



Programa sinóptico de la unidad curricular: **ECOLOGÍA MOLECULAR**

Unidad Curricular: Ecología Molecular					Unidad Responsable: Dpto. de Biología				
Datos Unidad Curricular		Modalidad			Tipo Dedicación		Dedicación Total Unidad Curricular		
Código	Semestre	T	P	L	HTSP	HTSNP	CA	Total Horas por Semana (HS=CA X 3)	Total Horas por Semestre (HS X 16)
191401	9	2	0	6	2	6	4	12	192

Prelaciones: Haber aprobado el séptimo semestre, es decir 117 CA

HSTP: Horas semanales de trabajo que se realiza en el aula o laboratorio y requiere preparación y trabajo adicional

HTSNP: Horas semanales que se realizan en el aula o laboratorio y no requieren de preparación o trabajo adicional

CA: créditos académicos

Justificación

Este curso electivo pretende unificar los conocimientos de muchas de las más importantes disciplinas de la biología actual (genética, evolución, ecología, bioquímica, bioinformática), con la finalidad de proporcionar una visión integradora u holística sobre la identidad y variabilidad de los organismos vivos ante los retos a los que debe hacer frente un biólogo en nuestros días. La biología molecular constituye una de las ramas de la biología de mayor crecimiento durante las últimas décadas. Ésta se centra en el estudio los procesos que ocurren en los seres vivos desde un enfoque molecular, desde la codificación de la información hasta las vías de organización del genoma y su expresión. Uno de los principales temas que aborda la biología molecular es el estudio detallado del ácido desoxirribonucleico o ADN, la más importante molécula en la que se almacena la información genética de los seres vivos.

Parte del estudio del ADN comprende conocer los mecanismos a través de los cuales la información genética es heredada a la descendencia. Si bien en la actualidad las nuevas tecnologías de secuenciamiento permiten analizar secuencias de gran tamaño (genomas completos) para evaluar tanto patrones de herencia como la evolución de los organismos, el uso de marcadores moleculares también pueden proporcionar información de dichos procesos siguiendo un abordaje a menor escala. La ecología molecular es considerada una nueva corriente científica dentro de la ecología tradicional, la cual emplea el conocimiento y herramientas de la biología molecular en procura de resolver preguntas tanto de corte ecológico, como genético y evolutivo en poblaciones o comunidades de organismos. Conocer y comprender como las nuevas tecnologías pueden ser aplicadas a cada escenario en el que el biólogo se desenvuelve es parte crucial del desarrollo de trabajos más competitivos en el mundo de la investigación científica.



En otras palabras, el avance actual en el conocimiento de los organismos vivos y sus relaciones de parentesco, variabilidad, relaciones con el ambiente, cambios fisiológicos y morfológicos, y otros, imponen la necesidad de contar con métodos de análisis de fácil ejecución capaces de brindar información confiable, rápida y efectiva para la resolución de las más variadas preguntas y problemas. Los marcadores moleculares alcanzaron la mayoría de edad y son cada vez más aplicados a los más diversos campos donde esté involucrado algún organismo vivo. Sin embargo, existe un desconocimiento general en los profesionales relacionados con la ciencia de la vida acerca de la pertinencia de cada método para resolver problemas concretos. Aspiramos con este curso llenar un vacío conceptual que permita a biólogos, bioanalistas, mejoradores, etc., escoger de manera informada el método más apropiado para resolver o dar respuesta a preguntas de orden biológico de la más variada naturaleza.

Requerimientos

Se recomienda que el estudiante de octavo/noveno semestre que opte por este curso electivo muestre dominio técnico del idioma inglés, agilidad en el uso de bibliografía en ese idioma y que tenga conocimientos básicos/intermedios en genética, ecología, bioinformática y evolución.

Objetivo General

Presentar de manera sistemática y razonada los más populares (y eficientes) métodos de análisis molecular, basados en los polimorfismos encontrados en los ácidos nucleicos, así como de su posterior análisis computacional.

