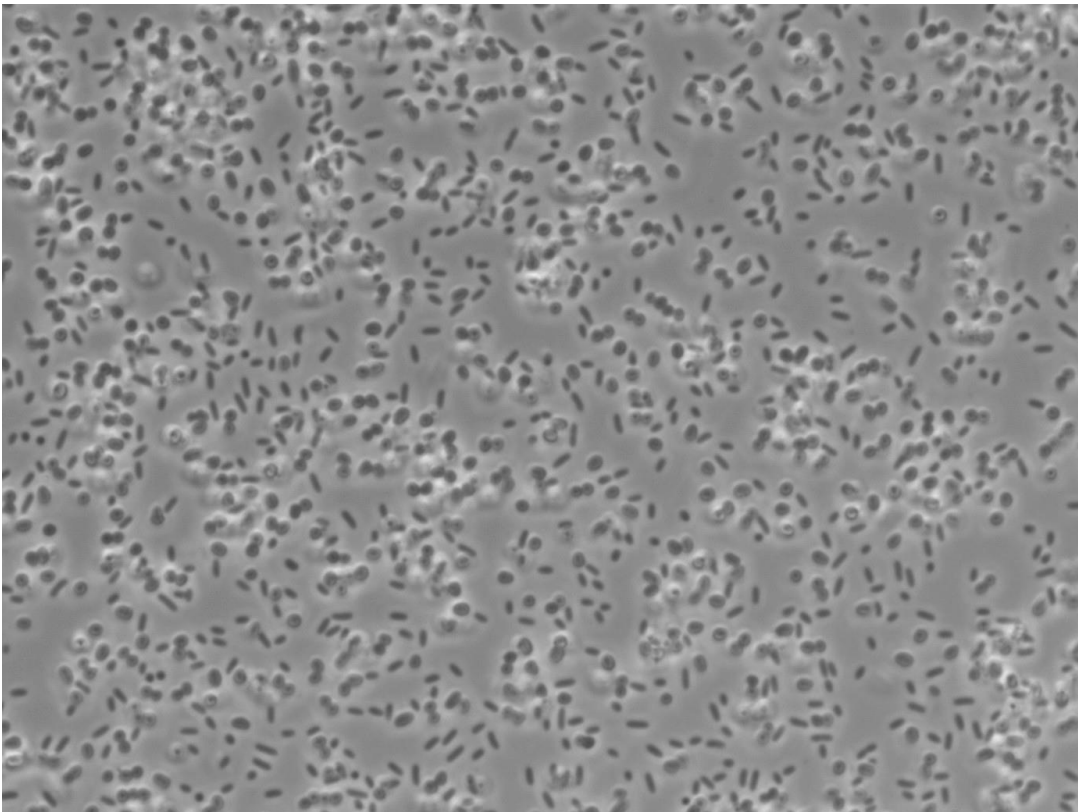


Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez

¿Quién hace qué?: ¿Cómo descubrimos qué hacen los microbios en el medio ambiente?

Señorita: hay miles de microbios diferentes en el suelo, entonces, ¿cómo sabemos quién hace qué en el medio ambiente?



Una mezcla de bacterias del medio ambiente vista bajo el microscopio con un aumento de x1000
(Cortesía de la Dra. Nasmille Larke-Mejia, Universidad de East Anglia, Reino Unido)

