

# “Aprendizaje basado en la experiencia” mediante un “Taller de Investigación en Biodiversidad de Microorganismos”

Bacigalupe R.<sup>1</sup>, Hernández-Iglesias J.<sup>1</sup>, Hernández-Vicente S.<sup>1</sup>, Mata J.<sup>1</sup>, Ortega A.<sup>1</sup>, Ortiz S.<sup>1</sup>, Pascual M.<sup>1</sup>, Ramos M.<sup>1</sup>, Sánchez-Guerrero A.M.<sup>1</sup>, Sánchez-Vicente I.<sup>1</sup>, Viñegra N.<sup>1</sup>, Coll P.M.<sup>2</sup>. e-mail: fresno@usal.es  
 Departamento de Microbiología y Genética, IBFG/CSIC Universidad de Salamanca.  
<sup>1</sup>Alumnos de Ecología Microbiana, curso 2011. <sup>2</sup>Profesor responsable de la asignatura

## PRESENTACIÓN

La biodiversidad y función de los microorganismos en ambientes naturales es un campo puntero de la microbiología.

En su estudio se emplea una combinación de técnicas clásicas de microbiología y otras más novedosas de biología molecular y bioinformática.

Muchas de estas técnicas son asequibles para realizar experimentos reales como trabajo práctico de laboratorio, similares a los trabajos de investigación más recientes, en los que se pueden obtener resultados inéditos.

Estas ventajas le convierten en un campo idóneo para introducir a los alumnos en el mundo de la investigación científica de forma supervisada, utilizando técnicas docentes de aprendizaje activo.

El proyecto de innovación docente “Taller de investigación en Biodiversidad de Microorganismos”, se desarrolla en la asignatura de “Ecología Microbiana” (5º curso de la Licenciatura de Biología), y sirve de prueba piloto para la puesta a punto de la asignatura “Estrategias de Investigación en Diversidad Microbiana” del “Máster en Biología Funcional de Microorganismos Eucariotas”.

## OBJETIVOS

El objetivo principal es la adquisición de los conocimientos, aptitudes y habilidades que le capaciten al alumno para realizar un trabajo de investigación en Microbiología. Los estudiantes deben adquirir un cierto grado de autonomía en todas las fases del proceso de investigación:

- **Manejo de información:** Saber buscar la información necesaria para la elaboración de experimentos o la interpretación de resultados.
- **Diseño de experimentos:** Conocer un amplio rango de técnicas prácticas y saber diseñar una estrategia de investigación.
- **Ejecución práctica:** Conseguir habilidad práctica de laboratorio (aislar y cultivar bacterias a partir de muestras ambientales, caracterizar e identificar microorganismos, extraer DNA de muestras de suelo, construir una genoteca ambiental).
- **Análisis de los resultados:** analizarlos, comparar resultados con lo ya publicado.
- **Presentación oral y escrita de los resultados:** Elaborar figuras y tablas de resultados experimentales, redactar informes de interpretación de resultados, sugerir hipótesis.
- **Elaboración de nuevas propuestas:** A partir de sus resultados, plantearse nuevos interrogantes para continuar un proyecto de investigación.

## METODOLOGÍA DE TRABAJO

La estrategia empleada es la de “Aprendizaje basado en la experiencia”. Para ello se plantea hacer “investigación real”, en la que los alumnos participen activamente en todas las fases del proceso de investigación.

