

PAC1. Anàlisi de dades òmiques (M0-157)

Raúl García

2025-04-02

Contents

ABSTRACT	1
OBJECTIUS	1
MÈTODES	2
RESULTATS	2
DISCUSSIÓ	6
CONCLUSIONS	7
REFERÈNCIES	7
ANNEXOS	8
Annex 1. Diagrames de caixes de fatBIE i norm_fatBIE	8
Annex 2. Resum estadístic dels valors de PCA.	9
Annex 3. Nivells de metabolits de plantes sense la mutació i no tractades amb ferides.	9
Annex 4. Nivells de metabolits de plantes amb la mutació i no tractades amb ferides.	11
Annex 5. Nivells de metabolits de plantes sense la mutació i que van ser tractades amb ferides. . .	13
Annex 6. Nivells dels metabolits de plantes amb la mutació i que van ser tractades amb ferides. . .	16

ABSTRACT

S'ha portat a terme un anàlisi de dades òmiques emprant dades d'un estudi de dades metabolòmiques que s'han processat en un objecte de classe **SummarizedExperiment**. S'han realitzat una observació, un pre-processament i un posterior anàlisi exploratori per obtenir una visió general de les dades. Emprant l'anàlisi dels components principals (PCA), s'han pogut diferenciar les expressions dels metabolits per cadascun dels grups de plantes de l'estudi. Els resultats reflexen variacions de les expressions metabolòmiques, donant un canvi en les plantes que contenen la mutació a FatB i presenten ferides, suggerint que la producció dels metabolits es veu afectada per la seva resposta.

OBJECTIUS

El principal objectiu d'aquesta activitat és, a partir d'un dataset escollit, generar un objecte de classe **SummarizedExperiment** que contingui les dades i metadades d'aquest, i a partir de l'objecte generar un anàlisi exploratori que permeti obtenir una visió general de les dades prou extensa com per poder arribar a algunes conclusions sobre aquest.

Pel que fa a l'estudi, el seu objectiu va ser observar quines eren les conseqüències d'una mutació que es localitzava al gen FatB d'*Arabidopsis* en la resposta a les ferides.

MÈTODES

Es va escollir emprar les dades de l'estudi anomenat *Fatb Induction Experiment (FatBIE)*, que es pot trobar al següent enllaç. A la vegada, el DOI de l'estudi és: 10.21228/M8159B. Aquest tracta sobre una mutació (At1g08510) en el gen FatB de la planta *Arabidopsis*, de la qual es vol observar les conseqüències que comporta en la resposta de les plantes a ferides. Per tal de valorar quina és la seva resposta, analitzen els nivells de diferents metabolits produïts per la planta, i comparen aquests amb plantes amb o sense la mutació a les que els hi han fet ferides o que no els hi han fet.

L'elecció d'aquest estudi respecte altres va ser, a més de què a simple vista sembla que conté suficients dades i metadades com per poder portar a terme un objecte `SummarizedExperiment` amb contingut, per pròpia trajectòria personal. Anteriorment vaig estar un període de temps fent pràctiques al CRAG (Centre for Research in Agricultural Genomics), on vaig treballar just amb aquest tipus de planta. A més, un altre investigador del mateix laboratori treballava estudiant la resposta que tenien plantes d'*Arabidopsis* amb diferents genotips a ferides.

Per poder portar a terme l'assaig, es va crear un `SummarizedExperiment` que conté la informació (dades/metadades) de l'estudi. A partir d'aquest, es va procedir a realitzar l'anàlisi exploratori necessari, per tal de poder entendre els resultats de l'estudi i obtenir conclusions d'aquests.

Les llibreries emprades per poder generar tant l'objecte `SummarizedExperiment` com l'anàlisi exploratori van ser `jsonlite`, `metabolomicsWorkbenchR`, `SummarizedExperiment`, `tidyverse`, `POMA` i `ggplot2`, junt amb funcions bàsiques de R que no necessiten de l'instal·lació d'una llibreria per funcionar.