Colin Murrell

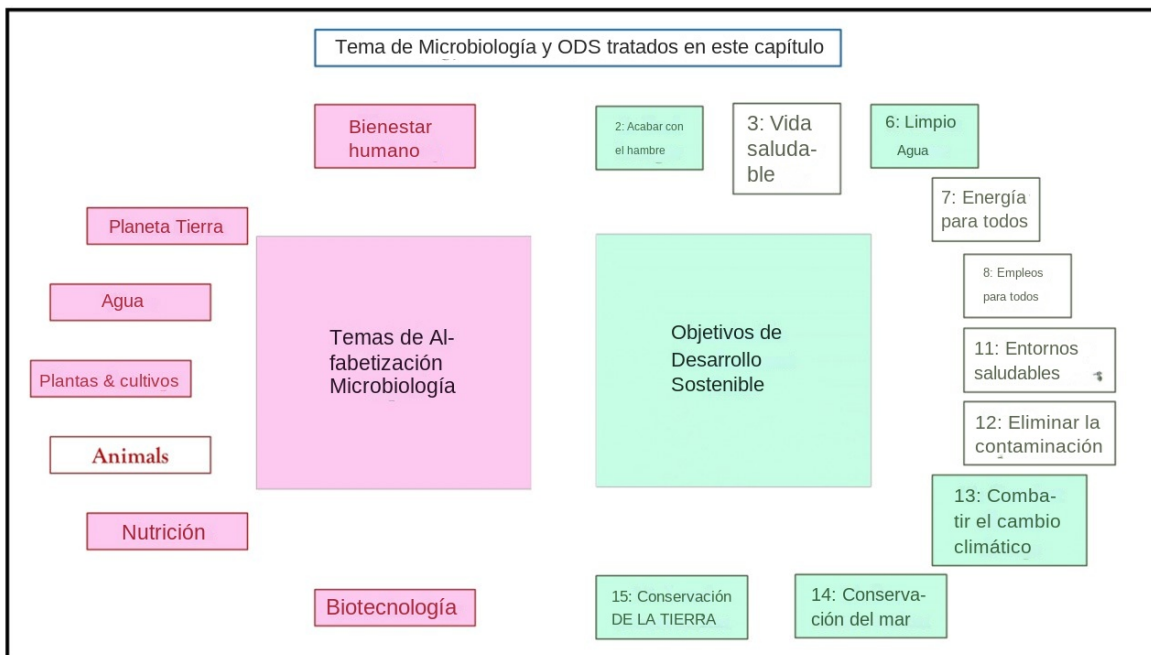
Facultad de Ciencias Ambientales, Universidad de East Anglia, Norwich, Reino Unido.

Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez

¿Quién hace qué?

Contexto

El suelo contiene miles de tipos diferentes de microbios, todos los cuales utilizan muchas sustancias diferentes. Los microbios necesitan distintos tipos de alimentos (sustratos) para crecer. Si tomamos unos gramos de tierra y lavamos los microbios y los observamos bajo el microscopio, todos se ven bastante iguales (ver la imagen de arriba), por lo que es difícil saber quién es quién y qué comen para crecer. Podemos intentar aislar y cultivar los diferentes microbios en el laboratorio y, de hecho, este enfoque ha sido muy útil para los microbiólogos durante los últimos 150 años. Una vez que los tenemos creciendo en el laboratorio, podemos ofrecerles diferentes tipos de alimentos para ver qué prefieren y averiguar cómo crecen estudiando su metabolismo. Y también podemos observar su ADN, el material genético que compone su genoma (cromosomas), y averiguar qué genes contienen. Esto nos dará pistas sobre qué son, qué comen y tal vez incluso cuál puede ser su papel (función) en el medio ambiente. Sin embargo, muchos microbios no se pueden cultivar en el laboratorio en la actualidad, porque aún no hemos encontrado el alimento o las condiciones que necesitan. Por ello, los microbiólogos que estudian la ecología de los microbios en sus hábitats naturales han desarrollado toda una serie de nuevas técnicas –un “kit de herramientas”– que proporciona información sobre las moléculas clave de la célula, con el fin de averiguar qué microbios viven en el entorno estudiado y en qué crecen. Quizá te preguntes: ¿por qué queremos saber esto? De hecho, los microbios son increíblemente importantes para impulsar todos los ciclos de nutrientes en nuestro planeta y, al comprender su función, podemos ayudar a preservar la salud de la Tierra.



La microbiología y el contexto social

Los microbios de nuestra biosfera son vitales para la salud de nuestra Tierra. Realizan importantes contribuciones a todos los ciclos de nutrientes en la tierra y en los océanos y desempeñan papeles clave en las redes alimentarias, la agricultura, el tratamiento de desechos, la purificación del agua y la salud humana. También se pueden utilizar para fabricar productos químicos industriales, alimentos y antibióticos útiles. De los millones de diferentes En el caso de los microbios en el medio ambiente, los microbiólogos sólo han “capturado” una fracción y los han cultivado y estudiado en el laboratorio. En los últimos 20 años, un importante objetivo de muchos microbiólogos ha sido el campo de la ecología microbiana, para averiguar dónde se encuentran los diferentes microbios en el medio ambiente, cómo

Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez

crecen y cómo contribuyen al funcionamiento de la biosfera de la Tierra. Los rápidos avances en las técnicas de secuenciación del ADN, que permiten a los científicos secuenciar los genomas completos de los organismos (desde los microbios hasta los humanos), han permitido a los microbiólogos descubrir la riqueza de la diversidad microbiana presente en el medio ambiente. Este conocimiento se puede utilizar para averiguar cuál es exactamente su función, cómo la actividad humana está afectando a su actividad y cómo, por ejemplo, el cambio climático influirá en los microbios que sustentan la vida en la Tierra.

