

# Manual para uso do programa <INSERIR NOME CRIATIVO AQUI>

O software é dividido em duas partes “Processamento da tabela inicial a aplicação do threshold” e “Criação de tabelas com resultados consolidados”, cada uma dessas com um arquivo de entrada específico.

## Processamento da tabela inicial e aplicação do *threshold*

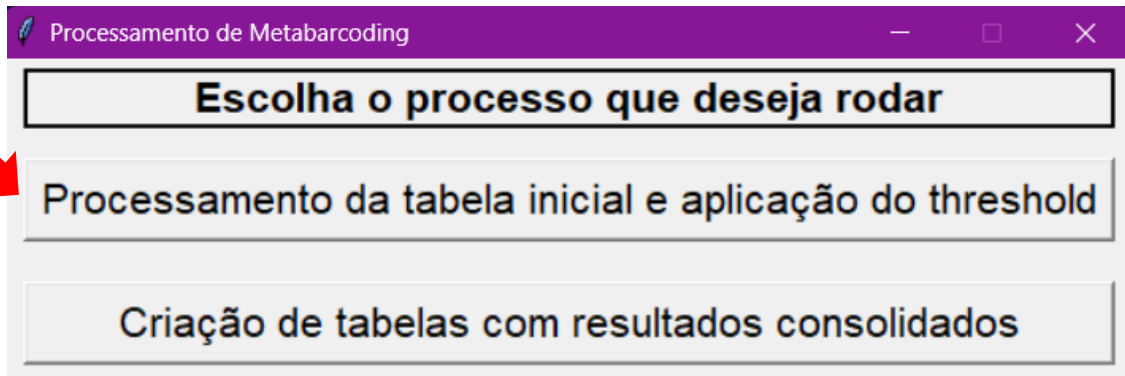
Esse processo irá separar a tabela proveniente da etapa de atribuição taxonômica nas corridas de sequenciamento, calculará o *threshold* de *reads* (0,5%) para cada uma, salvará uma lista com o *threshold* de cada corrida, eliminará as OTUS que estiverem abaixo do *threshold* e salvará uma nova tabela com as OTUS eliminadas.

**Arquivo de entrada:** Monte uma tabela em Excel (preferencialmente em formato .xlsx) com os resultados da atribuição taxonômica que contenha as colunas Corrida (representando a corrida de sequenciamento), Amostra (indicando área de coleta e amostrador, certifique-se de identifica-los de maneira não ambígua para não ocorrer erros na separação, separe a área da amostrador por um underscore (área\_amostrador), N\_reads (número de *reads* da OTU) e Espécie (espécie definida partir da atribuição taxonômica). Nessa tabela podem existir outras colunas com outros nomes sem problema nenhum, como mostra o exemplo a seguir:

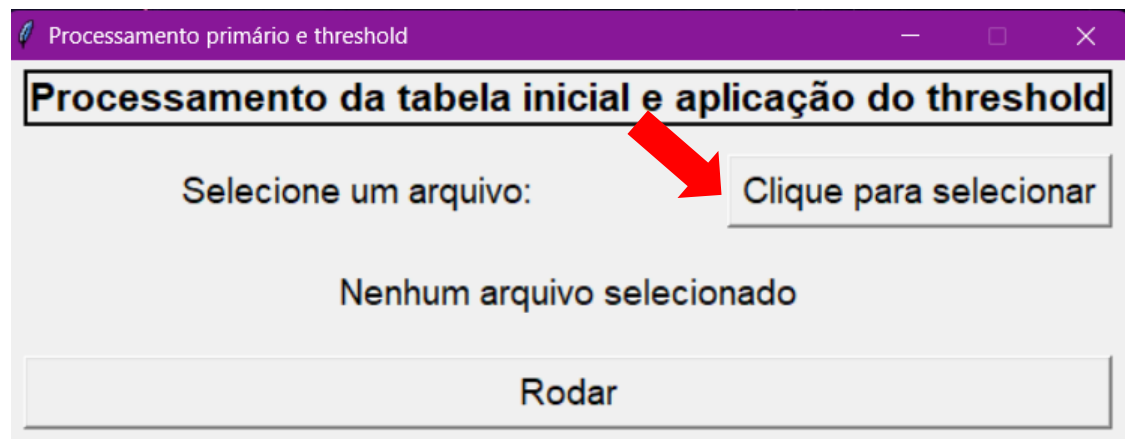
|   | A    | B       | C   | D       | E   | F       | G    | H               | I |
|---|------|---------|-----|---------|-----|---------|------|-----------------|---|
| 1 | Gene | Corrida | Tag | Amostra | Otu | N_reads | id_% | Espécie         |   |
| 2 | 16S  | C1      | A   | CD_MO   | 1   | 10934   | 100  | Bos taurus      |   |
| 3 | 16S  | C2      | A   | CD_MO   | 2   | 4238    | 100  | Sapajus flavius |   |
| 4 | 16S  | C3      | B   | CD_MQ   | 1   | 2208    | 100  | Homo sapiens    |   |

A partir daqui siga os seguintes passos:

**Passo 1:** Clique no botão “Processamento da tabela inicial a aplicação do threshold”

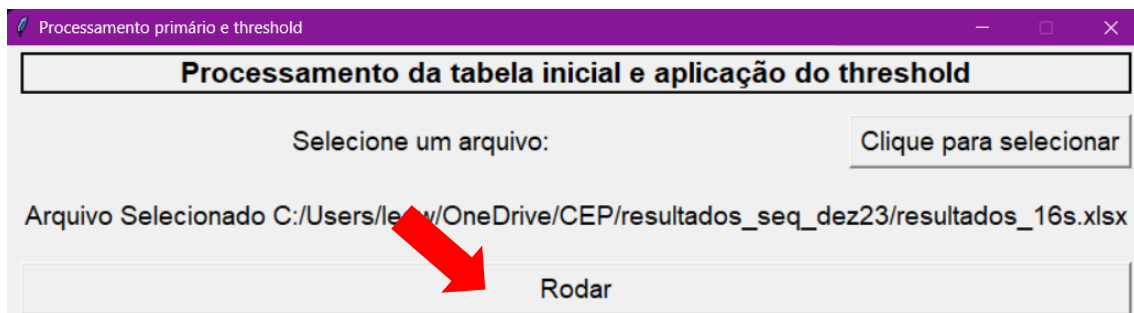


**Passo 2:** Selecione a tabela



Assim que selecionar o arquivo o seu caminho será exibido, confira se está tudo certo.

**Passo 3:** Clique em “Rodar”



**Passo 4:** Salve a tabela Excel (.xlsx) com o tratamento que foi feito através do *threshold*

**Passo 5:** Salve a tabela Excel (.xlsx) com a lista de *threshold* calculados por corrida de sequenciamento.

Dessa forma você terá uma tabela semelhante a tabela que utilizou como arquivo de entrada, porém com a remoção das OTUs com a quantidade de *reads* abaixo do *threshold*.