`SummarizedExperiment`, a diferència d'altres classes, permet una alta flexibilitat per tal d'emmagatzemar diferents tipus de dades. Més concretament, això es deu a que és capaç d'emmagatzemar diferents dades experimentals a la vegada en el mateix objecte, permetent a la vegada emmagatzemar i gestionar metadades tant per les diferents dades experimentals com per a la informació que es troba a les files i les columnes. Aquest fet diferencia aquest tipus de classe que la d'`ExpressionSet`, la qual funciona de forma similar, però està centrada en poder emmagatzemar dades d'expressions gèniques; aquest fet fa que aquesta classe tingui una estructura més rígida. Per tant, si es volen fer estudis de dades més variades, la millor opció seria emprar `SummarizedExperiment`. Cal recalcar que `SummarizedExperiment` és una extensió d'`ExpressionSet`, i és per això que son tan semblants entre sí.

RESULTATS

D'entre les diferents opcions existents per poder generar l'objecte `SummarizedExperiment`, es va decantar per l'ús de la llibreria `metabolomicsWorkbenchR`, que permet implementar en R les dades i metadades dels estudis de forma directe, emprant una funció junt amb certes condicions. Amb `do_query()` i les condicions `context = "study"`, `input_item = "study_id"` i `input_value = "ST000001"`, se li marca al programa l'estudi concret al que es vol adreçar, i emprant per últim `output_item = "SummarizedExperiment"` s'aconsegueix obtenir l'objecte de classe `SummarizedExperiment`. A continuació es pot veure un resum de la informació que contenia l'estudi seleccionat:

```
# `do_query()`, de metabolomicsWorkbenchR, ens permet generar un objecte de
# classe `SummarizedExperiment` de manera directe desde metabolomicsWorkbench.
# Aquest és un procés simple y senzill, degut que només se li ha d'indicar al
# programa el context (que s'ha d'indicar que es tracta d'un estudi) i quin és
# el seu identificador. Finalment, com a output s'indica que es generi l'objecte
# 'SummarizedExperiment'.
fatBIE <- do_query(context = "study", input_item = "study_id",
                  input_value = "ST000001", output_item = "SummarizedExperiment")
```

```
## class: SummarizedExperiment
## dim: 102 24
## metadata(8): data_source study_id ... description subject_type
```

```
## assays(1): ''
## rownames(102): ME000097 ME000096 ... ME000002 ME000001
## rowData names(3): metabolite_name metabolite_id refmet_name
## colnames(24): LabF_115811 LabF_115816 ... LabF_115924 LabF_115929
## colData names(7): local_sample_id study_id ... Arabidopsis_Genotype
## Plant_Wounding_Treatment
```

En el resultat es va veure que l'apartat **assay** no contenia un nom concret (ja que com només hi havia un assaig no era necessari diferenciar-lo de cap més). En cas de voler-li afegir un nom, es pot fer ús d'**assayNames()**. De la mateixa forma, la metadata que es trobava a l'objecte feia referència a d'on s'havia obtingut el **SummarizedExperiment**, però no de l'estudi en concret. Per solucionar-ho, es va fer ús de les dades JSON de l'estudi. Carregant aquestes al programa emprant la llibreria **jsonlite**, es va aconseguir extreure tota la informació que es va considerar com a metadata i es va introduir al **SummarizedExperiment**, substituïnt la informació antiga per aquesta de més interès.

Es va fer una observació de la segona observació de la metadata per veure quina informació contenia i com aquesta estava estructurada.

```
## $Study
## $Study$STUDY_TITLE
## [1] "Fatb Induction Experiment (FatBIE)"
##
## $Study$STUDY_TYPE
## [1] "Genotype treatment"
##
## $Study$STUDY_SUMMARY
## [1] "This experiment tests the consequence of a mutation at the FatB gene in the wound-response of A
##
## $Study$INSTITUTE
## [1] "University of California, Davis"
##
## $Study$DEPARTMENT
## [1] "Davis Genome Center"
##
## $Study$LABORATORY
## [1] "Fiehn"
##
## $Study$LAST_NAME
## [1] "Kind"
##
## $Study$FIRST_NAME
## [1] "Tobias"
##
## $Study$ADDRESS
## [1] "451 E. Health Sci. Drive, Davis, CA 95616, USA"
##
## $Study$EMAIL
## [1] "tkind@ucdavis.edu"
##
## $Study$PHONE
## [1] "-"
##
## $Study$NUM_GROUPS
## [1] "4"
##
## $Study$TOTAL_SUBJECTS
## [1] "24"
```

Es pot veure com la metadata ara conté informació sobre l'estudi i l'investigador principal que el va dur a terme.