¿Quién hace qué? – La microbiología

1. *El medio ambiente contiene miles de tipos diferentes de microbios.* Prácticamente todos los ambientes terrestres, por ejemplo, el suelo, el lodo, los lagos y los océanos, contienen miles de tipos diferentes de microorganismos, todos los cuales utilizan una multitud de tipos diferentes de alimentos (en el mundo microbiano, a estos los llamamos sustratos). Sin embargo, si se eliminan los microbios de la superficie de las partículas del suelo y se observan bajo el microscopio, la mayoría son muy similares en tamaño y forma, especialmente las bacterias (ver arriba). A los microbiólogos les gusta observar diferentes tipos de bacterias (y todos los demás tipos de microbios, pero aquí utilizaremos el ejemplo de las bacterias para ilustrar ciertos principios de la ecología microbiana) e intentar averiguar qué son y qué sustratos utilizan. Esto permite a los científicos determinar qué hacen las diferentes bacterias en el medio ambiente e investigar qué importancia tienen para la salud y el bienestar del planeta, porque desempeñan papeles críticos en el ciclo de nutrientes y son una parte importante de la cadena alimentaria de la Tierra.

Hay dos formas principales en las que los microbiólogos investigan las bacterias. En primer lugar, pueden tomar una muestra del entorno (utilicemos el suelo como ejemplo), mezclar una pequeña cantidad de este suelo con un medio de crecimiento líquido que contenga todas las fuentes de nutrientes necesarias para el crecimiento y una fuente de carbono específica que permitirá el crecimiento de tipos específicos de bacterias, como un azúcar como la glucosa. Luego diluyen esta solución muchas veces y la extienden sobre placas de Petri que contienen el mismo medio solidificado con agar. El objetivo de este ejercicio es aislar/purificar bacterias individuales diluyéndolas de modo que las células individuales se separen unas de otras en la superficie del agar y puedan multiplicarse y formar colonias "puras" que no se toquen entre sí y se mezclen a medida que crecen. Por ejemplo, nuestra solución inicial puede contener 10 millones de células por mililitro, o 1 millón en 0,1 ml, que es lo que podríamos esparcir en la placa. Una placa con 100 colonias está bien, ¡así que necesitamos diluir la solución inicial 10 000 veces! Cuando incubamos la placa de Petri, las células individuales crecen y se multiplican, una célula se convierte en 2, 2 células se convierten en 4, y así sucesivamente. Después de incubar estas placas de Petri durante uno o varios días, cada célula puede haber producido 1 millón de células o más, que se pueden ver a simple vista como una colonia en la superficie de agar. Las colonias de diferentes bacterias se pueden propagar individualmente en nuevas placas de Petri, y los cultivos puros se pueden examinar en detalle para estudiar su metabolismo (qué comen y cómo lo hacen). Además, el ADN de estas bacterias se puede extraer y secuenciar para proporcionar información sobre los genes de estos microbios. Estos genes proporcionan información importante sobre las posibles funciones metabólicas, así como también permiten determinar la identidad de los organismos (su taxonomía) y su relación con otros microbios (su filogenia).

Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez

2. ***No todas las bacterias pueden cultivarse en el laboratorio.*** Muchas bacterias en el medio ambiente. Actualmente, son imposibles o muy difíciles de cultivar en el laboratorio, por lo que los microbiólogos han ideado nuevas formas de estudiarlas. Tomando nuestro ejemplo del suelo, se pueden tomar unos pocos gramos de tierra de regreso al laboratorio, el ADN que contiene los genomas de todas las bacterias presentes en el suelo se puede liberar rompiendo suavemente las bacterias con productos químicos. Luego, este ADN se puede purificar, también con productos químicos, y analizar. La gran dificultad en esta etapa es que hay millones de genes de diferentes bacterias que necesitan ser clasificados. Afortunadamente, existen algunos trucos (ahora métodos rutinarios para los ecólogos microbianos) que se pueden utilizar para buscar ciertos genes que permiten a los microbiólogos averiguar qué bacterias están en esta muestra de suelo en particular. Cuando se aísla el ADN bacteriano de una comunidad de bacterias del suelo en el laboratorio, se puede utilizar una técnica conocida como reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para capturar secuencias genéticas específicas. El gen que los microbiólogos estudian para determinar qué bacterias están en una muestra ambiental se llama gen 16S rRNA. Cada bacteria tiene al menos uno de estos genes y sus secuencias difieren de una bacteria a otra: los ecólogos microbianos los utilizan un poco como un código de barras. Curiosamente, las diferencias en la secuencia del ARNr 16S aumentan a medida que las bacterias divergen unas de otras en el tiempo evolutivo, por lo que los códigos de barras también sirven como relojes moleculares. Cuando estos códigos de barras se recuperan del ADN de esta comunidad microbiana, se pueden comparar con los códigos de barras de las miles de bacterias que se han cultivado y caracterizado en el laboratorio durante muchos años para ver cuán similares son a las conocidas. De las miles de bacterias diferentes presentes en esa muestra de suelo (a menudo denominada microbioma), algunas serán similares a las que los microbiólogos han cultivado en el laboratorio antes, pero muchas otras serán completamente nuevas.