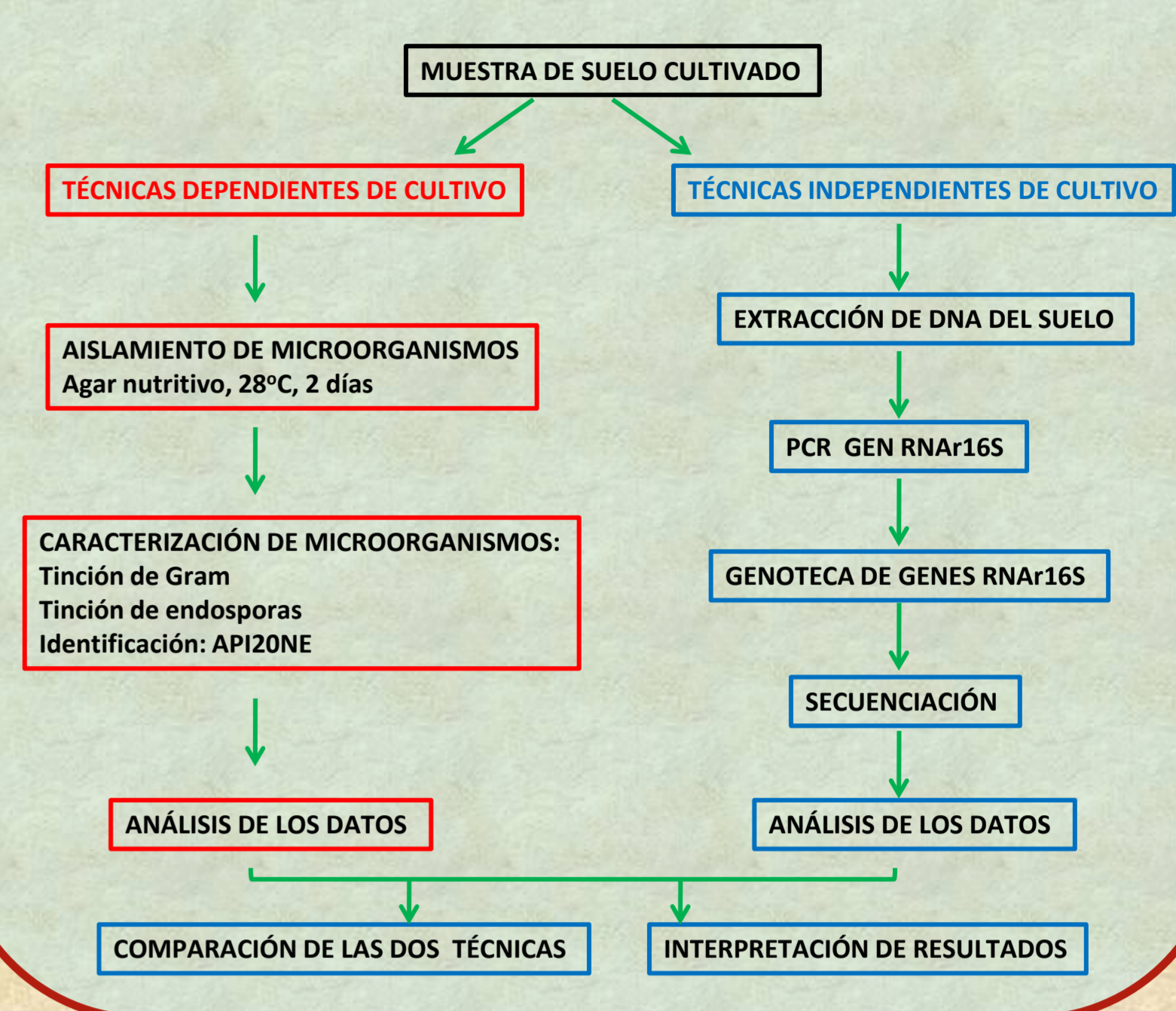
### ACTUACIONES:

- Búsquedas bibliográficas
- Trabajo práctico de laboratorio
- Utilización de programas informáticos y bases de datos
- Informes de interpretación de resultados experimentales
- Análisis de artículos de investigación

### RECURSOS:

- Laboratorio de prácticas:** Medios de cultivo de microorganismos, Sistema de identificación rápida APIZONE, Kit de extracción de DNA de suelo, PCR y kit de purificación de productos de PCR, Sistema de clonación pGEM-T Easy, Kit de mipleparación de plásmidos, Servicio de secuenciación de DNA
- Aula de informática:** Bibliografía (sistemas de búsqueda, revistas electrónicas), Bases de datos: Ribosomal Data Project, Programas de tratamientos de secuencias: CodonCode Aligner, Plataforma moodle

