambios en los transcriptomas se explican por **cambio de especies y funciones** (*turnover*)

A mayores T: cambios en los transcriptomas se explican por **cambios en la expresión génica**

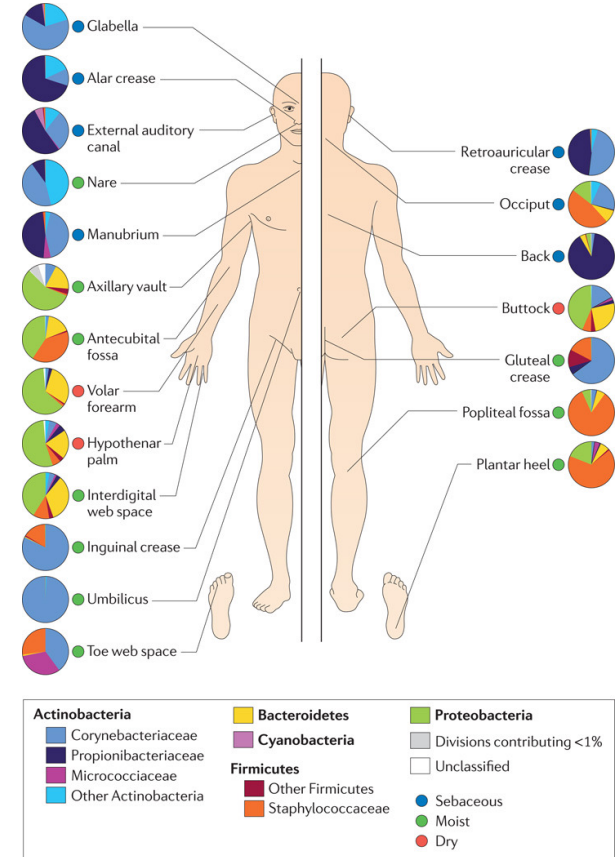
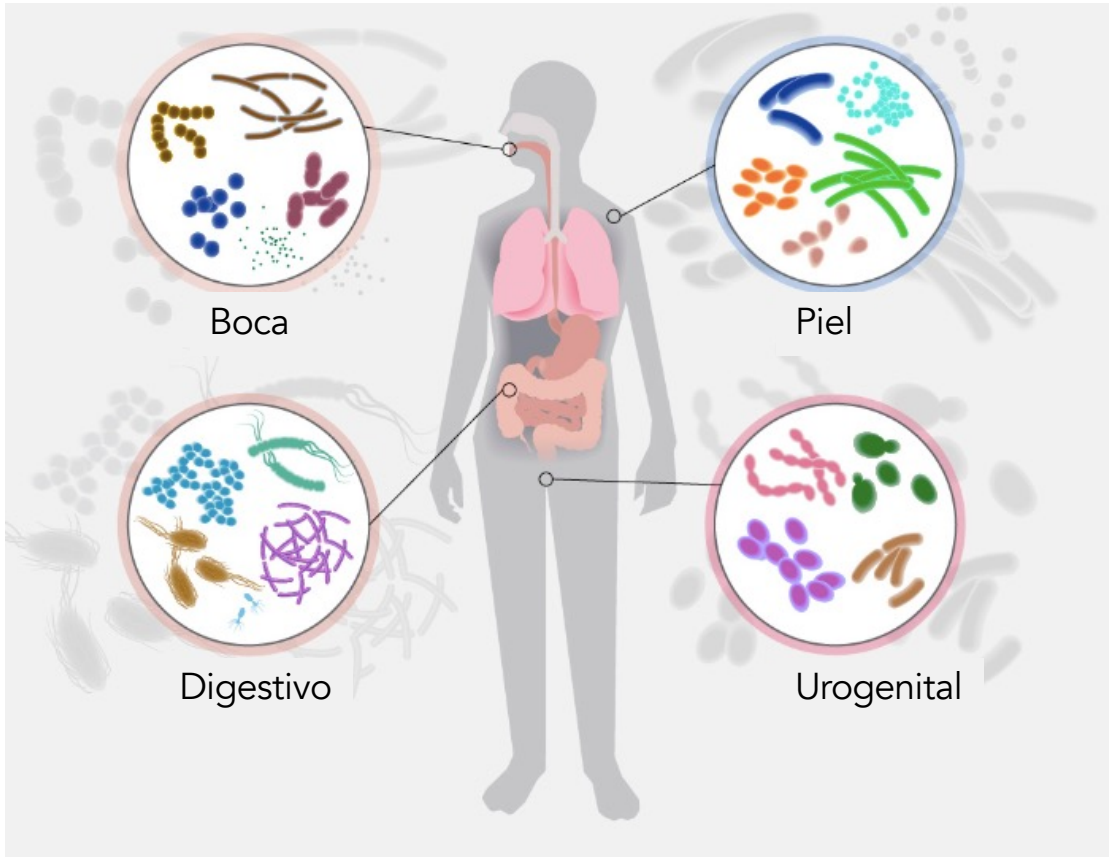


