

Temario

Actividad (especificar Curso/Taller/Diplomado, etc.): Curso

Tipo de Actividad (Complementaria, Externa): Externa

Nombre de la Actividad: Metabarcoding de comunidades de eucariontes

Modalidad (especificar Presencial, A distancia, Mixto): Mixto

Total de Horas (especificar Teóricas, Prácticas y Totales): 40

Fecha: 23 al 27 de marzo del 2026

Nivel (especificar - pueden ser varias - Técnico, Licenciatura, Posgrado):

Licenciatura, posgrado, investigadores y técnicos

Idioma: Español

Descripción de la Actividad: El curso Metabarcoding de comunidades de eucariontes está diseñado para introducir a estudiantes de posgrado, investigadores y técnicos en el uso de herramientas moleculares y bioinformáticas para el monitoreo de la biodiversidad de organismos eucariontes mediante el análisis de el ADN ambiental y de comunidades. A lo largo de cinco días los participantes adquirirán conocimientos teóricos y habilidades prácticas para implementar proyectos de metabarcoding, desde el diseño experimental y la recolección de muestras, hasta el procesamiento bioinformático y el análisis ecológico de datos. El curso se centrará en el uso de la herramienta DADA2 para la inferencia de variantes de secuencia (ASVs), control de calidad, remoción de errores y asignación taxonómica. También se incluirán sesiones sobre detección de especies específicas mediante qPCR y ddPCR, análisis de diversidad con R (usando paquetes como phyloseq, vegan y ggplot2), así como buenas prácticas de laboratorio y control de contaminación. Se fomentará un ambiente colaborativo y participativo, con sesiones prácticas guiadas que permitirán a los asistentes aplicar lo aprendido a proyectos reales. El curso termina con la presentación de proyectos diseñados por los participantes, promoviendo la integración de los conceptos y herramientas adquiridos.

Temario

Visión: Buscamos capacitar a investigadores, estudiantes y técnicos con los conocimientos y habilidades necesarias para incorporar el metabarcoding en sus proyectos de investigación, evaluación ambiental y conservación biológica. Aspiramos a que los participantes no solo dominen los aspectos técnicos del procesamiento y análisis de datos, sino que también comprendan el potencial transformador de estas metodologías para generar conocimiento útil, reproducible y de alto impacto en la gestión de la biodiversidad. Promovemos una visión integradora, donde la ciencia molecular se pone al servicio de la ecología, la conservación y la toma de decisiones basada en evidencia.

Misión: El curso de **Metabarcoding de comunidades de eucariontes** tiene como misión capacitar a investigadores, estudiantes y técnicos en el uso de herramientas moleculares y bioinformáticas para el estudio de la biodiversidad en ambientes acuáticos. A través de una combinación de teoría y práctica, buscamos proporcionar conocimientos sólidos sobre el metabarcoding, desde la recolección y procesamiento de muestras hasta el análisis e interpretación de datos con enfoques bioinformáticos. A través de este curso, promovemos la formación de una comunidad interdisciplinaria comprometida con la aplicación de la genética y la bioinformática en la conservación y monitoreo de la biodiversidad marina, impulsando el uso de tecnologías innovadoras para la toma de decisiones informadas en investigación y gestión ambiental.

Objetivo: Capacitar a los participantes en el uso de técnicas de metabarcoding para el análisis de ADN ambiental y de comunidades, para la detección y monitoreo de especies y comunidades en ecosistemas marinos. A través de un enfoque teórico-práctico, los asistentes aprenderán a diseñar y ejecutar estudios de metabarcoding, desde la recolección de muestras y procesamiento en laboratorio, hasta el análisis bioinformático e interpretación de datos utilizando DADA2.

Este curso busca proporcionar las habilidades necesarias para:

1. Comprender los fundamentos teóricos del ADN ambiental y el metabarcoding aplicado a muestras ambientales en estudios ecológicos.
2. Aplicar buenas prácticas en la toma de muestras y manejo de ADN ambiental en laboratorio, minimizando riesgos de contaminación.
3. Implementar un pipeline bioinformático para el procesamiento y análisis de secuencias, con énfasis en control de calidad, asignación taxonómica y análisis de diversidad.

Temario

4. Interpretar resultados ecológicos y generar visualizaciones efectivas para estudios de biodiversidad.
5. Diseñar estudios de metabarcoding adaptados a distintas preguntas ecológicas y de conservación.

Al finalizar el curso, los participantes estarán preparados para integrar el metabarcoding en sus proyectos de investigación y contribuir al desarrollo de estrategias de monitoreo de biodiversidad en ecosistemas marinos.

Lugar/Sede: Presencial Sala 1 y en linea plataforma zoom

¿A quién va dirigido?: Este taller está dirigido a estudiantes de posgrado, investigadores y técnicos con conocimientos previos en biodiversidad, ecología o biología de comunidades y bioinformática, interesadas en aprender métodos genéticos para la evaluación de la biodiversidad y sus aplicaciones ecológicas.

Pre-requisitos: N/A

Horario: 9:00 – 17:00 h

Coordinación general de la Actividad (Nombre/Institución): Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C.

Instructores participantes (Nombre/Institución):

- Dra. Tania Valdivia Carrillo, Investigadora postdoctoral CIBNOR SECIHTI
- Dr. Miguel Angel Martinez Mercado, Investigador postdoctoral CIBNOR SECIHTI
- Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez, Investigador Titular B CIBNOR

Temario. *(por día, mencionando a los profesores participantes en cada sección)*

Lunes 23 de marzo del 2026

9:00 - 11:00 Tema: Presentación. Ponentes y participantes del curso

Temario

Expositora: Dra. Tania Valdivia Carrillo, Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez, Dr. Miguel A. Martínez Delgado

Objetivo de la sesión: Dar la bienvenida a los participantes e introducir el propósito general del curso, la estructura del programa, los objetivos de aprendizaje y la dinámica de trabajo. Además, se presentarán los ponentes y se facilitará una primera interacción entre los participantes para fomentar un ambiente colaborativo desde el inicio.