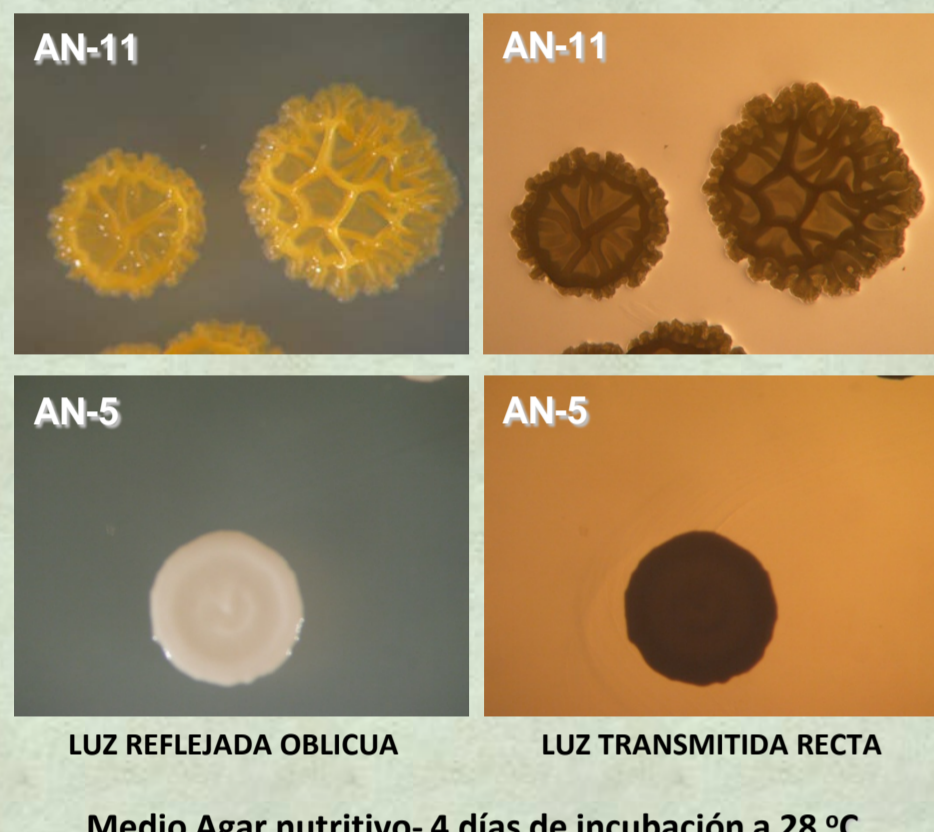
## ESTRATEGIA DE INVESTIGACIÓN PARA EL ESTUDIO DE LA BIODIVERSIDAD DE MICROORGANISMOS EN EL SUELO