3. ***Los genes que tienen las bacterias en sus genomas nos dicen cuál podría ser su función.*** Al estudiar el crecimiento y los sustratos de las bacterias en el laboratorio y determinar qué genes y, a su vez, qué enzimas y vías metabólicas utilizan para crecer en estos diversos sustratos específicos, podemos hacer predicciones sobre la función de estos microbios en el medio ambiente. Si utilizamos un ejemplo aquí: hay bacterias en el medio ambiente que pueden crecer en metano, un gas de efecto invernadero muy potente. Estas bacterias se llaman metanótrofas y se pueden encontrar en cualquier lugar donde se produzca metano, por ejemplo, en el suelo y el barro cerca de estanques estancados, en el suelo de los arrozales donde se cultiva arroz y en el suelo sobre un vertedero donde se libera metano a partir de la degradación de residuos orgánicos. El estudio del metabolismo de estas bacterias en el laboratorio ha permitido la identificación de genes específicos del metano que están presentes en los genomas de todos estos metanótrofos. Uno de estos genes específicos del metano se utiliza como marcador genético funcional, nuevamente una especie de código de barras especializado que solo estos tipos de bacterias tienen en su ADN. De este modo, si tenemos ADN aislado de muestras de suelo, podemos amplificar y secuenciar mediante PCR estos genes de metano y compararlos con genes de metano conocidos previamente (almacenados en una base de datos de genes de metano) que se han obtenido de cultivos de metanótrofos en el laboratorio. De esta forma, podemos encontrar nuevos metanótrofos, que se alimentan del gas climático metano antes de que se escape a la atmósfera.

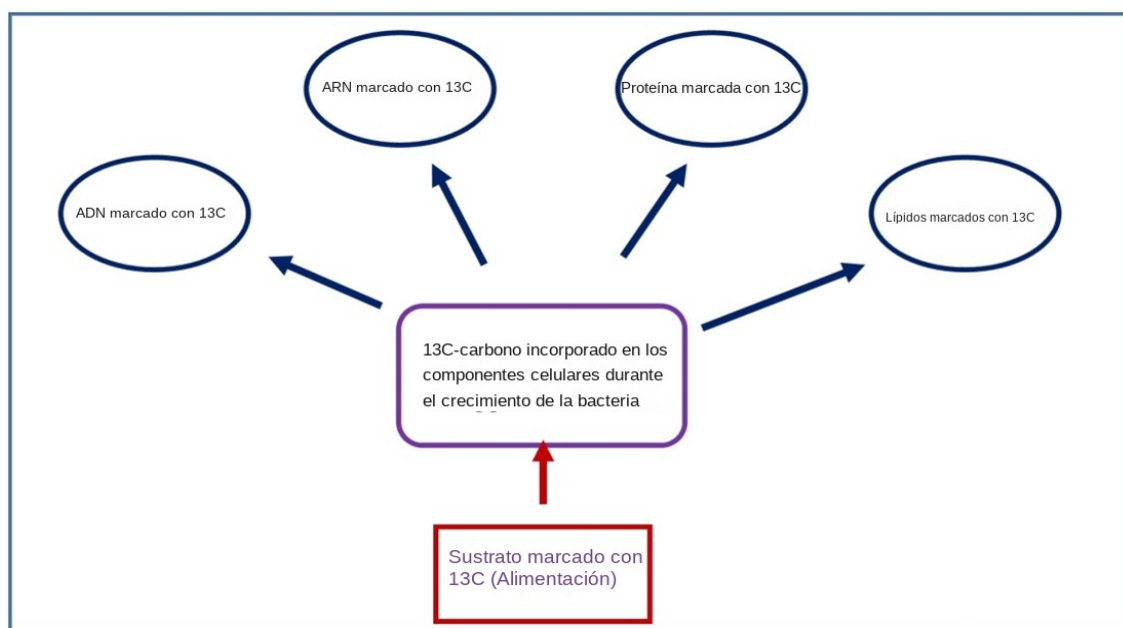
4. ***¡Eres lo que comes!*** Mediante la extracción de ADN de muestras ambientales y su secuenciación. Con ciertos genes podemos hacernos una buena idea de las diferentes bacterias presentes y observar ciertas

Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez

funciones clave. Sin embargo, esto no siempre nos dice “quién está activo y quién está haciendo qué”. Una forma de determinar qué bacterias están degradando activamente sustratos específicos en una muestra ambiental es alimentarlas con un sustrato “etiquetado” y seguir a dónde va la etiqueta y qué le sucede después.