Subtema:

- Bienvenida oficial e introducción por parte de la coordinación general.
- Presentación del equipo docente: formación, líneas de investigación y rol dentro del curso.
- Presentación breve de los participantes (nombre, afiliación, intereses y expectativas).
- Descripción general del curso:
 - Propósito y objetivos de aprendizaje.
 - Contenidos y estructura del programa diario.
 - Herramientas que se utilizarán durante el curso (R, RStudio, DADA2, etc.).
 - Recursos disponibles y modalidad de trabajo (clases teóricas, prácticas computacionales, presentaciones, trabajo en equipo).
- Espacio para resolver dudas logísticas y técnicas.

Dinámica sugerida:

- Ronda de presentaciones con diapositivas compartidas o pizarra colaborativa.
- Encuesta rápida (puede ser en tiempo real) sobre nivel de experiencia previa en bioinformática, R, eDNA, etc.
- Revisión general del cronograma con énfasis en hitos clave como la presentación final de proyectos.

11:00 – 11:20 am Receso

11:20 - 13:00 Tema: Introducción al eDNA, metabarcoding, qPCR y ddPCR

Expositora: Dra. Tania Valdivia Carrillo

Objetivo de la sesión:

Proporcionar una visión general de los fundamentos teóricos del ADN ambiental (eDNA) y las principales metodologías asociadas para el estudio y monitoreo de la biodiversidad. Se

Temario

presentarán los principios del metabarcoding, así como las técnicas de detección dirigida de especies mediante qPCR y ddPCR, resaltando sus ventajas, limitaciones y aplicaciones en contextos ecológicos y de conservación.

Subtema:

- ¿Qué es el ADN ambiental?
 - Definición, orígenes y tipos de ADN detectado en muestras ambientales.
 - Diferencias entre ADN intracelular y extracelular.
- Aplicaciones del eDNA en ecosistemas acuáticos y marinos.
- Introducción al metabarcoding:
 - Fundamento molecular (amplificación de genes marcadores universales).
 - Ventajas frente a métodos tradicionales de monitoreo biológico.
 - Ejemplos de aplicaciones reales (inventarios, comunidades bentónicas, conectividad, etc.).
- qPCR y ddPCR en eDNA:
 - Principios básicos de cuantificación de ADN para especies objetivo.
 - Comparación entre qPCR y ddPCR (sensibilidad, precisión, costos).
 - Casos de estudio y complementariedad con metabarcoding.

Enfoque didáctico:

- Exposición con ejemplos visuales y casos reales publicados.
- Espacio para preguntas y discusión sobre cuándo es más apropiado usar cada técnica.

Materiales sugeridos:

- Gráficos comparativos entre métodos.
- Lectura breve complementaria (revisión reciente o estudio de caso).
- Diagrama de flujo general de un estudio eDNA (detección única vs metabarcoding).

13:00 – 14:00 | Comida

14:00 - 15:00 Tema: Diseño experimental. Diseño de proyectos

Expositora: Dra. Tania Valdivia Carrillo

Objetivo de la sesión:
Introducir los elementos clave para planear y diseñar proyectos de investigación basados en ADN ambiental, con énfasis en metabarcoding y detección específica de especies. Se destacará la importancia de un diseño experimental sólido para garantizar la robustez, reproducibilidad y aplicabilidad de los resultados. Que cada participante tenga claridad sobre los elementos esenciales

Temario

que debe considerar al planear un proyecto basado en eDNA, y cuente con una estructura inicial para desarrollarlo durante el taller.

Subtema:

- Principios del diseño experimental en estudios de eDNA:
 - Definición de objetivos y preguntas de investigación.
 - Selección del enfoque metodológico: metabarcoding vs qPCR/ddPCR.
 - Tipos de muestra y estrategias de muestreo según la pregunta ecológica.
- Consideraciones prácticas:
 - Número de réplicas ecológicas y técnicas.
 - Controles negativos y blancos.
 - Profundidad de secuenciación y capacidad de detección.
- Herramientas de planificación y presupuesto:
 - Elección de marcadores genéticos y primers.
 - Consideraciones sobre análisis bioinformático posterior.
- Ejemplos de esquemas de diseño para distintos escenarios (monitoreo de comunidades, detección de invasoras, comparación de hábitats, etc.).

Enfoque didáctico:

- Charla guiada con ejemplos reales.
- Preguntas orientadoras para que los participantes empiecen a definir su propio proyecto.

15:00 – 15:10 pm Receso

15:10 – 15:30 Tema: Trabajo de campo: Técnicas de muestreo para ADN ambiental

Expositora: Dra. Tania Valdivia Carrillo

Objetivo de la sesión:

Brindar una introducción a las distintas metodologías de muestreo utilizadas para recolectar ADN ambiental (eDNA) en ecosistemas marinos y costeros, destacando la importancia de la planeación del muestreo, el manejo adecuado de las muestras y las estrategias para evitar contaminación cruzada. Que los participantes comprendan las variables clave del muestreo de eDNA y cómo elegir la estrategia adecuada para sus propios proyectos, integrando criterios logísticos, ecológicos y moleculares.

Subtema:

- Tipos de muestras para eDNA: agua, sedimentos, biofilms, plancton, tejidos, entre otros.

Temario

- Métodos de recolección: muestreo manual, bombas peristálticas, jeringas, botellas Niskin.
- Volúmenes y frecuencias de muestreo según el tipo de estudio.
- Técnicas de pretratamiento: filtración en campo o laboratorio, congelamiento, preservación con tampones (etanol, CTAB, Longmire, etc.).
- Protocolos para evitar la contaminación: uso de guantes, bolsas selladas, tubos estériles, desinfección de material.
- Logística de campo en ambientes marinos: transporte, conservación, documentación.

Enfoque didáctico:

- Revisión de ejemplos visuales de distintos métodos de muestreo.
- Discusión sobre ventajas y limitaciones de cada técnica según el ambiente y el objetivo del estudio.
- Espacio para resolver dudas prácticas sobre diseño de campañas de muestreo.

15:30 – 17:00 Tema: Trabajo de laboratorio: Extracción de ADN. Primers. PCR.

