

Manual para uso do programa eDNAlyzer

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

Processamento inicial e aplicação do *threshold*

Esse processo irá separar a tabela proveniente da etapa de atribuição taxonômica, calculará o *threshold* de *contigs* (valor padrão 0,05%) para cada amostra sequenciada, salvará uma lista com o *threshold* de cada amostra de sequenciamento, eliminará as OTUS que estiverem abaixo do *threshold* e salvará uma nova tabela com as OTUS eliminadas.

Arquivo de entrada:

Monte uma tabela (em formato .xlsx ou .csv) contendo os resultados da atribuição taxonômica com as seguintes colunas:

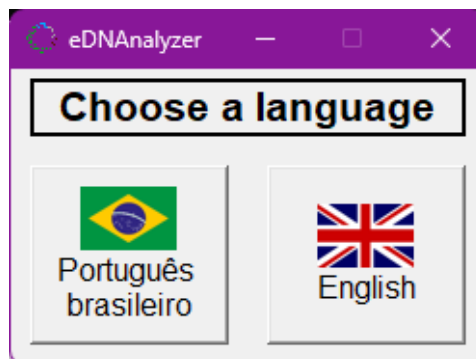
- Amostra_sequenciamento (identificação das amostras de sequenciamento)
- Area_amostrador (indicando a área de coleta e o amostrador; certifique-se de que tanto as áreas quanto os amostradores sejam identificados de forma não ambígua para evitar erros durante a separação. Use um *underscore* para separar a área do amostrador: área_amostrador).
- Ponto (indicando o ponto de coleta)
- N_contigs (número de contigs da OTU)
- Taxon (táxon definido a partir da atribuição taxonômica).

Outras colunas com nomes diferentes também podem ser incluídas sem problema, como mostrado no exemplo a seguir:

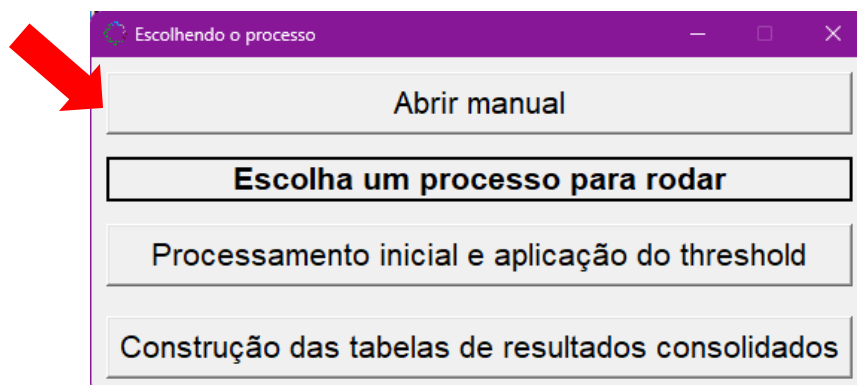
Amostra_sequenciamento	Tag	Area_amostrador	Ponto	Aliquota	Otu	N_contigs	id_%	Taxon
C1	TA	A1_MC	1	1	1	89654	100	Alouatta belzebul
C1	TA	A1_MC	1	1	2	542	100	Bos taurus
C1	TA	A1_MC	1	1	3	20	98.45	Bradypus variegatus
C1	TB	A1_MC	1	2	1	75234	100	Homo sapiens
C1	TB	A1_MC	1	2	2	400	99.95	Alouatta belzebul
C1	TB	A1_MC	1	2	3	45	98.98	Coendou prehensilis
C2	TA	A2_MC	2	1	1	47219	100	Homo sapiens
C2	TA	A2_MC	2	1	2	371	100	Bos taurus
C2	TB	A2_MC	2	2	1	65597	100	Sapajus flavius
C2	TB	A2_MC	2	2	2	586	97.56	Coendou sp.
C3	TA	A1_MQ	1	0	1	56076	100	Alouatta belzebul
C3	TA	A1_MQ	1	0	2	692	98.45	Gracilianus agilis
C3	TB	A1_MQ	2	0	1	66490	100	Homo sapiens
C3	TB	A1_MQ	2	0	2	293	98.68	Alouatta belzebul
C3	TB	A1_MQ	2	0	3	198	96.45	Didelphis sp.
C4	TA	A1_AG	1	0	1	79758	99.78	Bos taurus
C4	TA	A1_AG	1	0	2	550	100	Sylvilagus brasiliensis
C4	TA	A1_AG	1	0	3	60	98.45	Bradypus variegatus
C4	TB	A2_AG	1	0	1	71586	100	Homo sapiens
C4	TB	A2_AG	1	0	2	509	100	Alouatta belzebul