Los elementos se definen por el número de protones en el átomo. Por ejemplo, el carbono, C, tiene 6 protones y normalmente 6 neutrones, lo que da una masa atómica de 12 (<https://www.youtube.com/watch?v=wMx1186XFLU>). Sin embargo, también puede tener 7 u 8 neutrones, lo que da masas atómicas de 13 y 14, respectivamente, lo que colectivamente hace que ^{12}C , ^{13}C y ^{14}C sean isótopos de carbono. Porque ^{13}C es más pesado que ^{12}C , y ^{14}C es radiactivo, estos isótopos se pueden distinguir de ^{12}C , y por lo tanto pueden usarse en biología como etiquetas para investigar procesos bioquímicos, por ejemplo, rastrear el destino de un sustrato particular a través de una red metabólica o un consorcio microbiano. ^{14}C es un isótopo inestable, por lo que es radiactivo, mientras que ^{13}C es un isótopo estable, por lo que no es radiactivo, lo que facilita su uso. Los sustratos marcados con isótopos son producidos por empresas especializadas para su uso por ecólogos microbianos (y otros).

Cualquier sustrato de carbono (alimento) para bacterias que esté etiquetado con ^{13}C lo conseguirá incorporado en todos sus componentes celulares, incluyendo ADN, ARN, proteínas y lípidos (ver Figura 2) porque todos ellos contienen carbono. Esto hace que estos componentes sean más pesados (marcados isotópicamente) en las bacterias que han comido el sustrato ofrecido, y permite a los científicos distinguirlos de los componentes celulares en otras bacterias que no han sido marcados con C.

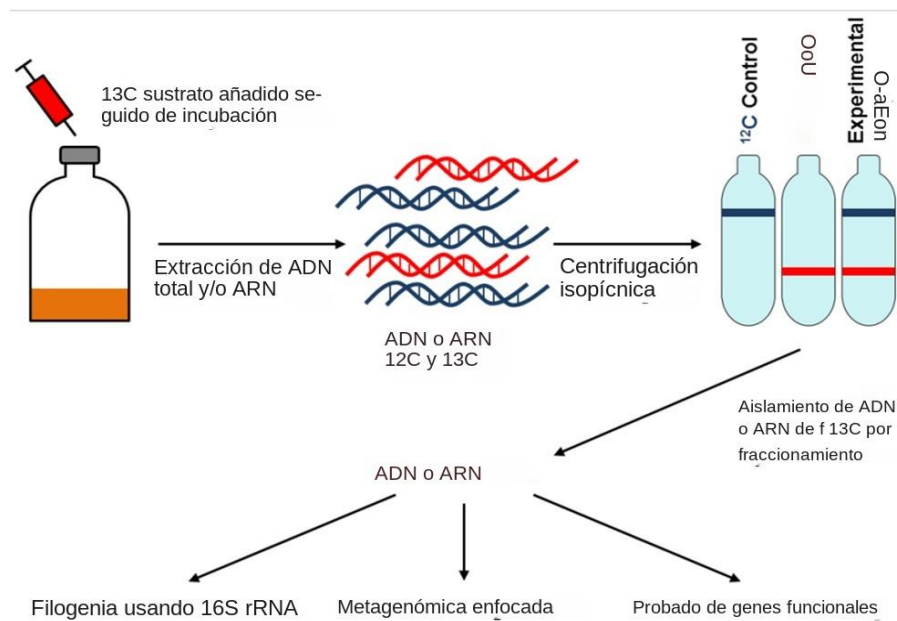


Incorporación de Sustrato marcado con ^{13}C en una célula bacteriana y componentes celulares que posteriormente se etiquetan.