## TÉCNICAS DEPENDIENTES DE CULTIVO

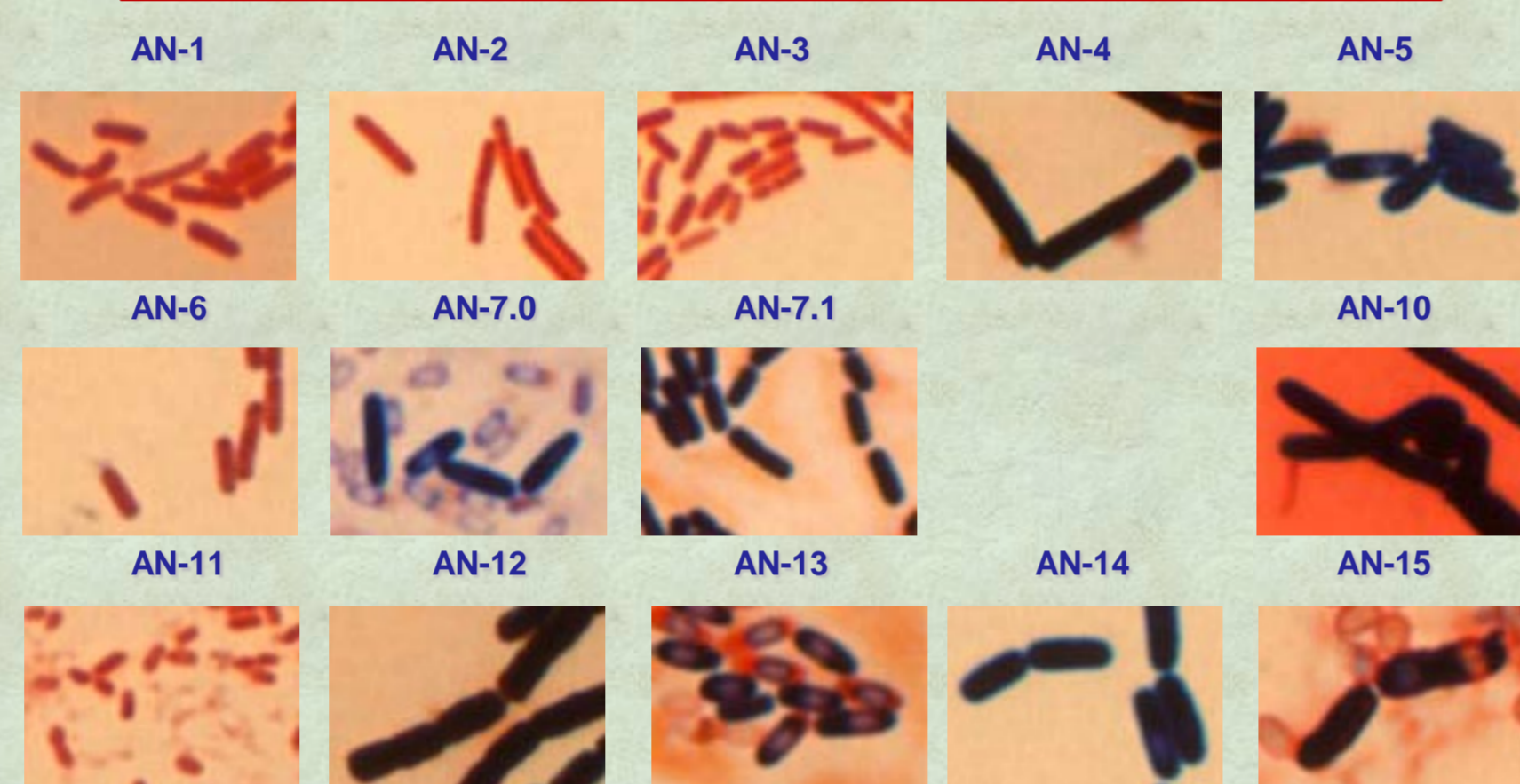
### ASLAMIENTO

Selección de 12-14 cepas abundantes



### CARACTERIZACIÓN

Tinción de Gram Comparación de forma y tamaño



Tinción de Endosporas Comparación de forma y tamaño de las endosporas



### IDENTIFICACIÓN

Sistema de Identificación Rápida APIZONE



BUENA IDENTIFICACIÓN					
Galería	API 20 NE V7.0				
Perfil	1 4 2 1 7 4 0				
Nota					
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra		
Sphingomonas paucimobilis	99.8	0.36	NO3 10%   GLU9 99%   MNE9 78%		