Preparación de librerías de amplicones

Expositora: Dra. Tania Valdivia Carrillo

Objetivo de la sesión:

Familiarizar a los participantes con los pasos fundamentales del procesamiento de muestras en el laboratorio para estudios de ADN ambiental, desde la extracción de ADN, la selección de primers y la amplificación por PCR, hasta la preparación de librerías de amplicones para secuenciación masiva. Que los participantes comprendan el flujo completo del procesamiento en laboratorio para metabarcoding, con especial atención a los puntos críticos donde puede comprometerse la calidad del análisis posterior.

Subtema:

- **Extracción de ADN:**
 - Métodos comunes (kits comerciales, protocolos caseros).
 - Factores que afectan el rendimiento y la calidad del ADN.
 - Manejo de inhibidores y muestras con bajo contenido de ADN.
- **Diseño y selección de primers:**
 - Marcadores genéticos comunes en metabarcoding de eucariontes (COI, 18S, 12S, etc.).
 - Consideraciones para elegir entre primers universales vs específicos.
 - Introducción al sesgo por primers y su efecto en la diversidad detectada.
- **PCR y preparación de librerías:**

Temario

- Etapas de amplificación: PCR convencional, indexación, limpieza.
- Buenas prácticas de laboratorio para evitar contaminación.
- Estrategias de multiplexado: etiquetas, adaptadores y placas.
- Controles necesarios: blancos de extracción, controles negativos y positivos.

Enfoque didáctico:

- Explicación paso a paso del flujo de trabajo de laboratorio con esquemas ilustrativos.
- Revisión de ejemplos de protocolos utilizados en proyectos reales.
- Espacio para discusión sobre cómo adaptar protocolos según el tipo de muestra y marcador.

Se comenzará a relizar pruebas para la conexión al servidor.

Martes 24 de marzo del 2026

9:00 – 11:00 Conexión al servidor

Expositoras/es:

- Dra. Tania Valdivia Carrillo
- Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez
- Dr. Miguel A. Martínez Delgado

Objetivo de la sesión:

Guia a los participantes en el acceso y uso de un servidor remoto para el procesamiento de datos de secuenciación. Esta sesión es clave para garantizar que todas y todos puedan ejecutar análisis pesados y reproducibles en un entorno bioinformático común. Que todas las personas participantes puedan acceder correctamente al servidor remoto, navegar por su estructura, subir sus datos y estén listas para iniciar el análisis bioinformático de sus muestras en las siguientes sesiones.

Subtema:

- ¿Qué es un servidor y por qué lo usamos en bioinformática?
- Acceso al servidor por línea de comandos (SSH).
- Estructura de carpetas del servidor del curso.
- Subida y descarga de archivos (uso de scp, rsync, o alternativas como FileZilla).
- Gestión de scripts y ejecución de tareas en el servidor.
- Buenas prácticas:
 - Organización de carpetas y resultados.

Temario

- Trabajo colaborativo y manejo de conflictos.
- Cuidado con la sobreescritura de archivos.
- Solución de errores comunes de conexión y permisos.

Enfoque didáctico:

- Conexión real al servidor durante la sesión.
- Revisión paso a paso del proceso de acceso y navegación.
- Acompañamiento personalizado en caso de problemas técnicos.
- Entrega de guía escrita con comandos básicos y configuraciones sugeridas.
-

11:00 – 11:20 am Receso

11:20 – 13:00 Tema: Introducción a Linux, Unix y R

Expositor: Dr. Miguel A. Martínez Delgado

Objetivo de la sesión:
Brindar a los participantes una introducción práctica al entorno de trabajo que se utilizará durante el análisis bioinformático. Se abordarán los fundamentos del uso de la línea de comandos en sistemas tipo Unix/Linux y los conceptos básicos del lenguaje de programación R, ambos esenciales para ejecutar los análisis de metabarcoding con DADA2 y otras herramientas. Que los participantes se familiaricen con el uso de la terminal y R para trabajar con datos de secuenciación, y que puedan navegar de forma autónoma por su entorno de trabajo, preparar carpetas, cargar scripts y ejecutar comandos básicos necesarios para el pipeline.

Subtema:

- ¿Por qué usamos Linux y R en bioinformática?
- Navegación básica en la terminal:
 - Estructura de directorios.
 - Comandos esenciales: `ls`, `cd`, `mkdir`, `cp`, `mv`, `rm`, `nano`, `chmod`, `head`, `grep`, `less`, etc.
- Gestión de archivos y permisos.
- Introducción a R:
 - Conceptos básicos: variables, vectores, funciones, paquetes.
 - Uso de RStudio y R Markdown.

Temario

- Estructura de un script en R.
- Carga e instalación de paquetes (`install.packages, library`).
- Buenas prácticas para organización de proyectos bioinformáticos (nombres de archivos, estructura de carpetas, bitácoras).

Enfoque didáctico:

- Demostración en vivo por terminal y RStudio.
- Ejercicios interactivos guiados paso a paso.
- Entrega de una hoja de comandos y atajos útiles.

13:00 – 14:00 Comida

14:00 – 15:00 Importación y visualización de datos crudos (FASTQ)

Expositores:

- Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez
- Dr. Miguel A. Martínez Delgado

Objetivo de la sesión:

Introducir a los participantes en el reconocimiento, organización e inspección de archivos de datos crudos provenientes de secuenciación masiva en formato FASTQ, preparando el camino para las etapas posteriores del análisis con DADA2. Que los participantes reconozcan correctamente los archivos FASTQ, comprendan su estructura y puedan realizar una inspección inicial de la calidad de las secuencias, sentando las bases para el control de calidad y filtrado en las siguientes sesiones.

Subtema:

- ¿Qué es un archivo FASTQ?
 - Estructura del archivo: encabezado, secuencia, símbolo +, calidad (Phred).
 - Paired-end vs single-end.
- Exploración e inspección de archivos FASTQ con línea de comandos (`head, less, grep`).
- Introducción a la calidad de las lecturas:
 - Concepto de score Phred.
 - Patrones comunes de calidad por ciclo.
- Organización de archivos para análisis en DADA2:
 - Nombrado consistente de archivos.