5. Las células bacterianas en el suelo se pueden etiquetar con Sustratos ^{13}C . Si tomamos como ejemplo las bacterias que se alimentan de metano (metanótrofas), estas bacterias estarán en unos pocos gramos de tierra junto con miles de otros tipos de bacterias que no pueden usar metano. (i) Cuando se incuban unos pocos gramos de tierra en un matraz sellado junto con aire y unos pocos mililitros de ^{13}C gas metano marcado con cianoacrilato, entonces solo los metanótrofos presentes en el suelo crecerán en el metano e incorporarán el ^{13}C en sus componentes celulares (ADN, ARN, proteínas, lípidos) que

Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez

se vuelven más pesados. Ninguna de las otras miles de bacterias incorporará ^{13}C en la célula y por lo tanto permanecerá “liviano” (= normal). (ii) La tarea ahora es aislar los componentes celulares marcados con ^{13}C de los metanótrofos. En el caso del ADN, podemos utilizar un truco técnico llamado centrifugación en gradiente de densidad isopícnica. El ADN total (que contiene ^{13}C ADN marcado con ^{13}C de metanótrofos junto con el más ligero ^{12}C ADN-C de miles de otras bacterias se puede purificar del suelo utilizando diferentes productos químicos para obtener ADN de la comunidad total de bacterias en ese suelo. (iii) El ADN se carga luego en un tubo que contiene una solución concentrada del metal pesado cesio (de hecho, la sal cloruro de cesio) y se centrifuga muy rápido durante 48 horas. Esto crea una enorme fuerza gravitacional en el tubo que obliga al cesio a girar hacia el fondo del tubo, creando así un gradiente de densidad estable. Durante la centrifugación, todas las moléculas de ADN migran a las posiciones en el tubo correspondientes a sus densidades específicas, con las moléculas pesadas de ^{13}C ADN-C se separa de la luz el ^{12}C ADN (ver la figura siguiente). ^{13}C ADN, que proviene exclusivamente de metanótrofos porque son las únicas bacterias que pueden crecer en metano e incorporar el ^{13}C El carbono ^{13}C en sus materiales celulares se puede extraer luego del tubo de centrifuga con una aguja y una jeringa para separarlo del ^{12}C ADN-C que proviene de todas las demás bacterias no metaníferas inactivas. El ADN purificado ^{13}C El ADN-C puede entonces analizarse mediante amplificación por PCR y secuenciación de sus genes 16S rARN, lo que permite identificar a los metanótrofos (quiénes), así como los genes funcionales implicados (qué). Esta técnica se conoce como sondeo de isótopos estables de ADN (DNA-Stable Isotope Probing, SIP) y se resume a continuación.



Sondeo de isótopos estables de ADN. Las bandas azules y rojas en los tubos representan los isótopos más pesados y no marcados.

ADN marcado con ^{13}C , respectivamente

6. Variaciones sobre un tema. Otros componentes de las células bacterianas que han sido marcados con ^{13}C El carbono ^{13}C , como el ARN, las proteínas y los lípidos, también se puede analizar para revelar qué bacterias están activas en el entorno. En el caso del ARN, se utiliza un tipo diferente de solución en el

Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez

método de separación por centrifugación en gradiente de densidad que se muestra arriba y la técnica se conoce como RNA-SIP.¹³ Las proteínas y los lípidos marcados con C también se pueden examinar utilizando técnicas de espectrometría de masas para identificar proteínas y lípidos marcados. La técnica Protein-SIP es particularmente poderosa para observar las enzimas clave de las bacterias objetivo, pero requiere una gran potencia de procesamiento, análisis exhaustivos y bases de datos muy grandes para identificar las proteínas marcadoras clave entre los millones de proteínas presentes en el suelo.

Los ejemplos dados anteriormente utilizaron metano marcado con ¹³C, pero prácticamente cualquier sustrato para el que se disponga de un compuesto totalmente marcado isotópicamente, como azúcares, moléculas orgánicas complejas como el almidón o la celulosa, y contaminantes como los hidrocarburos aromáticos poli cíclicos y los disolventes clorados, podrían utilizarse en experimentos SIP. Utilizando instrumentos científicos más sofisticados, incluso es posible visualizar células individuales que hayan sido marcadas con compuestos ¹³C-. Por ejemplo, se puede utilizar un espectrofotómetro Raman conectado a un microscopio para detectar componentes celulares que se han incorporado átomos ¹³C. La espectrometría de masas con imágenes multi isótopos (nano-SIMS) es otra forma muy sensible de averiguar si una célula bacteriana ha captado y utilizado un isótopo en particular, no solo carbono, sino también, por ejemplo, nitrógeno, oxígeno o átomos metálicos. Los sustratos alimentarios marcados con isótopos radiactivos también se pueden utilizar para marcar bacterias en muestras ambientales. Por ejemplo, dosis bajas de compuestos marcados con ¹⁴C que se incorporan a las células individuales se pueden visualizar con un microscopio. La radiactividad de las bacterias que captan la etiqueta ¹⁴C se detecta fijándolas en un portaobjetos de microscopio y exponiéndolas a una emulsión que hace que se formen granos de plata adyacentes a las células radiactivas (autorradiografía). Esta zona ennegrecida se puede ver entonces bajo el microscopio. El método se denomina microautorradiografía (MAR). Si el mismo portaobjetos se analiza mediante una técnica conocida como hibridación in situ con fluorescencia (FISH), que consiste en marcar las mismas células con una sonda de ARNr 16S (véase la sección 2), permite determinar al mismo tiempo la identidad taxonómica de la bacteria activa. Esta técnica combinada se conoce como MAR-FISH y, aunque técnicamente es bastante difícil, proporciona una forma eficaz de determinar qué están haciendo los distintos microbios del entorno.