### TABLA RESUMEN

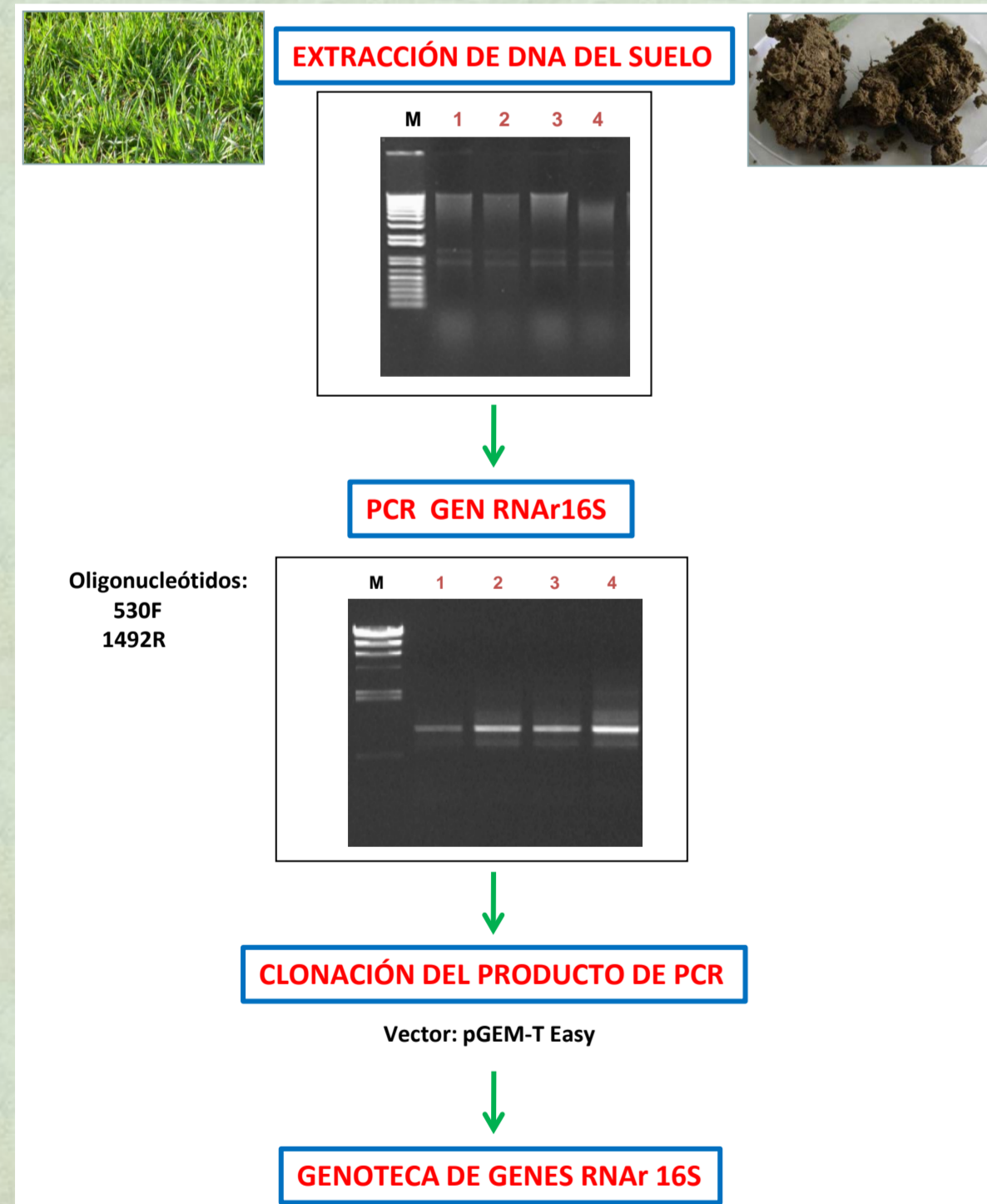
MICROORGANISMOS DETECTADOS MEDIANTE TÉCNICAS DEPENDIENTES DE CULTIVO

CEPA	GRAM	ENDOSPORA	BIOFILM	APIZONE	FILUM
AN-1	-			No identificado	
AN-2	-			Pasteurella trehalosi / Mannheimia haemolytica	PROTEOBACTERIA
AN-3	-			Sphingomonas paucimobilis	PROTEOBACTERIA
AN-4	+	+	SÍ		FIRMICUTES
AN-5	+	+	SÍ		FIRMICUTES
AN-6	-			Rhizobium radiobacter	PROTEOBACTERIA
AN-7	+	+	SÍ		FIRMICUTES
AN-8					
AN-10	+				ACTINOBACTERIA
AN-11	-			Burkholderia cepacia	PROTEOBACTERIA
AN-12	+	+	NO		FIRMICUTES
AN-13	+	+	SÍ		FIRMICUTES
AN-14	+	+	SÍ		FIRMICUTES
AN-15	+	+	NO		FIRMICUTES