Temario

- Estructura de carpetas de trabajo.
- Verificación de correspondencias entre archivos forward y reverse.

Enfoque didáctico:

- Ejercicios prácticos: visualización directa de archivos FASTQ en el servidor.
- Uso de ejemplos con errores comunes (archivos corruptos, mal nombrados).
- Preguntas dirigidas para familiarizar a los participantes con la interpretación del formato.

15:00 – 15:10 pm Receso

15:10 – 15:30 Tema: Control de calidad (filtrado y trimming)

Expositores:

- Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez
- Dr. Miguel A. Martínez Delgado

Objetivo de la sesión:
Introducir a los participantes en los conceptos fundamentales del control de calidad de secuencias obtenidas por secuenciación masiva y guiarlos en la aplicación de herramientas específicas para el filtrado y recorte (trimming) de lecturas de baja calidad antes del análisis con DADA2. Que los participantes comprendan la lógica del control de calidad y estén en capacidad de aplicar filtros adecuados para limpiar sus datos antes del aprendizaje del error y la inferencia de ASVs.

Subtema:

- Fundamentos del control de calidad en secuencias de alto rendimiento:
 - Degrado de calidad a lo largo de la lectura.
 - Contaminación con adaptadores y secuencias indeseadas.
 - Importancia de remover regiones de baja calidad para evitar errores en el análisis posterior.
- Herramientas comunes para *quality control* (mención breve):
 - FastQC, Cutadapt, Trimmomatic.
 - Enfoque en el filtrado con `filterAndTrim()` de DADA2.
- Parámetros clave en `filterAndTrim()`:
 - `truncLen`, `maxN`, `maxEE`, `truncQ`.
 - Cómo elegir valores adecuados en función de la visualización previa.

Temario

Enfoque didáctico:

- Demostración práctica en R usando funciones de DADA2.
- Revisión rápida de resultados de filtrado: cantidad de reads retenidos vs descartados.
- Conversación sobre el balance entre calidad y cantidad de datos.

15:30 – 17:00 Tema: Aprendizaje del error

Expositores:

- Dra. Tania Valdivia Carrillo
- Dr. Miguel A. Martínez Delgado

Objetivo de la sesión:

Explicar el fundamento y la importancia del modelo de error en el pipeline de DADA2, y guiar a los participantes en la aplicación de los pasos necesarios para estimar y visualizar los perfiles de error a partir de sus propias secuencias filtradas. Que los participantes comprendan el funcionamiento del modelo de error en DADA2, puedan ejecutarlo correctamente sobre sus datos, y sean capaces de interpretar su salida para tomar decisiones informadas antes de continuar con la inferencia de ASVs.

Subtema:

- ¿Por qué es importante aprender un modelo de error en metabarcoding?
 - Comparación con métodos de clustering tradicionales (OTUs).
 - Rol del modelo de error en la inferencia precisa de variantes de secuencia (ASVs).
- Introducción a la función `learnErrors()` de DADA2:
 - ¿Qué calcula? ¿Cómo interpreta los patrones de error?
 - Diferencia entre forward y reverse reads.
 - Visualización del ajuste del modelo (`plotErrors()`).
- Buenas prácticas y criterios para evaluar la calidad del aprendizaje:
 - ¿Cuándo es necesario volver a filtrar o ajustar parámetros?
 - ¿Qué hacer si el modelo no converge adecuadamente?

Enfoque didáctico:

- Ejecución del proceso completo en R, paso a paso.
- Visualización e interpretación de las gráficas de error generadas.

Temario

- Discusión abierta sobre cómo los errores pueden afectar los resultados posteriores.

Miércoles 25 de marzo del 2026

09:00 – 11:00 Tema Denoising e inferencia de ASVs, clustering

Expositora: Dra. Tania Valdivia Carrillo

Objetivo de la sesión:

Guiar a los participantes en la etapa central del pipeline de DADA2: la inferencia de variantes de secuencia (ASVs) a partir de lecturas depuradas, utilizando un enfoque de denoising que permite identificar secuencias reales presentes en la muestra, eliminando errores sin necesidad de agrupar por similitud. Que los participantes comprendan cómo y por qué se infieren ASVs a partir de sus secuencias, ejecuten el proceso con éxito sobre sus datos, y estén listos para continuar con el ensamblaje de pares y la generación de la tabla de secuencias.

Subtema:

- ¿Qué es el denoising?
 - Diferencias conceptuales entre denoising y clustering.
 - Ventajas del enfoque ASV frente a OTUs (resolución, reproducibilidad, trazabilidad).
- Inferencia de ASVs con DADA2:
 - Uso de la función dada() y cómo se conecta con el modelo de error aprendido.
 - Parámetros clave y recomendaciones para optimizar resultados.
- Resultados generados:
 - Secuencias inferidas por muestra.
 - Recuento de abundancia de ASVs.
 - Cómo evaluar si la inferencia fue exitosa.
- Introducción al concepto de clustering (sin aplicación directa en esta etapa):
 - Mención breve de herramientas como SWARM o VSEARCH.
 - Contextos en los que el clustering sigue siendo útil (comparaciones entre métodos, otros pipelines).

Enfoque didáctico:

- Demostración práctica del uso de dada() en forward y reverse reads.
- Visualización de resultados intermedios.

Temario

- Discusión sobre el impacto del denoising en la precisión del análisis ecológico.

11:00 – 11:20 am Receso

11:20 – 13:00 Tema: Unión de pares (si se trata de lecturas paired-end)

Expositora: Dra. Tania Valdivia Carrillo

Objetivo de la sesión:

Enseñar a los participantes a unir lecturas forward y reverse obtenidas mediante secuenciación paired-end, utilizando funciones del paquete DADA2, y destacar los beneficios y requisitos de una correcta unión de pares para mejorar la precisión y cobertura del análisis de metabarcoding. Que los participantes comprendan la lógica y los requisitos para unir lecturas paired-end, realicen exitosamente la unión en sus propios datos, y cuenten con un conjunto limpio de secuencias ensambladas para los pasos posteriores del pipeline.

