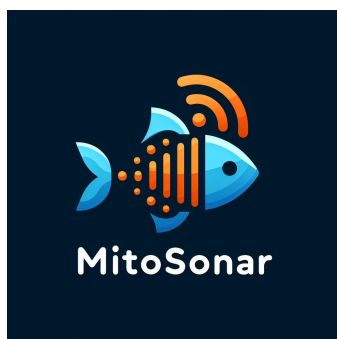


Laudo Metagenômico



Resumo do Serviço

Nome: MitoSonar - Metabarcoding 12s de Peixes.

Descrição geral: Identificação taxonômica de peixes através de comparação de amostras da região 12s do DNA mitocondrial contra um banco de dados de espécies conhecidas.

Versão do Relatório: 1.0

Data: 20/03/24

Amostra: Este laudo é referente à amostra pair-end de eDNA com identificador 827-60-AFAR-2022sep, que foi sequenciada e analisada em metabarcoding.

Banco de dados de mitogenomas: MitoFish, da Atmosphere and Ocean Research Institute, University of Tokyo, Japan.

Workflow da análise

Sequenciamento

As amostras foram sequenciadas utilizando a metodologia de sequenciamento do gene 12S do DNA mitocondrial.

Análise Bioinformática

Após o final do sequenciamento, foram executadas as análises bioinformáticas. Inicialmente as leituras geradas (no formato fastq) passaram por uma avaliação da qualidade das sequências utilizando o pacote R ShortRead. Em seguida, as sequências foram filtradas pela função fastqPairedFilter da ferramenta dada2, que também foi utilizada para a inferência das sequences. Após uma etapa de remoção de quimeras, foram construídas as tabelas de sequences e OTUs, e estas foram comparadas ao banco de dados de referência pelo software BLAST+, do NCBI.

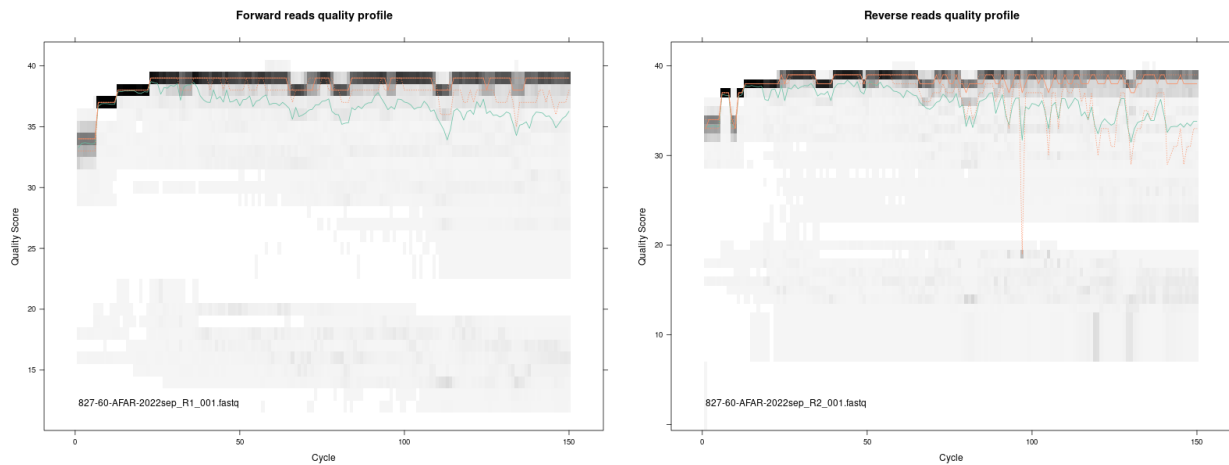
Limpeza dos dados

As leituras geradas no sequenciamento passaram por um processo de limpeza, sendo retirada as sequências de baixa qualidade e adaptadores utilizando funções dos pacotes ShortRead e dada2 do R, nas versões 1.60.0 e 1.30.0, respectivamente. Os seguintes parâmetros foram utilizados:

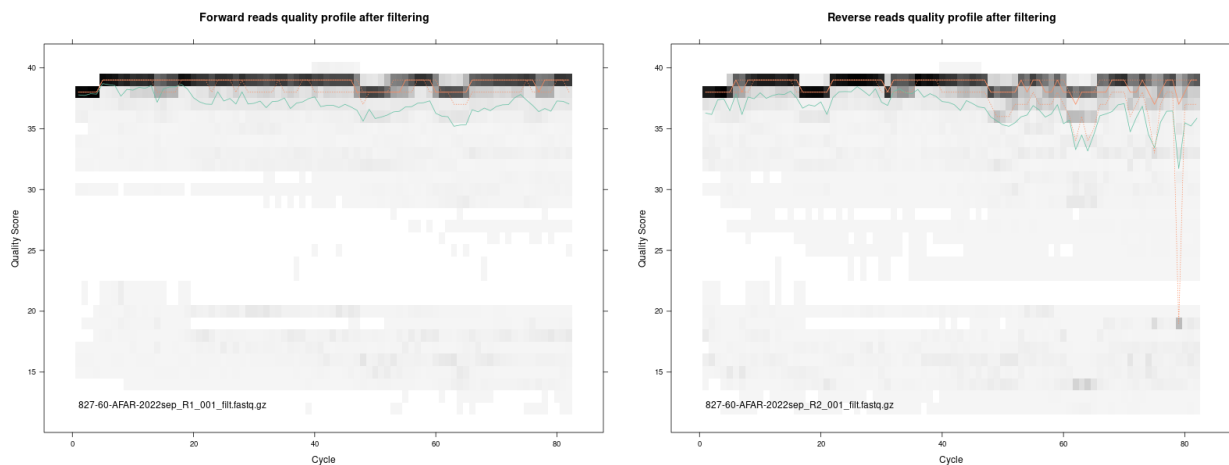
- Leituras com mais de 0 Ns foram removidas;
- Leituras com taxa de erros estimados superior a 2 foram removidas;
- Leituras contendo porções com taxa de erro superior a 2 truncadas na primeira ocorrência desta;
- Leituras menores que 100 pares de bases foram removidas, e as maiores, truncadas;
- As primeiras 18 bases foram removidas das leituras.