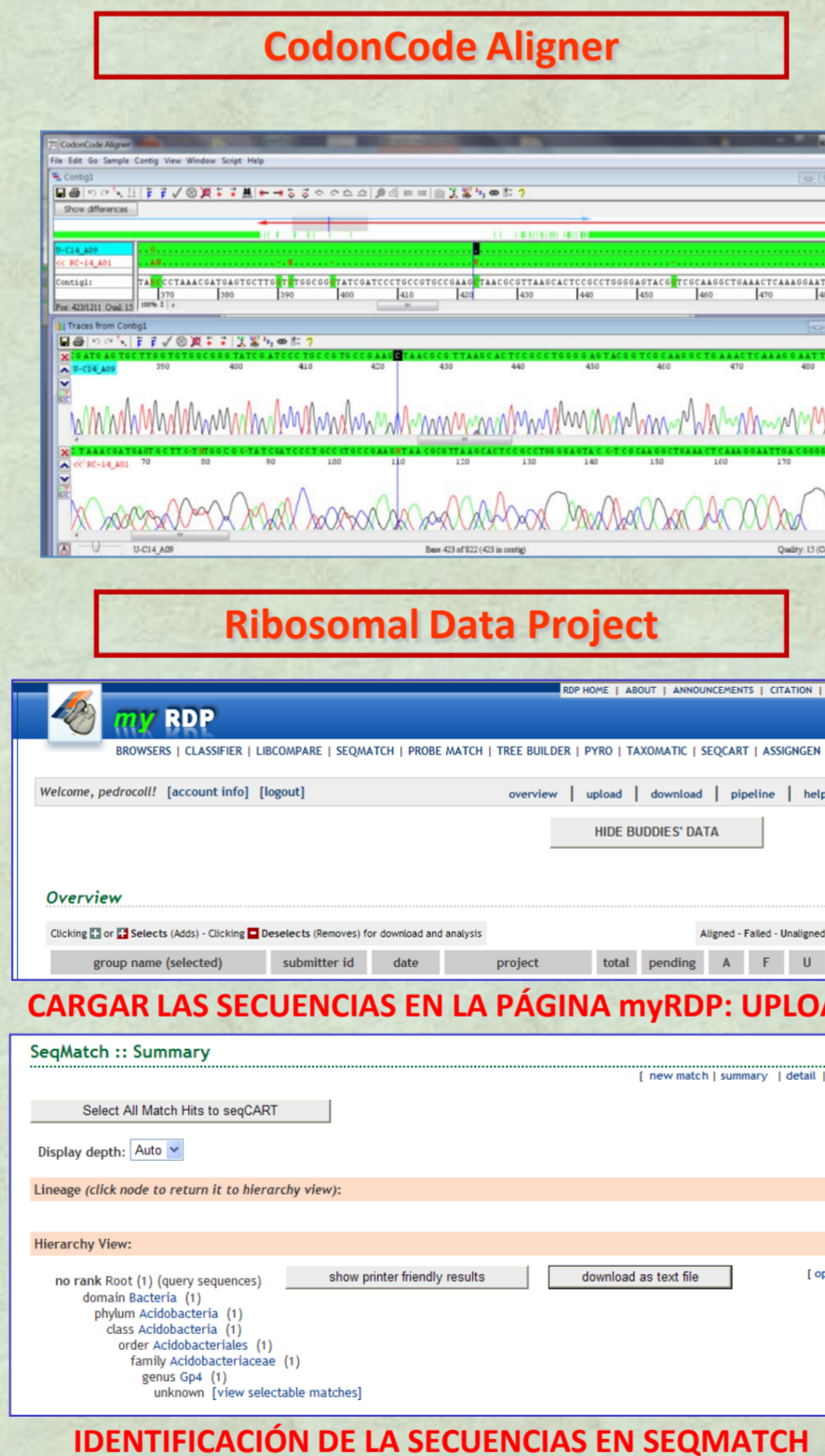
MEDIANTE EL ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD DE MICROORGANISMOS USANDO TÉCNICAS DEPENDIENTES DE CULTIVO, EL ALUMNO PUEDE PROFUNDIZAR SU CONOCIMIENTO DE LAS TÉCNICAS CLÁSICAS DE LA MICROBIOLOGÍA