Subtema:

- ¿Qué es la secuenciación paired-end?
 - Principios del enfoque y ventajas respecto a lecturas single-end.
 - Importancia de la región solapada entre las lecturas forward y reverse.
- Unión de pares en DADA2:
 - Función mergePairs(): requerimientos de entrada, parámetros importantes (minOverlap, maxMismatch).
 - Resultados de la unión: secuencias ensambladas y filtradas.
 - Verificación de la eficiencia del merge (porcentaje de lecturas unidas).
- Problemas comunes y cómo resolverlos:
 - Falta de solapamiento suficiente.
 - Baja calidad en los extremos.
 - Muestras con pobre recuperación tras el merge.

Enfoque didáctico:

- Ejecución práctica del paso de unión con mergePairs().
- Visualización de estadísticas y discusión de los resultados obtenidos.
- Recomendaciones sobre cómo ajustar parámetros si el ensamblaje es bajo.

13:00 – 14:00 Comida

14:00 – 15:00 Tema: Remoción de quimeras

Temario

Expositora: Dra. Tania Valdivia Carrillo

Objetivo de la sesión:

Explicar qué son las quimeras en secuenciación masiva y por qué es fundamental detectarlas y eliminarlas para evitar falsos positivos en estudios de biodiversidad. Se guiará a los participantes en la aplicación de la función correspondiente en DADA2 para identificar y remover secuencias químéricas en sus datos procesados. Que los participantes entiendan la importancia de la remoción de quimeras, puedan aplicar correctamente la función correspondiente en su conjunto de datos, y continúen hacia la asignación taxonómica con un dataset depurado.

Subtema:

- ¿Qué son las secuencias químéricas?
 - Cómo se forman durante la PCR (recombinación de fragmentos).
 - Por qué son problemáticas en estudios metabarcoding.
- Detección y eliminación de quimeras en DADA2:
 - Uso de la función removeBimeraDenovo()
 - Parámetros clave y métodos utilizados por DADA2 (consensus vs pooled).
 - Evaluación de resultados: proporción de secuencias eliminadas y su interpretación.
- Buenas prácticas:
 - Evaluar si una alta proporción de quimeras indica un problema de calidad o diseño.
 - Comparación con herramientas externas (breve mención a UCHIME, VSEARCH).

Enfoque didáctico:

- Ejecución paso a paso de la función en R.
- Análisis de los resultados antes y después de la remoción.
- Discusión abierta sobre cómo afectan las quimeras la interpretación ecológica.

15:00 – 15:10 pm Receso

15:10 – 17:00 Tema: Asignación taxonómica

Expositora: Dra. Tania Valdivia Carrillo

Objetivo de la sesión:

Capacitar a los participantes en el uso de herramientas bioinformáticas para realizar la

Temario

asignación taxonómica de las secuencias representativas obtenidas tras la inferencia de ASVs. Esta etapa permite vincular las secuencias con organismos conocidos, proporcionando un marco ecológico para su interpretación. Que los participantes comprendan el proceso de asignación taxonómica, puedan implementarlo con sus propios datos, y obtengan una tabla de ASVs con sus respectivas clasificaciones para proceder al análisis ecológico.

Subtema:

- ¿Qué es la asignación taxonómica y por qué es fundamental en metabarcoding?
 - Conexión entre secuencias (ASVs) y unidades biológicas (especies, géneros, etc.).
 - Limitaciones e incertidumbres en la clasificación.
- Métodos de asignación en DADA2:
 - Función assignTaxonomy() y addSpecies().
 - Bases de datos compatibles: SILVA, PR2, RDP, MIDORI, BOLD.
 - Creación y uso de bases de datos personalizadas.
- Parámetros y estrategias:
 - Ajuste del parámetro minBoot (confianza en la asignación).
 - Asignación hasta especie vs niveles taxonómicos superiores.
- Evaluación y limpieza de las asignaciones:
 - Identificación de secuencias no asignadas o con asignaciones ambiguas.
 - Buenas prácticas para filtrar resultados con baja confianza.

Enfoque didáctico:

- Demostración práctica del uso de funciones en R para asignar taxonomía.
- Comparación entre bases de datos y discusión sobre sesgos taxonómicos.
- Exploración de salidas tabulares y preparación de datos para análisis ecológicos posteriores.

Jueves 26 de marzo del 2026

09:00 – 11:00 Tema: Creación de tablas: ASV table y tax table

Expositor/a: (Por asignar)

Objetivo de la sesión:

Guiar a los participantes en la creación de las tablas fundamentales para el análisis ecológico posterior: la **tabla de abundancia de ASVs por muestra (ASV table)** y la tabla

Temario

taxonómica (tax table), utilizando los objetos generados en el pipeline de DADA2. Que los participantes comprendan cómo se estructuran las tablas de ASVs y taxonomía, sean capaces de generarlas e integrarlas, y estén listos para iniciar los análisis ecológicos y estadísticos en las siguientes sesiones.

Subtema:

- ¿Qué son las ASV table y tax table?
 - Relación entre muestras, secuencias y taxonomía.
 - Estructura y propósito de cada tabla.
- Creación de tablas en R:
 - `makeSequenceTable()`: generación de la tabla de abundancia de ASVs.
 - Conversión de tablas a formato compatible con otros paquetes (`phyloseq`, `vegan`).
 - Asociación de taxonomía a ASVs: combinación de `taxa` con `ASVs`.
- Revisión y limpieza de tablas:
 - Filtrado de secuencias espurias (ej. no asignadas, contaminantes).
 - Inspección de dimensiones y coherencia de las tablas.
- Introducción breve a `phyloseq`:
 - Creación de un objeto `phyloseq` con ASVs, taxonomía y metadatos.
 - Ventajas de trabajar con objetos integrados.

Enfoque didáctico:

- Construcción paso a paso de la ASV table y tax table en R.
- Visualización e inspección de las primeras filas de cada tabla.
- Resolución de errores comunes (muestras sin reads, taxonomías faltantes, etc.).

11:00 – 11:20 am Receso

11:20 – 13:00 Tema: Exportación y análisis en phyloseq, vegan, ggplot2, etc.