A partir daqui abra o programa e siga os seguintes passos:

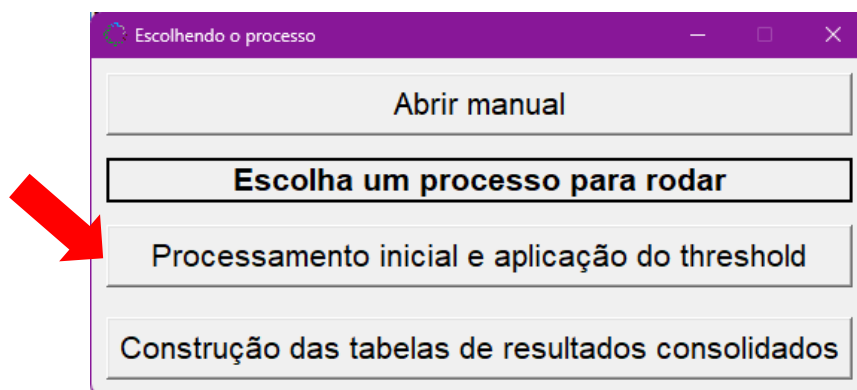
Passo 1: Selecione o idioma



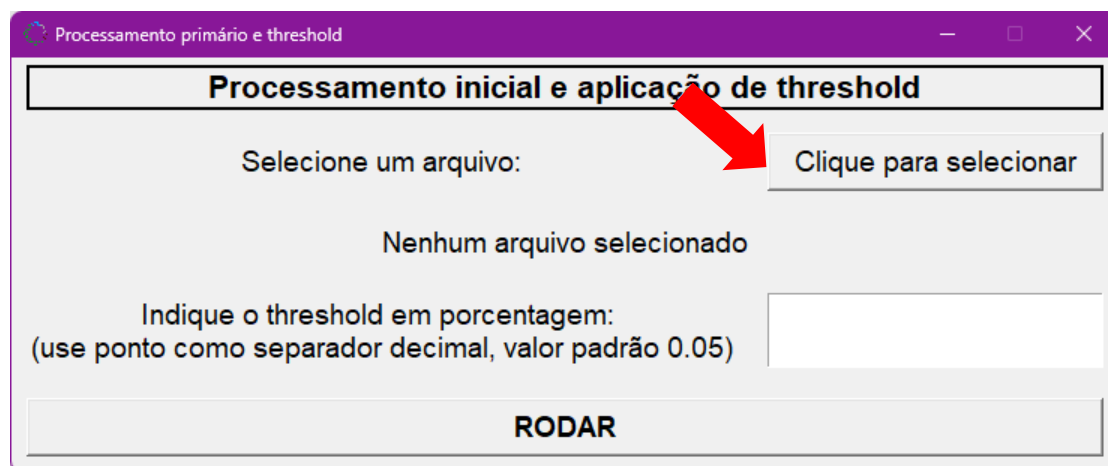
Passo 2: Você pode acessar o manual do programa clicando no botão “Abrir manual”



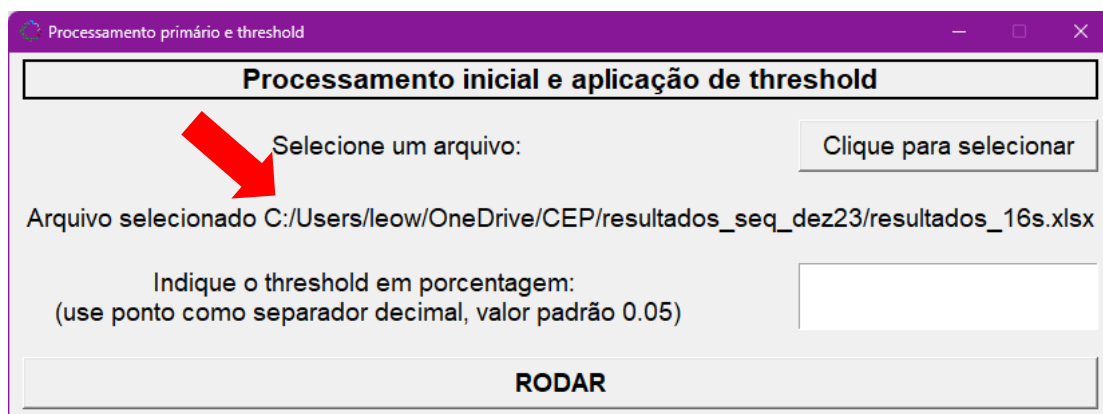
Passo 3: Clique no botão “Processamento da inicial a aplicação do threshold”