Relevancia para los Objetivos de Desarrollo Sostenible y los Grandes Desafíos

- **Objetivo 2. Poner fin al hambre, lograr la seguridad alimentaria y la mejora de la nutrición y promover la agricultura sostenible.** Identifica qué microbios son abundantes y desempeñan un papel clave en la promoción de la nutrición y la salud de las plantas es vital si queremos mejorar la productividad del suelo. La forma en que los microbios del suelo responden a los cambios en las prácticas agrícolas, como la reducción de la fertilización con nitrógeno y la gestión de la tierra, también es clave para la agricultura sostenible.
- **Objetivo 6. Garantizar la disponibilidad de agua y su gestión sostenible y el saneamiento.** Los microbios desempeñan un papel fundamental en las plantas de tratamiento de aguas residuales. Por ejemplo, es importante saber qué microbios son responsables de la limpieza de contaminantes y la eliminación de compuestos de nitrógeno, y cómo cambian las comunidades microbianas en respuesta a las perturbaciones. La gestión de los recursos hídricos mediante microbios desempeña un papel vital en la mejora de la calidad del agua.
- **Objetivo 13. Adoptar medidas urgentes para combatir el cambio climático y sus efectos.** Los microbios son actores clave en todos los ciclos biogeoquímicos de la Tierra y es importante que

Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez

sepamos quiénes son, dónde se encuentran en el medio ambiente y cómo afectan la producción y el consumo de gases que afectan el clima, como el metano, el dióxido de carbono, el sulfuro de dimetilo, el isopreno y el óxido nitroso. La abundancia y la actividad de los microbios clave que participan en el ciclo del carbono, el nitrógeno y el azufre en el medio ambiente, y cómo responden a los cambios ambientales provocados por el hombre, son esenciales si queremos ofrecer soluciones al calentamiento global y la calidad del aire en nuestra biosfera.

- **Objetivo 14. Conservar y utilizar sosteniblemente los océanos, los mares y los recursos marinos para el desarrollo sostenible.** Los ciclos de nutrientes en los océanos del mundo dependen de la actividad de los microbios, y un conocimiento sólido de quiénes son los principales protagonistas de estos ciclos, en particular el ciclo del carbono, que determina la productividad primaria de los océanos, permite una mejor comprensión de cómo gestionar los recursos marinos. La respuesta de los microbios en los océanos a los efectos del cambio climático, como la acidificación de los océanos, también requiere un conocimiento sólido de los cambios en la distribución, la diversidad y la actividad de los microbios marinos.
- **Objetivo 15. Proteger, restablecer y promover el uso sostenible de los ecosistemas terrestres, gestionar sosteniblemente los bosques, combatir la desertificación, detener e invertir la degradación de las tierras y detener la pérdida de biodiversidad.** Se podría decir que la diversidad microbiana en el entorno terrestre es más importante que la diversidad de animales y plantas. La “mayoría invisible” de la Tierra, es decir, los microbios, desempeñan papeles vitales en los servicios ecosistémicos y en los cambios en el uso de la tierra, la pérdida de bosques, la desertificación y la degradación del suelo, todo lo cual afecta a la diversidad y la actividad de los microbios. Una comprensión detallada del mecanismo de la función de los microbios en un paisaje cambiante es esencial para poder predecir los efectos de un entorno terrestre cambiante. A menudo nos centramos en la pérdida de macro biodiversidad, pero los microbiólogos argumentan que no debemos perder la diversidad microbiana. Si no estudiamos la ecología microbiana, ¿cómo sabremos si esto ya está sucediendo?

Participación de los alumnos

1. *Discusión en clase*

- a. ¿Qué es un microbioma?
- b. ¿Cuántos microbiomas diferentes puedes imaginar?
- c. ¿Qué microbios podrías encontrar allí?
- d) ¿En qué podrían crecer?
- e. ¿Existe algún entorno en la Tierra en el que no se encuentren microbios?