Expositora: Dra. Tania Valdivia Carrillo

Objetivo de la sesión:

Enseñar a los participantes a exportar e integrar sus datos de ASVs y taxonomía en paquetes especializados de R para el análisis ecológico de comunidades microbianas o eucarióticas, utilizando herramientas como phyloseq, vegan y ggplot2 para organizar, explorar y visualizar los datos. Que los participantes se familiaricen con las herramientas

Temario

de análisis y visualización más utilizadas en estudios de eDNA, y puedan generar gráficos y resultados interpretables a partir de sus datos procesados.

Subtema:

- Introducción a phyloseq:
 - Estructura del objeto phyloseq.
 - Integración de ASV table, tax table y metadatos.
 - Funciones básicas: plot_richness(), plot_bar(), ordinate().
- Uso de vegan para análisis ecológico:
 - Matrices de comunidad y diversidad.
 - Cálculo de índices de diversidad: Shannon, Simpson, etc.
 - Transformación y rarefacción de datos (decostand, rarefy).
- Visualización con ggplot2:
 - Construcción de gráficos personalizados (barras, cajas, puntos, etc.).
 - Personalización de ejes, colores, leyendas y temas.
 - Combinación con phyloseq para generar gráficos complejos.
- Exportación de resultados:
 - Guardado de objetos, tablas y figuras para uso externo.
 - Formatos útiles para compartir y publicar (CSV, PNG, PDF).

Enfoque didáctico:

- Ejercicios prácticos con un conjunto de datos de ejemplo.
- Revisión de scripts y comandos en R con salida visual inmediata.
- Enlaces a plantillas y scripts reutilizables.

13:00 – 14:00 Comida

14:00 – 15:00 Tema: Análisis ecológico de comunidades. Representación gráfica de resultados: barplots, patrones de α - y β -diversidad

Expositora: Dra. Tania Valdivia Carrillo

Objetivo de la sesión:

Proporcionar a los participantes las herramientas conceptuales y prácticas para analizar e interpretar patrones de diversidad biológica a partir de datos de metabarcoding, utilizando

Temario

métricas ecológicas de **diversidad alfa y beta**, así como su representación gráfica en **barplots** y gráficos de ordenamiento.

Subtema:

- **Diversidad α (alfa):**

- Definición e interpretación.
- Cálculo de índices (riqueza observada, Shannon, Simpson).
- Rarefacción y cobertura.

- **Diversidad β (beta):**

- Comparación de comunidades.
- Matrices de disimilitud: Jaccard, Bray-Curtis.
- Visualización con análisis multivariados: nMDS, PCA, PCoA.

- **Representación gráfica:**

- Construcción e interpretación de barplots de abundancia relativa.
- Uso de `phyloseq` y `ggplot2` para representar resultados.
- Organización por grupo, hábitat o condición experimental.

Enfoque didáctico:

- Aplicación en R con un conjunto de datos de ejemplo.
- Visualización de resultados paso a paso.
- Ejemplos de cómo adaptar las visualizaciones para publicaciones o presentaciones.

Resultado esperado:

Que los participantes comprendan cómo evaluar la estructura de comunidades a partir de datos de eDNA, calcular índices de diversidad y generar representaciones gráficas claras y efectivas para comunicar sus resultados.

15:00 – 15:10 pm Receso

15:30 – 17:00 Tema: Comparación de resultados de diferentes barcodes

Expositora: Dra. Tania Valdivia Carrillo

Objetivo de la sesión:

Analizar y discutir cómo la elección de distintos marcadores genéticos (barcodes) puede influir en los resultados obtenidos mediante metabarcoding, tanto en términos de taxones detectados como en la resolución taxonómica, y explorar estrategias para comparar,

Temario

complementar o seleccionar marcadores de forma informada. Que los participantes reconozcan cómo la elección del marcador puede moldear los resultados de un estudio de eDNA/metabarcoding, y cuenten con criterios sólidos para elegir, comparar o combinar barcodes según sus objetivos de investigación.

Subtema:

- ¿Qué es un barcode en metabarcoding?
 - Regiones génicas comúnmente utilizadas en eucariontes: COI, 18S rRNA, 12S, ITS, etc.
 - Características deseables de un marcador: universalidad, especificidad, resolución taxonómica, cobertura en bases de datos.
- Comparación de resultados entre barcodes:
 - Diferencias en la detección de grupos taxonómicos (e.g., animales vs protistas).
 - Variaciones en riqueza y composición de comunidades.
 - Casos de estudio: ejemplos en donde diferentes barcodes generan patrones complementarios o contradictorios.
- Métodos para la comparación:
 - Visualización conjunta de resultados (barplots combinados, Venn diagrams, heatmaps).
 - Análisis multivariado de datasets paralelos.
 - Filtros taxonómicos para evaluar sesgos por marcador.
- Estrategias prácticas:
 - ¿Cuándo usar más de un marcador?
 - Selección del marcador según el objetivo del estudio.
 - Consideraciones de costo, tiempo y recursos bioinformáticos.

Enfoque didáctico:

- Revisión de datasets reales procesados con distintos barcodes.
- Discusión guiada sobre decisiones metodológicas en función de la pregunta ecológica.
- Intercambio de experiencias entre participantes sobre marcadores utilizados en distintos sistemas.

Viernes 27 de marzo del 2026

Temario

09:00 – 11:00 Tema: Uso de controles negativos y eliminación de contaminantes con `decontam` (R)

Expositor: Dr. Miguel A. Martínez Delgado

Objetivo de la sesión:

Introducir a los participantes en el uso de controles negativos dentro de estudios de ADN ambiental, y enseñar cómo detectar y remover contaminantes mediante el paquete `decontam` de R. Esta etapa es fundamental para asegurar la calidad y la confiabilidad de los resultados de metabarcoding. Que los participantes comprendan el valor del uso de controles negativos y dominen el uso de `decontam` para identificar y remover secuencias contaminantes de sus datos, mejorando la calidad de sus análisis de biodiversidad.