Un cop vista la informació de les dades i la metadada del `SummarizedExperiment` de forma ràpida, es va procedir a fer un breu anàlisi de les dades. Com a primer pas es va decidir fer ús de `dim()` per obtenir les dimensions de l'assaig; en altres paraules, el nombre d'observacions i de variables.

Es va veure que l'estudi contenia un total de 102 observacions que feien referència a diferents metabolits, relacionats amb 24 columnes, que eren les mostres que s'havien utilitzat en aquest. Per obtenir el nom d'aquestes, es va emprar `colnames()`

```
## [1] "LabF_115811" "LabF_115816" "LabF_115821" "LabF_115826" "LabF_115831"
## [6] "LabF_115836" "LabF_115842" "LabF_115847" "LabF_115852" "LabF_115857"
## [11] "LabF_115862" "LabF_115867" "LabF_115873" "LabF_115878" "LabF_115883"
## [16] "LabF_115888" "LabF_115893" "LabF_115898" "LabF_115904" "LabF_115909"
## [21] "LabF_115914" "LabF_115919" "LabF_115924" "LabF_115929"
```

A partir de l'objecte creat anteriorment, es va utilitzar `colData()` per tal d'obtenir la informació addicional de les mostres. Es va utilitzar `head()` per observar només la informació de les 6 primeres mostres, ja que no és necessari imprimir-les totes per tenir una idea de quina informació contenen.

```
## DataFrame with 6 rows and 7 columns
##           local_sample_id  study_id sample_source mb_sample_id  raw_data
##           <character> <character>  <character>  <character> <character>
## LabF_115811  LabF_115811  ST000001      Plant  SA000001
## LabF_115816  LabF_115816  ST000001      Plant  SA000002
## LabF_115821  LabF_115821  ST000001      Plant  SA000003
## LabF_115826  LabF_115826  ST000001      Plant  SA000004
## LabF_115831  LabF_115831  ST000001      Plant  SA000005
## LabF_115836  LabF_115836  ST000001      Plant  SA000006
##           Arabidopsis_Genotype Plant_Wounding_Treatment
##           <factor> <factor>
## LabF_115811  Wassilewskija (Ws)      Wounded
## LabF_115816  Wassilewskija (Ws)      Wounded
## LabF_115821  Wassilewskija (Ws)      Wounded
## LabF_115826  Wassilewskija (Ws)      Wounded
## LabF_115831  Wassilewskija (Ws)      Wounded
## LabF_115836  Wassilewskija (Ws)      Wounded
```

Es va observar que cada mostra contenia un ID de l'estudi (siguent aquest el mateix per totes), la font de la que provenia la mostra (que en aquest cas tot eren plantes) i un ID per dintre de *metabolomicsWorkbench* (`mb_sample_id`). Aquest últim identificador sí que era únic per cada mostra. També es va observar que també contenia informació pel genotip de la planta (*wassilewskija (Ws)* o *fatb-ko KD*), siguent la segona la que representava a les plantes amb la mutació a *fatB*. Per finalitzar, `Plant_Wounding_Treatment` indicava si la planta havia estat ferida (*Wounded*) o no (*Control - Non-Wounded*).

De la mateixa manera es va obtenir la informació de les files amb `rowData()`. També es va decidir per només mostrar els 6 primers resultats.

```
## DataFrame with 6 rows and 3 columns
##           metabolite_name metabolite_id  refmet_name
##           <character> <character> <character>
## ME000097  1,2,4-benzenetriol  ME000097  1,2,4-Trihydroxybenz..
## ME000096  1-monostearin  ME000096  MG 18:0/0:0/0:0
## ME000098  2-hydroxyvaleric acid  ME000098  2-Hydroxyvaleric acid
## ME000095  3-phosphoglycerate  ME000095  3-Phosphoglyceric acid
## ME001834  5-hydroxynorvaline N..  ME001834  2-Amino-5-hydroxypen..
## ME000092  adenosine  ME000092  Adenosine
```