Objetivos Específicos

- Estudiar los principales mecanismos a través de los cuales opera la evolución de los seres vivos.
- Describir el ácido desoxirribonucleico (ADN) como molécula portadora de la información genética, sus cambios en el tiempo y su manipulación *in vitro*.
- Conocer los mecanismos que generan variabilidad genética en una población.
- Describir los métodos de secuenciamiento de ADN y su utilidad en la ecología.
- Dar a conocer los principales métodos de análisis molecular, basados en ADN y ARN: microsatélites, RAPD, AFLP, cDNA-AFLP, SSCP, SNP, etc.
- Presentar los principales criterios de estudio para la escogencia del marcador más pertinente de acuerdo al objetivo planteado.
- Establecer y comparar las definiciones clásicas y moleculares de especie aplicadas a animales, plantas y microorganismos.
- Estudiar las herramientas moleculares utilizadas en el análisis de comunidades microbianas.
- Conocer algunos de los más importantes procesos que tienen lugar en la rizósfera y que influyen en la evolución de microorganismos.



- Presentar una práctica demostrativa del uso de los marcadores moleculares mediante el análisis por SSR de poblaciones de una planta cultivada, desde la colecta de muestras hasta el posterior análisis computacional de los resultados moleculares.

Parte I. Contenido Teórico

UNIDAD I. Estructura, manipulación y análisis de secuencias de ADN.

Tema 1. Estructura, composición y función de ácidos nucleicos. Enzimas en la manipulación del ADN. Desnaturalización del ADN. Genes y pseudogenes. Mutación. Cromosomas, cariotipo y cambios Robertsonianos. Secuencias repetidas, secuencias sencillas y familias de genes.

Tema 2. Secuenciamiento de ADN. Tipos de secuenciación de ADN. Secuenciación automática. Tecnologías de secuenciación de próxima generación (NGS). Pirosecuenciación. Análisis de secuencia. Marcos abiertos de lectura (ORFs). Anotación de genes y genomas.

Tema 3. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Historia y principio. Variaciones de la técnica. PCR en tiempo real. RT PCR. PCR y marcadores moleculares basados en su empleo.

UNIDAD II. Ecología y evolución.

Tema 4. Evolución. Selección natural a nivel molecular. Selección positiva y negativa. Deriva génica. Concepto de *fitness*. Modelos de sustitución. Variabilidad genética y polimorfismos. Endogamia y panmixia. Selección artificial.

Tema 5. Genética de poblaciones. Frecuencias alélicas. Equilibrio de Hardy-Weinberg. Fuentes de variación genética. Variabilidad individual y grupal. Especiación. Genes parálogos, ortólogos y xenólogos. Homología vs. Similitud de secuencia. Razas geográficas y microgeográficas. Teoría Sintética de la Evolución.

Tema 6. Filogenia molecular. Definición. Métodos de estimación de filogenias. Unidades taxonómicas operacionales (OTUs). Métodos de estimación de robustez. Calibración de relojes moleculares. Identificación molecular y el código de barras genético. Taxonomía y sistemática molecular y cambios en nuestra visión del árbol de la vida y sus componentes. Etapas del análisis cladístico y construcción de cladogramas.

UNIDAD III. Aplicación de herramientas moleculares en la ecología.

Tema 7. Marcadores moleculares. Definición. Marcadores morfológicos. Tipos de marcadores moleculares. Isoenzimas/aloenzimas. Electroforesis bidimensional (2D). Polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP). Amplificación aleatoria del ADN polimórfico (RAPDs), Microsatélites (Secuencias simples repetidas SSR), Minisatélites o número variable de repeticiones en tándem (VNTRs). Polimorfismo de nucleótido simple (SNPs). Polimorfismo en la longitud de los fragmentos amplificados (AFLP). Sexaje molecular.



Tema 8. Filogeografía. Definición. El ADN mitocondrial en estudios filogeográficos. Filogeografía de plantas y animales. Filogeografía comparada. Ejemplos.

UNIDAD IV. Ecología molecular de los microorganismos.

Tema 9. Ecología molecular en comunidades microbianas. Recombinación en procariontes. Mecanismos de transferencia horizontal de genes en bacterias (THG). Clonalidad. Definición de especie en bacterias.