Subtema:

- ¿Qué son los controles negativos y cuál es su función?
 - Tipos: blanco de extracción, blanco de PCR, blanco de campo.
 - Importancia de incluirlos desde el diseño experimental.
- ¿Por qué es importante identificar contaminantes en estudios de eDNA?
 - Fuentes comunes de contaminación: laboratorio, reactivos, manipulación.
 - Impacto en los resultados ecológicos y decisiones de manejo.
- Introducción al paquete `decontam` en R:
 - Métodos disponibles: `frequency`, `prevalence`, `combined`.
 - Requisitos del input: tabla de ASVs, metadatos de muestras (identificación de controles).
 - Interpretación de resultados y filtros sugeridos.
- Visualización y documentación:
 - Representación de contaminantes detectados.
 - Registro de decisiones de filtrado para asegurar reproducibilidad.

Enfoque didáctico:

- Ejercicio práctico con un dataset que incluye controles negativos.
- Aplicación paso a paso del pipeline con `decontam`.
- Discusión sobre estrategias para evitar contaminación y manejo de resultados inciertos.

11:00 – 11:20 am Receso

Temario

11:20 – 13:00 Tema: OTUs: agrupamiento por similitud con VSEARCH o *clustur* (R)

Expositores:

- Dra. Tania Valdivia Carrillo
- Dr. Miguel A. Martínez Delgado

Objetivo de la sesión:

Introducir a los participantes en el enfoque tradicional de generación de OTUs (Operational Taxonomic Units) mediante agrupamiento por similitud de secuencias, como una alternativa o complemento al enfoque basado en ASVs. Se explorarán herramientas como VSEARCH y el paquete *clustur* en R. Que los participantes comprendan el proceso de agrupamiento por similitud, sean capaces de generar OTUs a partir de sus secuencias, y reflexionen sobre la elección entre OTUs y ASVs en función de los objetivos, tipo de muestra y marcadores utilizados.

Subtema:

- Diferencias entre OTUs y ASVs:
 - Definición, ventajas y limitaciones de cada enfoque.
 - ¿Cuándo y por qué seguir utilizando OTUs?
- Agrupamiento de secuencias por identidad:
 - Enfoque de clustering "de novo" (sin referencia).
 - Uso de umbrales de identidad (97%, 99%, etc.).
- Introducción a VSEARCH:
 - Flujo de trabajo básico: dereplicación, clustering, chimera checking.
 - Parámetros clave y formatos de entrada/salida.
 - Ejecución en línea de comandos o a través de un wrapper en R.
- Introducción a *clustur* en R:
 - Clustering directamente desde tablas de ASVs.
 - Integración con *phyloseq* y análisis comparativos.
- Comparación práctica de resultados:
 - Número de OTUs vs ASVs.
 - Cambios en riqueza y composición observada.
 - Visualización con gráficos comparativos.

Enfoque didáctico:

Temario

- Demostraciones prácticas usando datasets del curso.
- Discusión sobre la elección del método más adecuado según el contexto del estudio.
- Exploración de cómo presentar resultados comparativos en artículos científicos.

13:00 – 14:00 Comida

14:00 – 15:00 Tema: Temas auxiliares

Expositora: Dra. Tania Valdivia Carrillo

Objetivo de la sesión:

Abordar temas complementarios que enriquecen la comprensión y aplicación de los métodos de ADN ambiental y metabarcoding, así como resolver dudas acumuladas durante la semana. Esta sesión funcionará también como espacio abierto para profundizar en intereses específicos de los participantes. Que los participantes afiancen conceptos clave, aclaren dudas específicas, y se lleven recursos adicionales para seguir explorando y profundizando en el uso del ADN ambiental en sus contextos de trabajo e investigación.

Contenido posible (adaptable según el grupo):

- **Bases de datos de referencia personalizadas:**
 - Cómo construir y curar una base de datos para asignación taxonómica.
 - Herramientas como [ecoPCR](#), [OBITools](#), [BLAST](#), entre otras.
- **Diseño de primers in silico:**
 - Introducción a herramientas como [ecoPrimers](#), [PrimerMiner](#), [Primer3](#).
 - Evaluación de cobertura y especificidad.
- **Consideraciones sobre almacenamiento, reproducibilidad y documentación de análisis:**
 - Estructura de carpetas, uso de RMarkdown o Quarto.
 - Versionado de código y datos (mención breve a Git/GitHub).
- **Errores comunes y soluciones prácticas en análisis de eDNA:**
 - Mala calidad de datos, falta de asignación taxonómica, sobre-filtrado, etc.
- **Oportunidades y limitaciones del metabarcoding en aplicaciones reales:**
 - Estudios de impacto ambiental, monitoreo de especies invasoras, conservación.

Enfoque didáctico:

Temario

- Formato flexible tipo "consultorio técnico" y diálogo abierto.
- Prioridad a preguntas de los participantes y discusión de casos reales.
- Revisión rápida de herramientas adicionales sugeridas por los instructores.

15:00 – 15:10 pm Receso

15:30 – 17:00 Tema: Brainstorming y presentación de proyectos

Facilitadora: Dra. Tania Valdivia Carrillo

Objetivo de la sesión:

Culminar el curso con una actividad integradora en la que los participantes presenten ideas de proyectos aplicando los conocimientos adquiridos durante la semana. Esta sesión busca fomentar el pensamiento crítico, la colaboración, la retroalimentación constructiva y la proyección hacia aplicaciones reales de los métodos de ADN ambiental. Que cada participante consolide los conocimientos adquiridos mediante la aplicación a un caso o idea de proyecto, reciba retroalimentación útil para desarrollarlo más allá del curso, y se integre en una comunidad activa de usuarios de eDNA y metabarcoding.

Subtema:

- **Presentación de proyectos breves:**
 - Cada participante (o grupo) presentará una propuesta de proyecto en 5–7 minutos.
 - Formato libre: esquema experimental, objetivo, muestras, método (metabarcoding o qPCR/ddPCR), análisis esperado.
 - No se requiere presentación formal, pero se pueden mostrar esquemas, tablas, ideas clave en RMarkdown, etc.
- **Espacio de retroalimentación y discusión:**
 - Comentarios por parte de instructores y compañeros.
 - Sugerencias metodológicas, mejora de diseño experimental, herramientas adicionales.
 - Identificación de posibles colaboraciones o proyectos en desarrollo.
- **Cierre del curso:**
 - Síntesis de aprendizajes clave.
 - Encuesta de retroalimentación.
 - Entrega de constancias y despedida.