Perfis de qualidade dos dados antes e depois da limpeza das leituras

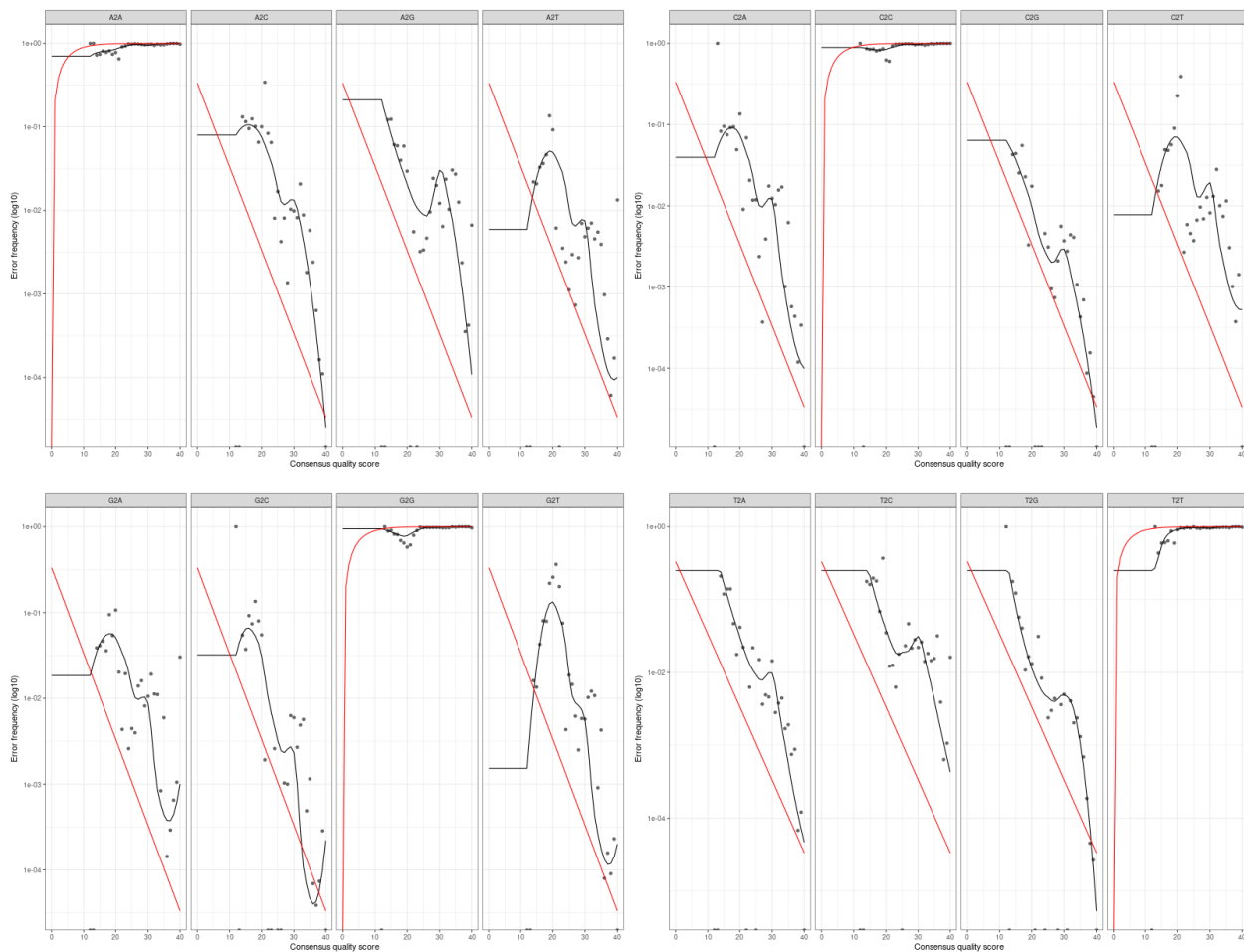
Antes da filtragem



Depois da filtragem

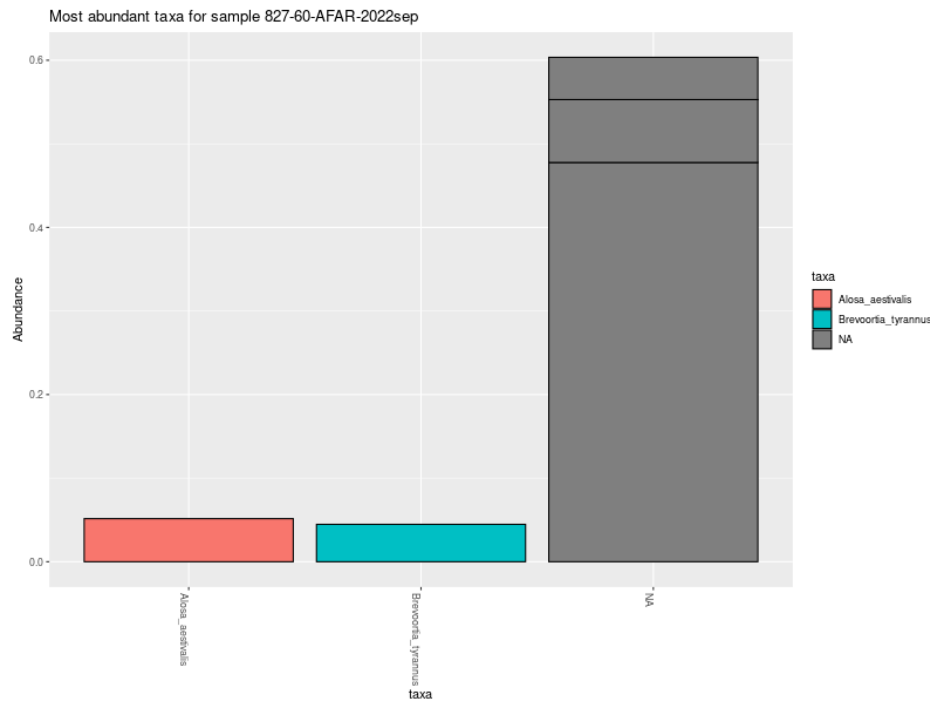


Estimativa de erros nas leituras por base



Identificação de taxonomias

Para identificação do organismo presente na amostra após o tratamento dos dados, foi utilizada a estratégia de comparação com o banco de dados MiFish.



Conclusão

Ao final da comparação podemos concluir que o material predominante pertence à espécie: **NA**.

Além disso, detectou-se grande presença de traços de *****

Referências

- CLAVER, C. et al. An automated workflow to assess completeness and curate GenBank for environmental DNA metabarcoding: The marine fish assemblage as case study. *Environmental DNA*, v. 5, n. 4, p. 634–647, jul. 2023.
- KELLY, R. P.; SHELTON, A. O.; GALLEGOS, R. Understanding PCR Processes to Draw Meaningful Conclusions from Environmental DNA Studies. *Scientific Reports*, v. 9, n. 1, p. 12133, 20 ago. 2019.
- MIYA, M. et al. MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species. *Royal Society Open Science*, v. 2, n. 7, p. 150088, jul. 2015.
- RIAZ, T. et al. ecoPrimers: inference of new DNA barcode markers from whole genome sequence analysis. *Nucleic Acids Research*, v. 39, n. 21, p. e145–e145, 1 nov. 2011.
- STOECKLE, M. Y. et al. Trawl and eDNA assessment of marine fish diversity, seasonality, and relative abundance in coastal New Jersey, USA. *ICES Journal of Marine Science*, v. 78, n. 1, p. 293–304, 24 mar. 2021.
- STOECKLE, M. Y. et al. Current laboratory protocols for detecting fish species with environmental DNA optimize sensitivity and reproducibility, especially for more abundant populations. *ICES Journal of Marine Science*, v. 79, n. 2, p. 403–412, 10 mar. 2022.

- STOECKLE, M. Y.; AUSUBEL, J. H.; COOGAN, M. 12S Gene Metabarcoding with DNA Standard Quantifies Marine Bony Fish Environmental DNA, Identifies Threshold for Reproducible Amplification, and Overcomes Distortion Due to Non-Fish Vertebrate DNA. [s.l.] Ecology, 2 ago. 2022. Disponível em: <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2022.07.29.502053>. Acesso em: 13 dez. 2023.
- STOECKLE, M. Y.; DAS MISHU, M.; CHARLOP-POWERS, Z. Improved Environmental DNA Reference Library Detects Overlooked Marine Fishes in New Jersey, United States. *Frontiers in Marine Science*, v. 7, p. 226, 5 maio 2020.
- STOECKLE, M. Y.; SOBOLEVA, L.; CHARLOP-POWERS, Z. Aquatic environmental DNA detects seasonal fish abundance and habitat preference in an urban estuary. *PLOS ONE*, v. 12, n. 4, p. e0175186, 12 abr. 2017.