## Criação de tabelas com resultados consolidados

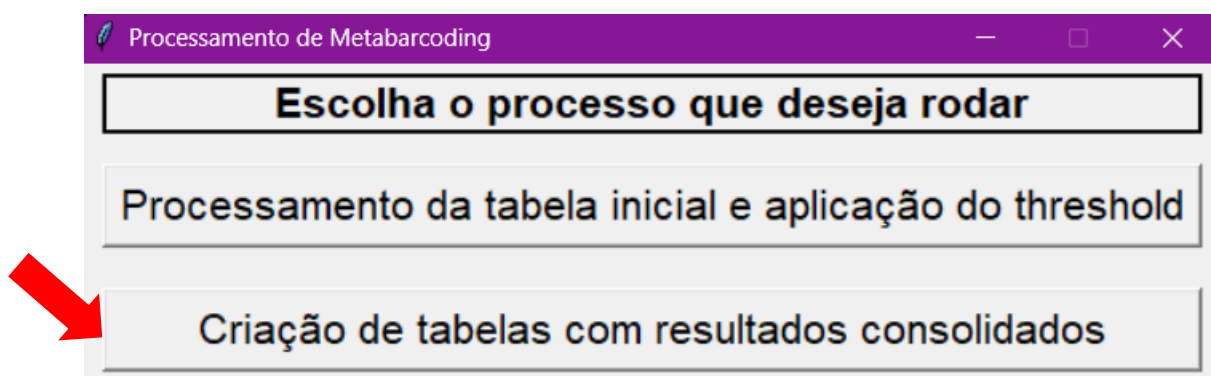
Esse processo irá criar tabelas com os resultados, as listas de espécies com o seu número de detecções e de *reads*. As tabelas poderão ser geradas separando as listas por amostrador, por área ou por amostrador e área.

**Arquivo de entrada:** O arquivo de entrada é a tabela de Excel (preferencialmente em formato .xlsx) com os resultados do processo anterior levemente alterada, deverá ser acrescentada uma coluna nomeada **OTUFinal**, que deverá conter a atribuição taxonômica definitiva após revisão dos resultados do processo anterior.

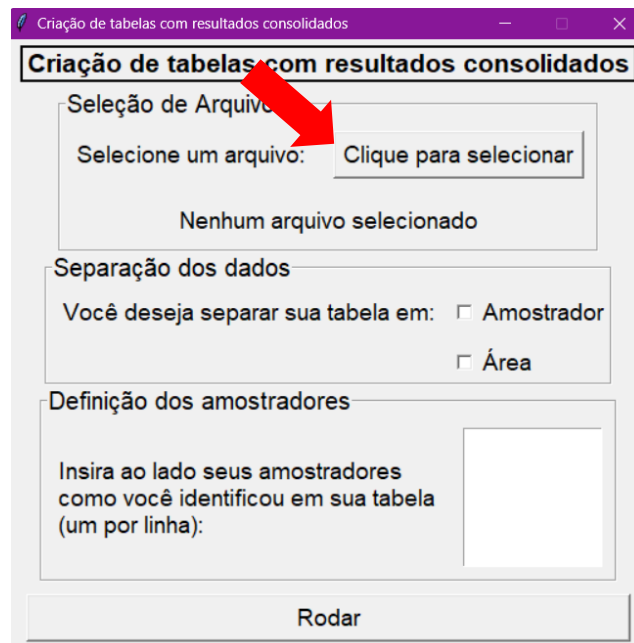
|   | A    | B       | C   | D       | E   | F       | G    | H               | I               |
|---|------|---------|-----|---------|-----|---------|------|-----------------|-----------------|
| 1 | Gene | Corrida | Tag | Amostra | Otu | N_reads | id_% | Espécie         | <b>OTUFinal</b> |
| 2 | 16S  | C1      | A   | CD_MO   | 1   | 10934   | 100  | Bos taurus      | Bos taurus      |
| 3 | 16S  | C2      | A   | CD_MO   | 2   | 4238    | 100  | Sapajus flavius | Sapajus flavius |
| 4 | 16S  | C3      | B   | CD_MQ   | 1   | 2208    | 100  | Homo sapiens    | Homo sapiens    |

A partir daqui siga os seguintes passos:

**Passo 1:** Clique no botão “Criação de tabelas com resultados consolidados”



## Passo 2: Selecione a tabela



**Criação de tabelas com resultados consolidados**

**Seleção de Arquivo**

Selecione um arquivo:

Nenhum arquivo selecionado

**Separação dos dados**

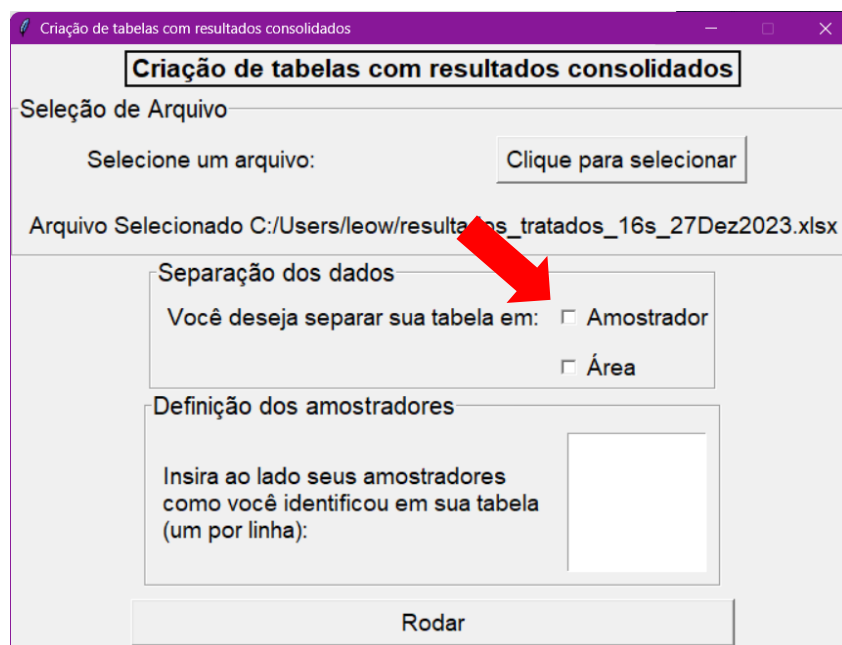
Você deseja separar sua tabela em: ☐ Amostrador ☐ Área

**Definição dos amostradores**

Insira ao lado seus amostradores como você identificou em sua tabela (um por linha):

Assim que selecionar o arquivo o seu caminho será exibido, confira se está tudo certo.

**Passo 3:** Após isso, selecione com qual critério deseja separar seus resultados, por amostrador, por área ou por ambos.



**Criação de tabelas com resultados consolidados**

**Seleção de Arquivo**

Selecione um arquivo:

Arquivo Selecionado C:/Users/leow/resultados\_tratados\_16s\_27Dez2023.xlsx

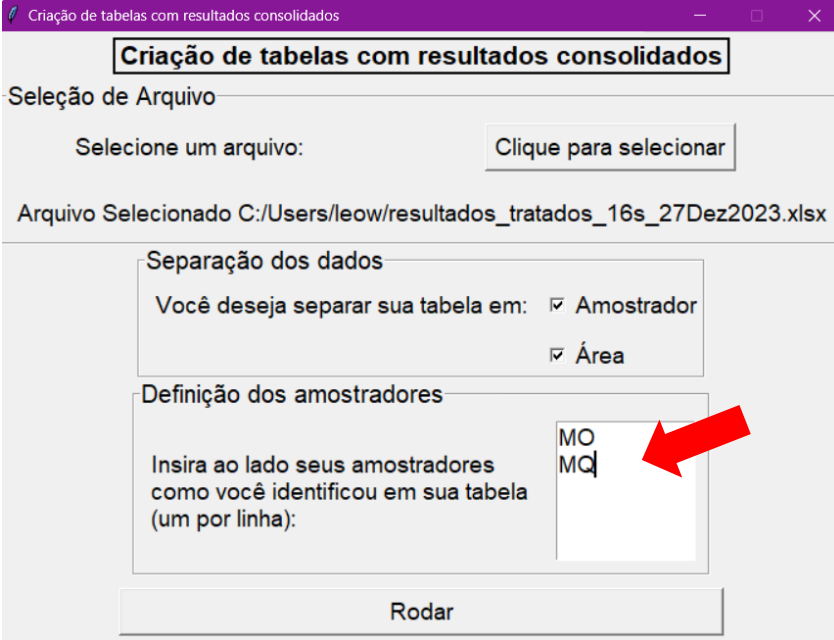
**Separação dos dados**

Você deseja separar sua tabela em: ☐ Amostrador ☒ Área

**Definição dos amostradores**

Insira ao lado seus amostradores como você identificou em sua tabela (um por linha):