## TÉCNICAS INDEPENDIENTES DE CULTIVO

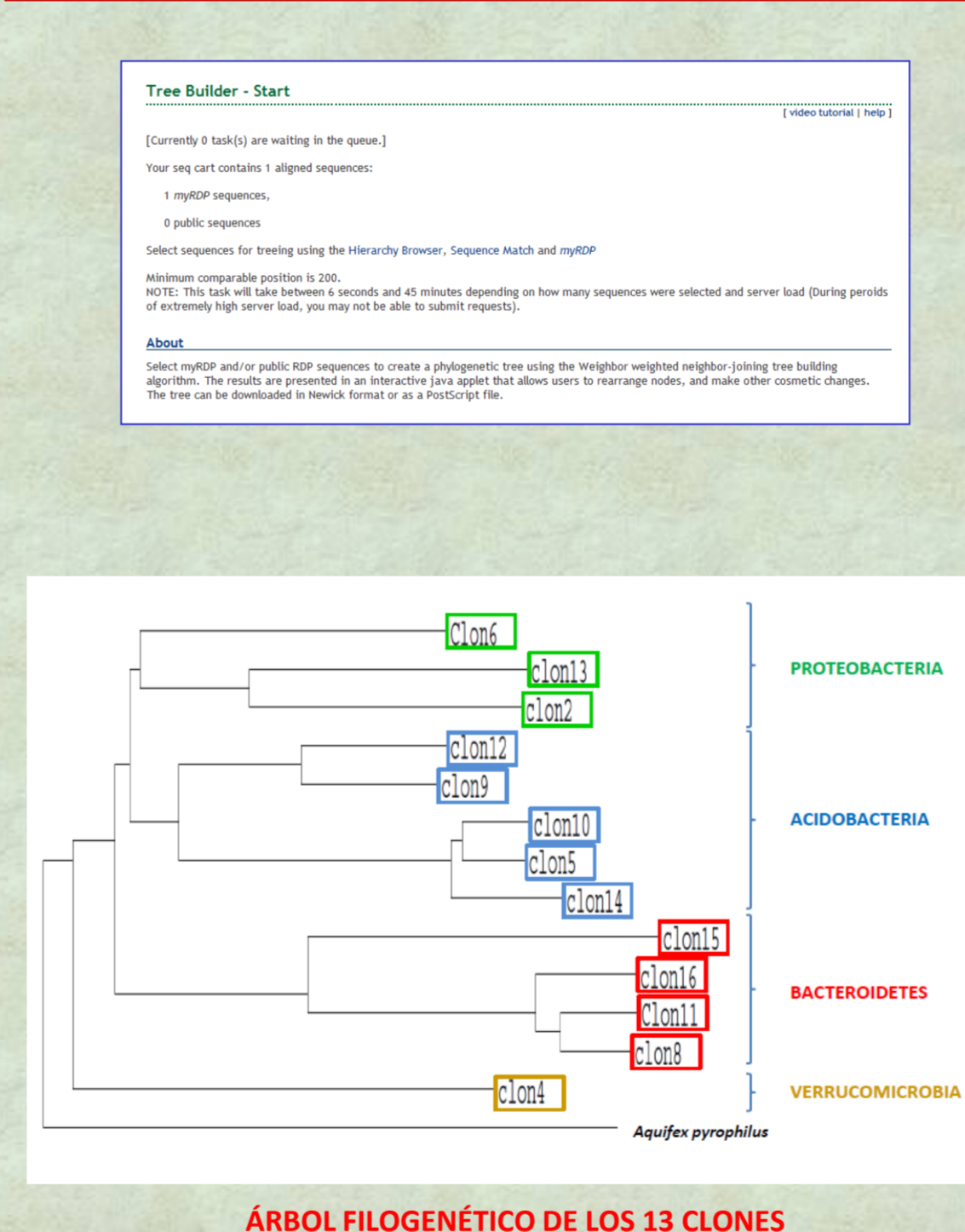
### CONSTRUCCIÓN DE UNA GENOTECA AMBIENTAL DE GENES RNAr 16S



### SECUENCIACIÓN DE 12-14 CLONES



### Construcción de árboles filogenéticos: Tree Builder



ÁRBOL FILOGENÉTICO DE LOS 13 CLONES

### TABLA RESUMEN

MICROORGANISMOS DETECTADOS MEDIANTE TÉCNICAS INDEPENDIENTES DE CULTIVO

CEPA	GRAM	CLASE-ORDEN-FAMILIA	GÉNERO	FILUM
Clon2	-	Betaproteobacteria (unclassified Betaproteobacteria)		PROTEOBACTERIA
Clon4	-	Subdivisión 3		VERRUCOMICROBIA
Clon5	-	Acidobacteria_Gp4	Gp4	ACIDOBACTERIA
Clon6	-	Alphaproteobacteria-Sphingomonadales-Sphingomonadaceae	Sphingomonas	PROTEOBACTERIA
Clon8	-	Sphingobacteria-Sphingobacteriales-Chitinofagaceae	Terrimonas	BACTEROIDETES
Clon9	-	Acidobacteria_Gp6	Gp6	ACIDOBACTERIA
Clon10	-	Acidobacteria_Gp4	Gp4	ACIDOBACTERIA
Clon11	-	Sphingobacteria-Sphingobacteriales-Chitinofagaceae	Ferruginibacter o Terrimonas	BACTEROIDETES
Clon12	-	Acidobacteria_Gp6	Gp6	ACIDOBACTERIA
Clon13	-	Gammaproteobacteria-Enterobacteriales-Enterobacteriaceae	Escherichia Shigella	PROTEOBACTERIA
Clon14	-	Acidobacteria_Gp4	Gp4	ACIDOBACTERIA
Clon15	-	Sphingobacteria-Sphingobacteriales-Cytophagaceae	Hymenobacter	BACTEROIDETES
Clon16	-	Sphingobacteria-Sphingobacteriales-Chitinofagaceae	Ferruginobacter	BACTEROIDETES

MEDIANTE EL ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD DE MICROORGANISMOS USANDO TÉCNICAS INDEPENDIENTES DE CULTIVO, EL ALUMNO APRENDE LAS TÉCNICAS DE LA BIOLOGÍA MOLECULAR APLICADAS A LA ECOLOGÍA MICROBIANA

## INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Los alumnos elaboran un “Informe de resultados experimentales” que consiste en un resumen de resultados y una interpretación de los mismos, de forma similar a como se realiza una discusión de un artículo científico.

Los alumnos comparan los resultados obtenidos mediante técnicas dependientes o independientes de cultivo. Esto les permite descubrir por ellos mismos las ventajas y las limitaciones de cada una de las técnicas experimentales empleadas.

Lo más destacable es la enorme diferencia de los microorganismos detectados con cada una de las técnicas. Este resultado es muy interesante para que el alumno utilice su capacidad de análisis y saque conclusiones. Así mismo, puede comprobar cómo los microorganismos más abundantes en el suelo según técnicas de biología molecular aún no han sido cultivados en un laboratorio y su función se desconoce.