Enfoque didáctico:

Temario

- Participación activa y horizontal.
- Enfoque práctico y flexible para fortalecer el aprendizaje aplicado.
- Ambiente de respeto, creatividad y colaboración.

Evaluación/Aprobación. (*especificar claramente los criterios de evaluación para aprobar la actividad*): Asistencia al 80% de las sesiones

Literatura y/o Material de apoyo. (*literatura diversa, videos, tutoriales,etc.*)

Andruszkiewicz Allan, Elizabeth, Weifeng Gordon Zhang, Andone C. Lavery, and Annette F. Govindarajan. 2021. "Environmental DNA Shedding and Decay Rates from Diverse Animal Forms and Thermal Regimes." *Environmental DNA* (Hoboken, N.J.) 3 (2): 492–514.

Antich, Adrià, Cruz Palacín, Emma Cebrian, Raül Golo, Owen S. Wangensteen, and Xavier Turon. 2021. "Marine Biomonitoring with eDNA: Can Metabarcoding of Water Samples Cut It as a Tool for Surveying Benthic Communities?" *Molecular Ecology* 30 (13): 3175–88.

Callahan, Benjamin J., Paul J. McMurdie, Michael J. Rosen, Andrew W. Han, Amy Jo A. Johnson, and Susan P. Holmes. 2016. "DADA2: High-Resolution Sample Inference from Illumina Amplicon Data." *Nature Methods* 13 (7): 581–83.

Ficetola, Gentile Francesco, Claude Miaud, François Pompanon, and Pierre Taberlet. 2008. "Species Detection Using Environmental DNA from Water Samples." *Biology Letters* 4 (4): 423–25.

Goldberg, Caren S., Cameron R. Turner, Kristy Deiner, Katy E. Klymus, Philip Francis Thomsen, Melanie A. Murphy, Stephen F. Spear, et al. 2016. "Critical Considerations for the Application of Environmental DNA Methods to Detect Aquatic Species." *Methods in Ecology and Evolution* 7 (11): 1299–1307.

Guri, Gledis, Jessica Louise Ray, Andrew Olaf Shelton, Ryan P. Kelly, Kim Præbel, Elizabeth Andruszkiewicz Allan, Nigel Yoccoz, et al. 2024. "Quantifying the Detection Sensitivity and Precision of qPCR and ddPCR Mechanisms for eDNA Samples." *Ecology and Evolution* 14 (12): e70678.

Guri, Gledis, Andrew Olaf Shelton, Ryan P. Kelly, Nigel Yoccoz, Torild Johansen, Kim Præbel, Tanja Hanebrekke, Jessica Louise Ray, Johanna Fall, and Jon-Ivar Westgaard. 2024. "Predicting Trawl Catches Using Environmental DNA." *ICES Journal of Marine Science: Journal Du Conseil*, August, fsae097.

Mac Loughlin, Camila, Tania Valdivia-Carrillo, Salwa El Khattabi, Fausto Valenzuela-Quiñonez, Hector Reyes-Bonilla, and Adrian Munguia-Vega. 2025. "Contrasting the Contributions of 12S eDNA Metabarcoding, Visual Surveys and Anaesthetic Collections to

Temario

the Historical Regional Diversity of Cryptobenthic and Conspicuous Fish." *Journal of Fish Biology*, April. <https://doi.org/10.1111/jfb.70054>.

Mac Loughlin, Camila, Tania Valdivia-Carrillo, Fausto Valenzuela-Quiñonez, Hector Reyes-Bonilla, Richard C. Brusca, and Adrian Munguia-Vega. 2024. "eDNA Metabarcoding Warms up a Hotspot of Marine Biodiversity: Revealing Underrepresented Taxa in Visual Surveys and Historical Records from the Gulf of California." *Marine Biodiversity* 54 (2): 22.

Martin, Marcel. 2011. "Cutadapt Removes Adapter Sequences from High-Throughput Sequencing Reads." *EMBnet.journal* 17 (1): 10–12.

Pawlowski, Jan, Aurélie Bonin, Frédéric Boyer, Tristan Cordier, and Pierre Taberlet. 2021. "Environmental DNA for Biomonitoring." *Molecular Ecology* 30 (13): 2931–36.

Shelton, Andrew Olaf, Zachary J. Gold, Alexander J. Jensen, Erin D Agnese, Elizabeth Andruszkiewicz Allan, Amy Van Cise, Ramón Gallego, et al. 2023. "Toward Quantitative Metabarcoding." *Ecology* 104 (2): e3906.

Shelton, Andrew Olaf, Ana Ramón-Laca, Abigail Wells, Julia Clemons, Dezhang Chu, Blake E. Feist, Ryan P. Kelly, et al. 2022. "Environmental DNA Provides Quantitative Estimates of Pacific Hake Abundance and Distribution in the Open Ocean." *Proceedings. Biological Sciences / The Royal Society* 289 (1971): 20212613.

Taberlet, Pierre, Eric Coissac, Mehrdad Hajibabaei, and Loren H. Rieseberg. 2012. "Environmental DNA." *Molecular Ecology* 21 (8): 1789–93.

Taberlet, Pierre, Eric Coissac, François Pompanon, Christian Brochmann, and Eske Willerslev. 2012. "Towards next-Generation Biodiversity Assessment Using DNA Metabarcoding." *Molecular Ecology* 21 (8): 2045–50.

Valdivia-Carrillo, Tania, Axayácatl Rocha-Olivares, Héctor Reyes-Bonilla, José Francisco Domínguez-Contreras, and Adrian Munguia-Vega. 2021. "Integrating eDNA Metabarcoding and Simultaneous Underwater Visual Surveys to Describe Complex Fish Communities in a Marine Biodiversity Hotspot." *Molecular Ecology Resources* 21 (5): 1558–74.