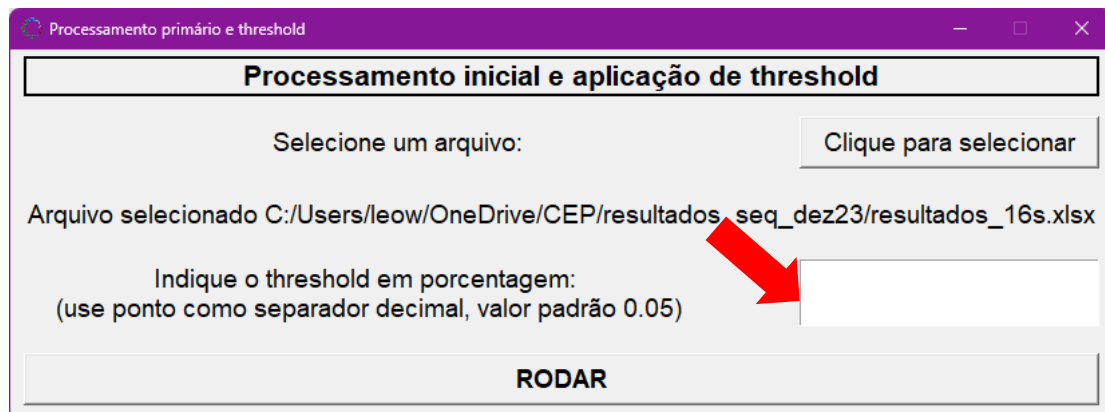
Passo 4: Selecione a tabela



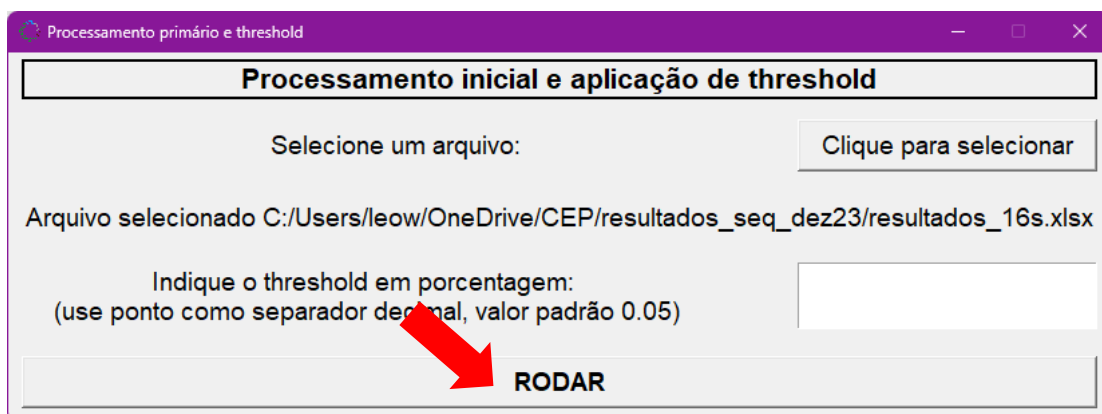
Assim que selecionar o arquivo o seu caminho será exibido, confira se está tudo certo.



Passo 5: O valor padrão para o *threshold* é de 0,05%, porém se desejar usar outro valor informe na caixa de texto usando ponto (.) como separador decimal



Passo 6: Clique em “RODAR”



Passo 7: Salve a tabela com o processamento que foi feito através do *threshold*.

Passo 8: Salve a tabela com as OTUs que foram eliminadas.

Passo 9: Salve a tabela com a lista de *threshold* calculados por amostra de sequenciamento.

Todas as tabelas podem ser salvas em formato .xlsx e .csv.

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 *contigs* abaixo do *threshold*.

