



CURSO DE POSGRADO

eDNA y metabarcoding: herramientas para el procesamiento y análisis de datos de secuenciación masiva

Profesores dictantes

Responsables:

- Dra. Paula Huber. Laboratorio de Plancton, INALI (CONICET-UNL), Santa Fe.
- Dra. Melina Devercelli. Laboratorio de Plancton, INALI (CONICET-UNL), Santa Fe.
- Lic. Sebastián Metz. Laboratorio de Ecología y Fotobiología Acuática, IIB-INTECH, Chascomús.

Colaboradores:

- Ing. Alejandro Dabin, CIMEC (CONICET-UNL)
- Ing. Facundo Lezcano, CIMEC (CONICET-UNL).

Duración: 45 horas

45 horas totales distribuidas en:

- Clases teóricas: 20 horas
- Actividades prácticas: 25 horas

Duración: 1 semana con dedicación exclusiva.

Créditos académicos: 3 créditos

Destinatarios

Alumnos/as de grado y postgrado y profesionales de Biología, Biotecnología, Medicina, Bioquímicas, Química o carreras afines.

Número máximo de alumnos/as: 15

Fundamentación

El ADN ambiental (eDNA) junto con la técnica de metabarcoding representan herramientas poderosas para investigar la complejidad de sistemas naturales y estudiar su biodiversidad. Este enfoque novedoso combina dos tecnologías: la



identificación de especies basada en ADN ambiental y la secuenciación masiva (HTS). El enorme caudal de información que se genera requiere la aplicación de complejas herramientas computacionales que se van actualizando permanentemente, y de análisis de datos que abren nuevas perspectivas de interpretación.

OBJETIVOS

El objetivo de este curso es proporcionar a los participantes los conceptos y habilidades básicos para el uso, manejo y análisis primario de datos obtenidos a partir del empleo de técnicas de eDNA y metabarcoding aplicados en sistemas naturales.

PROPÓSITOS

El curso consistirá en bloques teóricos y prácticos donde se presentarán los principales conceptos sobre las técnicas de metabarcoding y eDNA y las herramientas necesarias para el uso, manejo y análisis de los datos obtenidos a partir de ellas. Iniciaremos con una introducción sobre las necesidades computacionales requeridas para el análisis de estos datos y la tecnología empleada para ello. Continuaremos con un módulo de uso y manejo de sistemas operativos basados en GNU-Linux donde revisaremos los comandos básicos para manejo y manipulación de archivos mediante línea de comandos. Por otro lado, se presentarán cuestiones fundamentales sobre las aplicaciones, ventajas, desventajas, eficiencia y costos del empleo de estas herramientas para el estudio de sistemas naturales. Finalmente se presentarán las principales técnicas estadísticas para los análisis a posteriori de los resultados obtenidos.



CONTENIDOS

Clases teóricas:

- 1.- Introducción a la técnica de secuenciación masiva
- 2.- Fundamentos sobre la técnica de metabarcoding.
- 3.- ¿Qué es el eDNA? Utilidad de eDNA para el estudio de la diversidad en sistemas naturales.
- 4.- Métodos y estrategias de muestreo. Almacenamiento de muestras, transporte y procesamiento.
- 5.- Análisis de muestras: extracción de ADN. Elección de *primers*. Estrategias para el estudio de poblaciones vs comunidades. Secuenciación mediante MiSeq Illumina.
- 6.- Herramientas básicas para análisis a posteriori: Curvas de rarefacción. Estandarización de muestras. Índices de riqueza, diversidad y equitatividad. Transformaciones. Modelos estadísticos.

Clases prácticas

- 1.- ¿Qué son y cómo funcionan los bioclusters?
- 2.- Introducción a Linux. Comandos básicos para el manejo de archivos y procesos.
- 3.- Análisis de datos de metabarcoding (obtenidos por MiSeq Illumina):
 - (i) Control de calidad.
 - (ii) Ensamblado de las secuencias *forward* y *reverse*.
 - (iii) Derreplicación.
 - (iv) definición de unidades operacionales
 - (v) detección y eliminación de quimeras.
 - (vi) asignación taxonómica.
- 4.- Análisis estadísticos a posteriori utilizando R.



BIBLIOGRAFÍA

- Aylagas et al. 2016. Benchmarking DNA metabarcoding for biodiversity-based monitoring and assessment. *Front. Mar. Sci.* 3:96.
- Ji, Y. et al. 2013. Reliable, verifiable and efficient monitoring of biodiversity via metabarcoding. *Ecol. Lett.* 16, 1245–1257.
- Logares R., Sunagawa S., Salazar G., Cornejo-Castillo F.M., Ferrera I., Sarmiento H. et al. Acinas S.G. 2013. Metagenomic 16S rDNA Illumina tags are a powerful alternative to amplicon sequencing to explore diversity and structure of microbial communities. *Environmental Microbiology*. doi: 10.1111/1462-2920.12250
- Loman, N. J., R. V. Misra, T. J. Dallman, C. Constantinidou, S. E. Gharbia, et al. 2012. Performance comparison of benchtop high-throughput sequencing platforms. *Nat. Biotechnol.* 30(5):434-439.
- Pawlowski et al. 2018. The future of biotic indices in the ecogenomic era: Integrating (e)DNA metabarcoding in biological assessment of aquatic ecosystems. *Science of the Total Environment* 637–638.
- Peek, J., Strang, J., Todino, G. 2014. *Learning the Unix Operating System*, 5th Edition. O'Reilly Media (eds.). Massachusetts, EE.UU. 176 pp.
- Ruppert KM, Kline RJ, Rahman MS. 2019. Past, present, and future perspectives of environmental DNA (eDNA) metabarcoding: A systematic review in methods, monitoring, and applications of global eDNA. *Glob Ecol Conserv.*
<https://doi.org/10.1016/j.gecco.2019.e00547>
- Valentini A. et al. 2016. Next generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. *Mol. Ecol.* 25:929–942.
<https://doi.org/10.1111/mec.13428>

REQUISITOS PARA LA APROBACIÓN DEL CURSO

Presentación de poster o diapositiva en donde los/las alumnos/as muestren un proyecto de investigación propio en desarrollo o que quieran desarrollar, y cómo la temática del curso podría contribuir al mismo.