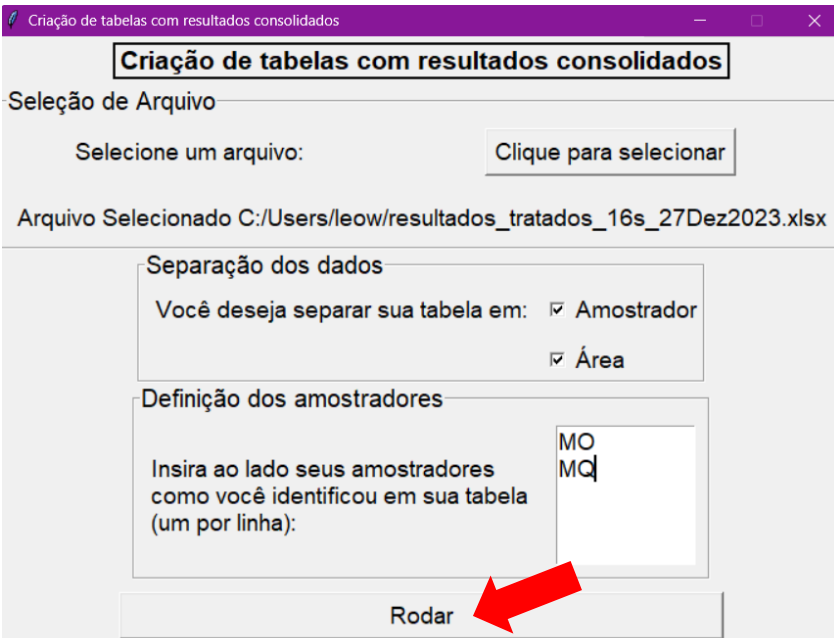
**Passo 4:** Caso tenha selecionado a opção “Amostrador”, indique no próximo campo como identificou seus amostradores na tabela, separe-os por um Enter, de maneira que fiquem um debaixo do outro.



The screenshot shows a software window titled "Criação de tabelas com resultados consolidados". It has a tab labeled "Criação de tabelas com resultados consolidados". Under the "Seleção de Arquivo" section, there is a label "Selecione um arquivo:" and a button "Clique para selecionar". Below this, it says "Arquivo Selecionado C:/Users/leow/resultados\_tratados\_16s\_27Dez2023.xlsx". The "Separação dos dados" section has two checked options: "Amostrador" and "Área". The "Definição dos amostradores" section has a label "Insira ao lado seus amostradores como você identificou em sua tabela (um por linha):" and a text input field containing "MO" and "MQ" on separate lines. A red arrow points to this input field. At the bottom is a "Rodar" button.

Se não selecionou a opção “Amostrador” no passo anterior deixe esse campo em branco.

**Passo 5:** Clique em “Rodar”



This screenshot is identical to the previous one, showing the same window and settings. However, a red arrow now points to the "Rodar" button at the bottom of the window.

**Passo 6:** Se escolheu apenas uma opção no **Passo 3**, salve a tabela com os as listas de espécie finais em Excel (.xlsx)

Se escolheu ambas as opções no **Passo 3**, salve a tabela com listas gerais de espécie para cada amostrador e depois as listas de espécies finais (será gerado um arquivo por amostrados), todas as tabelas geradas estarão no formato (.xlsx).

Dessa forma você terá tabelas com sua lista final de táxons com informações sobre o número de *reads* que aquele táxon apresentou e quantas vezes foi detectado.