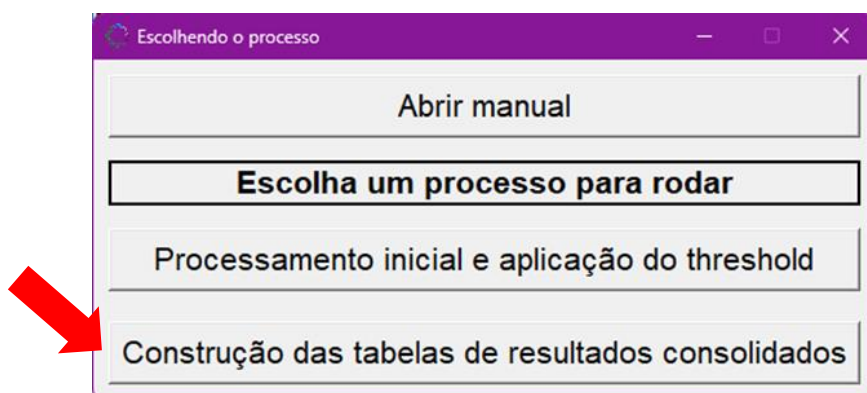
Construção das tabelas de resultados consolidados

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

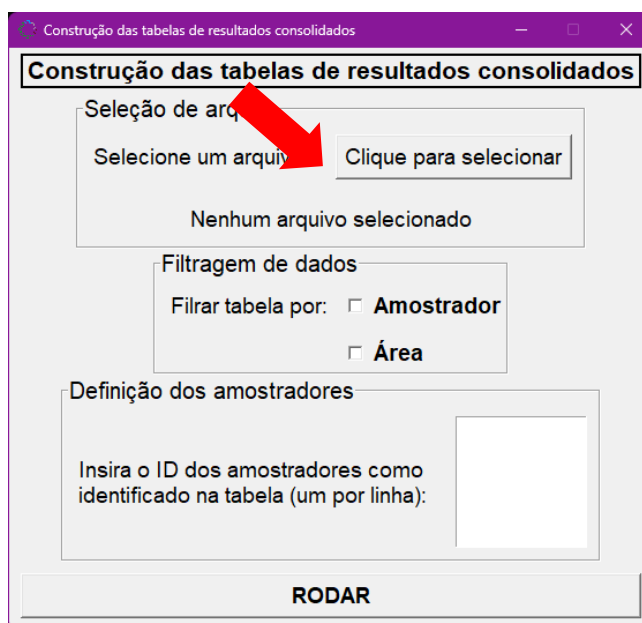
Arquivo de entrada: O arquivo de entrada é a tabela (em formato .xlsx ou .csv) com os resultados do processo anterior levemente alterada, deverá ser acrescentada uma coluna nomeada **OTUFinal**, que deverá conter a atribuição taxonômica definitiva após revisão dos resultados do processo anterior.

A partir daqui siga os seguintes passos:

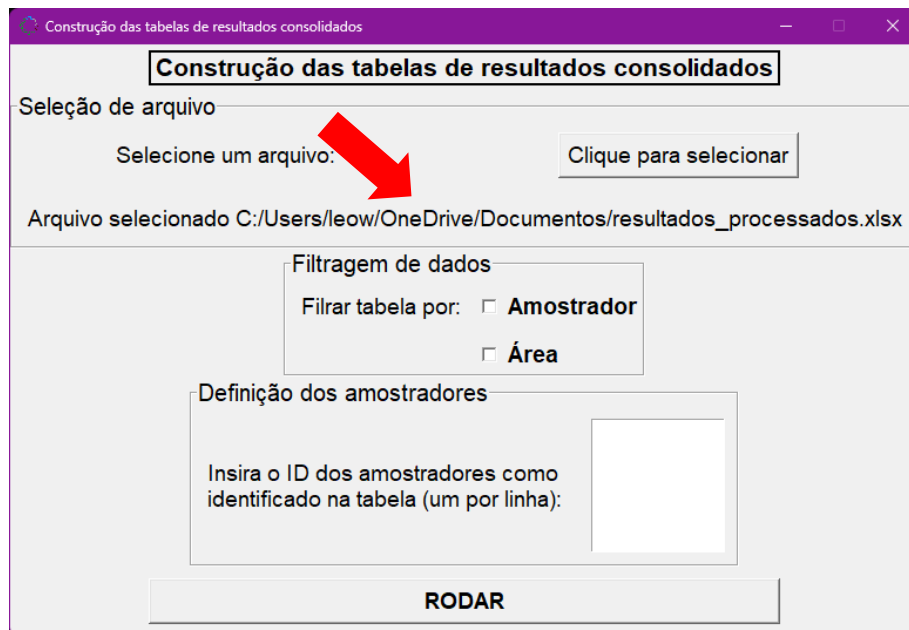
Passo 1: Clique no botão “Construção das tabelas de resultados consolidados”