2. *Concienciación de los alumnos como partes interesadas*

¿Cómo afectan los microbios a tu vida cotidiana? Algunos consejos y subtemas incluyen la producción de alimentos y la agricultura, los alimentos elaborados con microbios, la salud y las enfermedades humanas, la defensa contra las enfermedades, los antibióticos, los probióticos y el cambio climático.

3. *Experimentos en clase*

- a. Reúne códigos de barras de distintos alimentos y clasifícalos como si fueran genes marcadores de diferentes bacterias. ¿Puedes agruparlos en patrones similares?
- b. Cada grupo elige un entorno diferente y piensa qué diferentes grupos de microbios podrían estar

Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez

- presentes, qué podrían comer y cuántos de cada uno podría haber.
- c. Piensa en algunos entornos de la Tierra en los que sólo los microbios podrían sobrevivir y sugiere en qué podrían crecer (pistas: fuentes termales, lodazales volcánicos, lagos de soda alcalina).
 - d. ¿Podría haber vida microbiana en Marte? ¿Qué necesitarían los microbios para crecer allí?
 - e. El juego de nombres: piensa en una bacteria imaginaria, sugiere dónde vive, qué come y luego inventa un nombre para ella basado en su hábitat y su comida.
 - f. Piense en algunos entornos contaminados y descubra si los microbios pueden ayudar a limpiar estos entornos.

La base de evidencia, lecturas adicionales y ayudas didácticas

- Antwis, RE et al (2017) 50 preguntas de investigación importantes en ecología microbiana. *FEMS Microbiology Ecology*, 93, fix044
- Cavicchioli, R et al. (2019) Advertencia de los científicos a la humanidad: microorganismos y cambio climático. *Nature Reviews Microbiology*, 17, 569-585.
- Dixon, B (1998) Poder invisible: cómo los microbios gobiernan el mundo. Oxford University Press. ISBN13: 9780716745501.
- Dumont, MG y Murrell, JC (2005) Sondeo de isótopos estables: vinculación de la identidad microbiana con la función. *Nature Microbiology Reviews*, 3, 232-238.
- Neufeld, JD Wagner, M. y Murrell, JC (2007) ¿Quién come qué, dónde y cuándo? Los experimentos de etiquetado isotópico están llegando a su madurez. *The ISME Journal*, 1, 103-110.
- Neufeld, JD y Murrell (2007) Testigos de la última cena de células no cultivadas con Raman-FISH. *The ISME Journal*, 1, 269-270.
- Whitman, WB, Coleman, DC y Wiebe, WJ (1998) Procariotas: la mayoría invisible. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95, 6578-6583.

Glosario

- Biosfera: las regiones de la Tierra que contienen todos los organismos vivos.
- Hibridación fluorescente in situ (FISH): técnica utilizada para visualizar células tiñéndolas con un tinte fluorescente específico unido a una sonda de ácido nucleico.
- Centrifugación en gradiente isopícnico: separación de sustancias según su densidad de flotación, generalmente en un gradiente de sal o azúcar generado por centrifugación.
- Metagenómica: el estudio del material genético recuperado directamente de muestras ambientales
- Metanótrofo: una bacteria que crece en metano
- Microbioma: una comunidad microbiana característica que ocupa un hábitat razonablemente bien definido y que tiene propiedades fisicoquímicas distintivas.
- Nano-SIMS: La espectrometría de masas de iones secundarios a nanoescala es un método utilizado para visualizar la composición elemental e isotópica de las células.
- Filogenia: una forma sistemática de observar la historia evolutiva y las relaciones entre los organismos.
- Reacción en cadena de la polimerasa (PCR): técnica de biología molecular para producir rápidamente millones de copias de pequeñas cantidades de una molécula de ADN específica, amplificándola para producir cantidades lo suficientemente grandes como para estudiarlas en detalle.
- Microespectroscopia Raman: técnica espectroscópica que analiza la vibración de las moléculas y

Un marco educativo en microbiología centrado en la niñez

proporciona una huella estructural de los componentes de las células. Se basa en la interacción de la luz con los enlaces químicos del material celular.

Sondeo de isótopos estables (SIP): un método de ecología microbiana para identificar grupos funcionales específicos de microorganismos que incorporan carbono marcado con isótopos estables (^{13}C) o fuentes de nitrógeno (^{15}N) se asimilan a la biomasa microbiana de muestras ambientales, revelando información filogenética y funcional sobre los microorganismos responsables del metabolismo de un sustrato particular.

Taxonomía: estudio de la denominación, definición y clasificación de grupos de organismos biológicos.

Gen marcador taxonómico: gen conservado que se utiliza para clasificar organismos; por ejemplo, el gen del ARN ribosómico 16S se utiliza ampliamente en la clasificación de bacterias.