# Microbioma humano: información a partir de ómicas

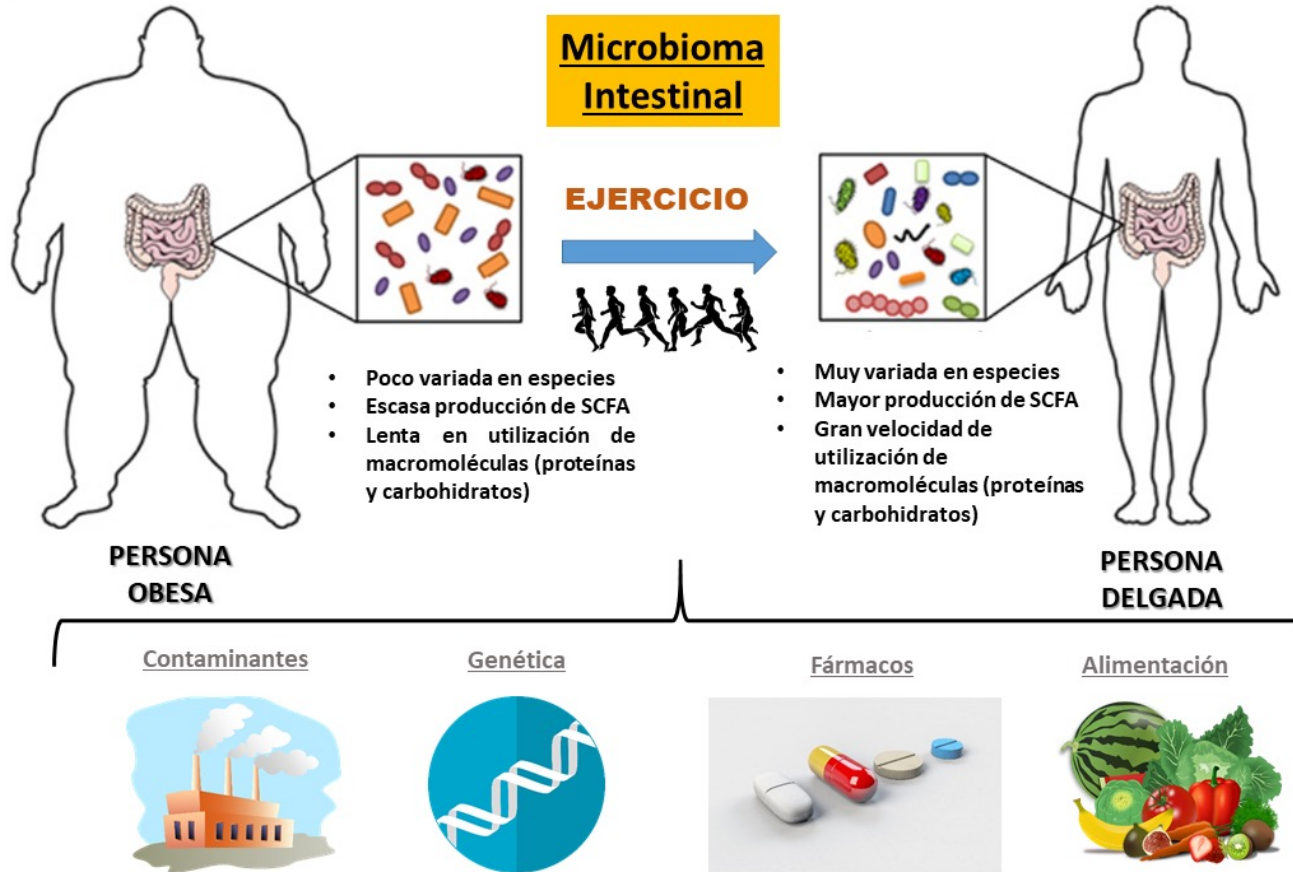


- $10^{13}$  células microbianas por persona agrupados en más de 10 mil especies.
- 10 veces más células microbianas que propias.
- Los genes de nuestro microbioma son 100 veces más que los nuestros.
- Si bien el 99.9% de la humanidad comparte el genoma, solo entre un 80 y 90% comparte el microbioma.
- La estructura del microbioma está relacionada con la salud del organismo (superorganismo).

# Microbioma humano: información a partir de ómicas



# Microbioma humano: información a partir de ómicas



# HOLOBIONTE: asociación de diferentes especies para dar lugar a unidades ecológicas

The Molecular Ecologist



News and commentary for ecology, evolution, and everything in between

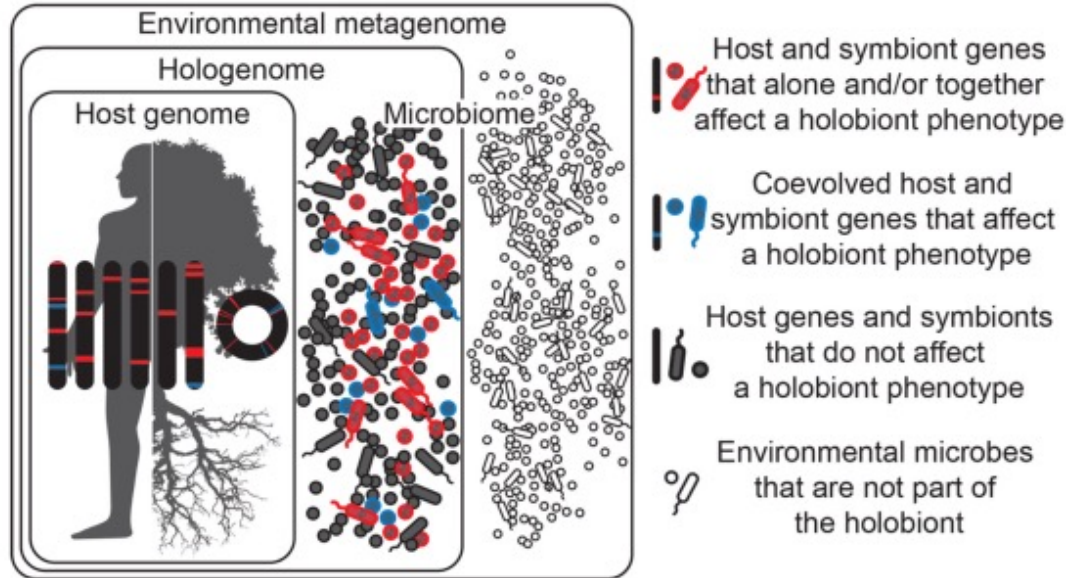


Figure 1 in Theis *et al.* 2016: <https://msystems.asm.org/content/1/2/e00028-16>







- Las herramientas de la metagenómica permiten estudiar a las comunidades microbianas de diversos ambientes independientemente de la capacidad de cultivarlas.
- Hay distintas aproximaciones para definir la unidad taxonómica (OTUs vs. ASVs) que pueden dar lugar a distintos resultados (más vale pensar antes que aplicar ciegamente un método porque es el que piden en las revistas).
- Los datos que están surgiendo de estos estudios están cambiando muchos paradigmas, la unidad biológica en la que se basa la diversidad debería re-discutirse.

Biological Theory  
<https://doi.org/10.1007/s13752-017-0287-1>

ORIGINAL ARTICLE



**Holobionts as Units of Selection and a Model of Their Population Dynamics and Evolution**

Joan Roughgarden<sup>1,6</sup> · Scott F. Gilbert<sup>2</sup> · Eugene Rosenberg<sup>3</sup> · Ilana Zilber-Rosenberg<sup>4</sup> · Elisabeth A. Lloyd<sup>5</sup>