En la discusión se incluye el significado ecológico de los microorganismos detectados en este ambiente: Qué supone la presencia de ese microorganismo, qué función ecológica puede desempeñar. Este apartado requiere que los alumnos consulten la bibliografía y comparen sus datos con los publicados en revistas científicas:

- Sobre los microorganismos cultivables es más fácil elaborar conclusiones ya que se dispone de más información.
- En el caso de los microorganismos detectados por su secuencia, en primer lugar se construye un árbol filogenético de cada uno de los clones para relacionarlo con las secuencias más próximas ya publicadas, pertenecientes a especies no cultivadas, especies cultivadas o especies tipo. Finalmente, a partir de este árbol se elaboran distintas hipótesis sobre su posible función, suponiendo que disponen de características similares a la de los microorganismos más próximos en el árbol filogenético.

## EVALUACIÓN DE LOS ALUMNOS

### VALORACIÓN DE LA MEJORA DE HABILIDADES ADQUIRIDAS



## CONCLUSIONES

- El estudio de la diversidad y función de los microorganismos en ambientes naturales es un campo idóneo para introducir a los alumnos en el mundo de la investigación científica.
- La estrategia didáctica de “Aprendizaje basado en la experiencia” (o “Learning by doing”) permite adquirir conocimientos de forma activa y tiene una aceptación excelente por parte de los alumnos, como se ha comprobado en el proyecto de innovación docente “Taller de Investigación en Biodiversidad de Microorganismos”.
- La metodología docente activa, aunque requiere un mayor esfuerzo por parte del alumno y del profesor, permite obtener un nivel satisfactorio de conocimientos y una mejora considerable de las habilidades y capacidades que facilitarán al alumno el acceso a un laboratorio de investigación científica.
- Los alumnos valoran muy positivamente la posibilidad de realizar un mayor número de horas en un laboratorio de prácticas. El trabajo experimental además de mejorar sus habilidades manuales, les proporciona resultados reales de investigación con los que poder desarrollar sus habilidades de análisis crítico.
- La desventaja mayor del aprendizaje mediante la realización de trabajos prácticos es que requiere mucho tiempo y es necesario disminuir los contenidos teóricos de la asignatura.