Tema 10. Comunidades y diversidad microbiana. Interacciones entre microorganismos en la rizósfera. Simbiosis y patogenicidad. Evolución de genomas en microorganismos y hospedadores. Diversidad microbiana. Microorganismos cultivables y no cultivables. Genómica y Metagenómica. Electroforesis en gradiente desnaturante (DGGE). Electroforesis de campo pulsado. Hibridación fluorescente *in situ* (FISH).

Tema 11. Bases moleculares del Quorum Sensing. Formación de Biopelículas. Biocontrol. Ecología de enfermedades infecciosas.

Parte II: Prácticas de Laboratorio

Se propone el estudio de la aplicación de una de las herramientas más útiles para el análisis de variabilidad genética en poblaciones de organismos eucariotas diploides: los microsatélites. Dependiendo de la disponibilidad de recursos y del número de estudiantes se planificarán dos sesiones de 3 horas c/u por semana, o alternativamente, una de dos y otra de cuatro por semana.

Práctica 1: Dos salidas de campo para la recolecta de muestras apropiadas para la extracción de ADN y análisis de SSR (dos sesiones).

Práctica 3: Extracción de ADN genómico de las muestras colectadas (dos sesiones)

Práctica 4: Análisis de la calidad y cuantificación del ADN extraído por técnicas electroforéticas y espectrofotométricas (dos sesiones).

Práctica 5: Ensayo de amplificabilidad del ADN extraído: amplificación del gen de la *b-actina* (una sesión).

Práctica 6: Análisis y planificación de las amplificaciones a partir del juego de primers para loci SSR (una sesión).

Práctica 7: Amplificación por PCR de loci SSR (grupo de primers 1, 2, 3 y 4). Cuatro sesiones.

Práctica 8: Electroforesis en geles de agarosa de los amplicones SSR (dos sesiones)

Práctica 9: Electroforesis en geles de agarosa de los amplicones SSR (dos sesiones)

Práctica 10: Digitalización de los geles y generación de datos de bandas asistido por software (GelBuddy). Dos sesiones.

Práctica 11: Generación de matrices para el análisis de la población de SSR (dos sesiones).

Práctica 12: Uso de software para el análisis de SSR parte I: PopGen (una sesión).

Práctica 13: Uso de software para el análisis de SSR parte I: Arlequin (dos sesiones).



Práctica 14: análisis de los grafos y datos estadísticos obtenidos.

El resto de las sesiones de laboratorio se emplearán para asistir al estudiante en la generación de un informe estilo artículo científico del análisis de variabilidad por SSR desarrollado durante el curso.

Estrategias Metodológicas

Para el dictado del curso se dispondrá del uso de recursos audiovisuales que permitan la mayor comprensión de los contenidos impartidos por el profesor. Se realizarán ejercicios y analizarán problemas reales en la naturaleza que se relacionen con los contenidos del curso además de permitir afianzar el conocimiento obtenido. Se llevarán a cabo discusiones continuas que estarán dirigidas a temas pertinentes o artículos de relevancia para el curso.

Estrategias de evaluación

El curso teórico (50% de la nota definitiva) será evaluado mediante la aplicación de tres pruebas escritas parciales que representarán el 75% de la nota final del componente. Cada parcial tendrá un valor del 25% y se realizarán seminarios que aportarán un 25% de la nota final del curso teórico. El curso práctico aportará el restante 50% evaluado por desempeño, constancia y la presentación de un informe final estilo artículo científico.

Bibliografía

- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. (2008) Molecular Biology of The Cell. 5th ed. Garland Science.
- Atlas, R., Bartha, R. (2002). Ecología microbiana y Ecología ambiental. 4ta Ed. Pearson Educación, S.A. Madrid.
- Baker, A. (Ed.). (2009) Molecular methods in ecology. John Wiley & Sons.
- Brown, T. (2008). Genomas. 3ra ed. Editorial Médica Panamericana.
- Eguiarte, L., Souza, V., Aguirre, X. (2007). Ecología Molecular. Universidad Autónoma de México.
- Griffiths, A., Wessler, S., Lewontin, R., Carroll, S. (2008) Genética. 9na ed. McGraw-Hill Interamericana.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T. (1989) Molecular cloning. New York: Cold spring harbor laboratory press.
- Smith, J. (1989) Evolutionary Genetics. 2nd ed. Oxford University Press.