Passo 2: Selecione a tabela



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



Construção das tabelas de resultados consolidados

Seleção de arquivo

Selecione um arquivo: Clique para selecionar

Arquivo selecionado C:/Users/leow/OneDrive/Documentos/resultados_processados.xlsx

Filtragem de dados

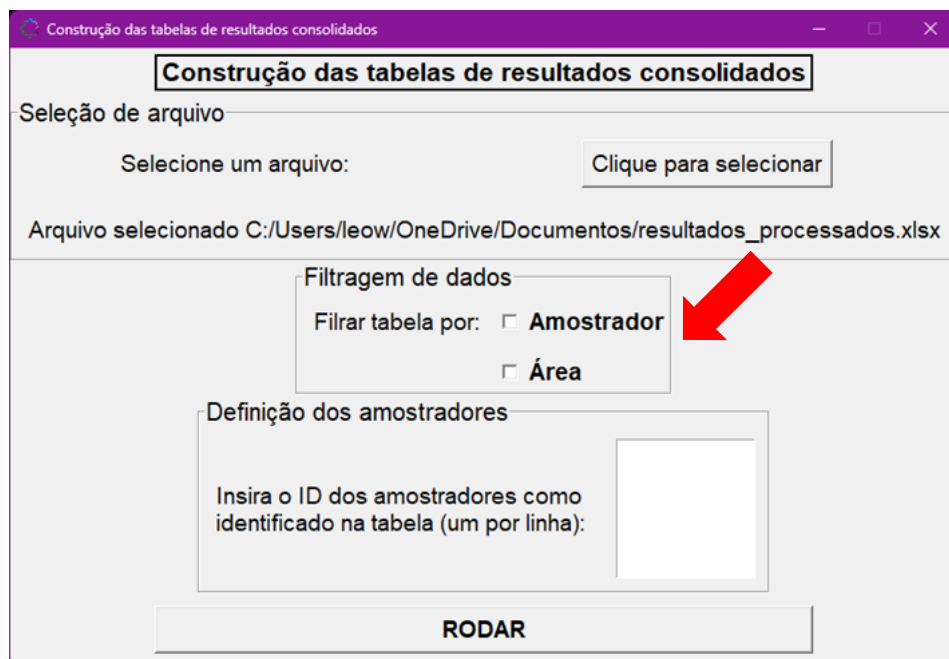
Filtrar tabela por: ☐ Amostrador ☐ Área

Definição dos amostradores

Insira o ID dos amostradores como identificado na tabela (um por linha):

RODAR

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



Construção das tabelas de resultados consolidados

Seleção de arquivo

Selecione um arquivo: Clique para selecionar

Arquivo selecionado C:/Users/leow/OneDrive/Documentos/resultados_processados.xlsx

Filtragem de dados

Filtrar tabela por: ☒ Amostrador ☐ Área

Definição dos amostradores

Insira o ID dos amostradores como identificado na tabela (um por linha):

RODAR

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.

Construção das tabelas de resultados consolidados

Seleção de arquivo

Selecione um arquivo: Clique para selecionar

Arquivo selecionado C:/Users/leow/OneDrive/Documentos/resultados_processados.xlsx

Filtragem de dados

Filtrar tabela por: ☒ Amostrador ☒ Área

Definição dos amostradores

Insira o ID dos amostradores como identificado na tabela (um por linha):

MC
MQ

RODAR

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

Passo 5: Clique em “RODAR”

Construção das tabelas de resultados consolidados

Seleção de arquivo

Selecione um arquivo: Clique para selecionar

Arquivo selecionado C:/Users/leow/OneDrive/Documentos/resultados_processados.xlsx

Filtragem de dados

Filtrar tabela por: ☒ Amostrador ☒ Área

Definição dos amostradores

Insira o ID dos amostradores como identificado na tabela (um por linha):

MC
MQ

RODAR

Passo 6: Salve a tabela com uma lista geral de táxons.

Passo 7: Salve as tabelas com as listas finais filtradas de acordo com as escolhas. Para salvar em formato .csv escolha a opção de salvar no formato .zip, assim as tabelas serão geradas em um arquivo compactado.

Todas as tabelas podem ser salvas em formato .xlsx e .csv.

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