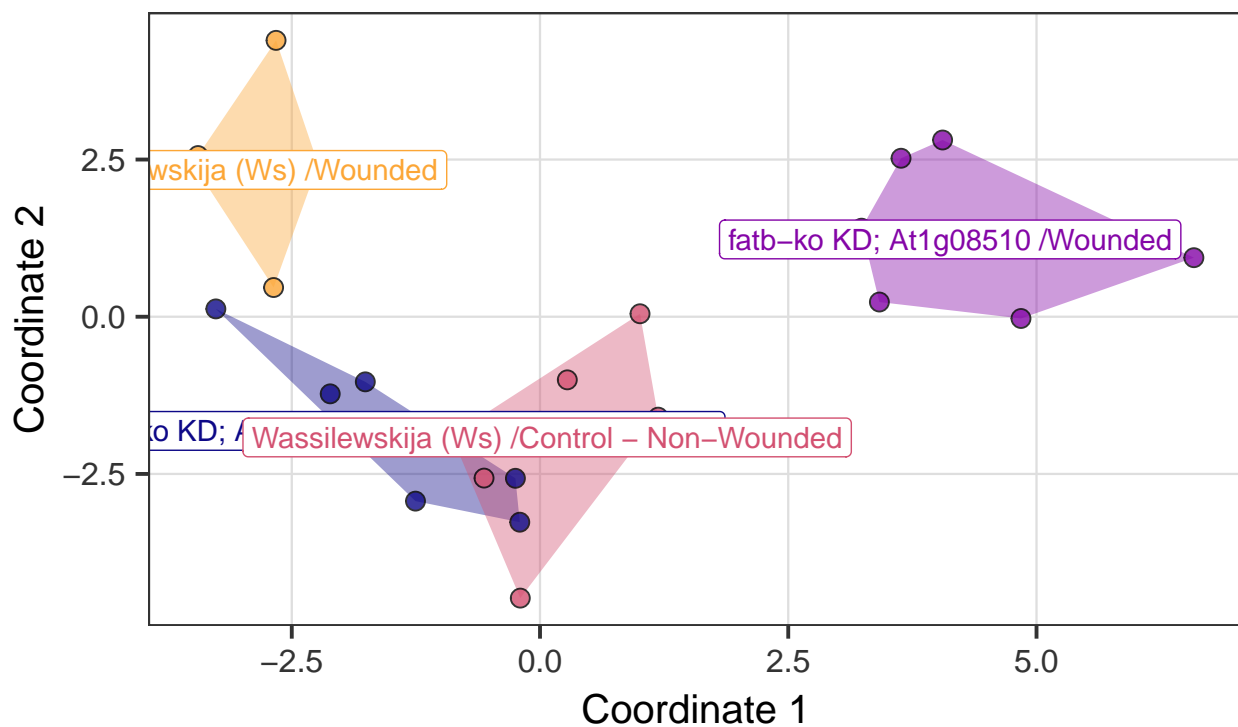
En aquest cas, es va observar que a les dades apareixia l'identificador del metabolit i no el nom d'aquest, de forma que es va decidir emprar la funció `rownames()` per canviar-ho i que aparegués el nom.

```
## [1] "1,2,4-benzenetriol"      "1-monostearin"
## [3] "2-hydroxyvaleric acid"    "3-phosphoglycerate"
## [5] "5-hydroxynorvaline NIST" "adenosine"
```

Per tal de poder fer un estudi més exhaustiu, es va procedir amb l'anàlisi de components principals (PCA), per tal d'intentar observar algun patró en les dades o identificar diferents poblacions en aquestes. Es van generar dos gràfics diferents, una d'elles pel genotip de la planta i un d'altre pel tractament que se li havia aplicat en aquesta.

Primer de tot, es va portar a terme una normalització de les dades, per tal de disminuir les diferències de valors entre elles i que totes es trobessin amb una *background* similar. Es va observar amb un parell de diagrames de caixes com un cop feta la normalització les dades es trobaven més equilibrades (es poden trobar a l'Annex).

Amb les dades normalitzades, es genera un gràfic d'*outliers* amb `PomaOutliers()` per tal d'observar la repartició dels diferents grups mitjançant la metadata de factors. Per fer-ho, es va generar un nou grup de metadata que contenia la informació pels dos factors, `Arabidopsis_Genotype` i `Plant_Wounding_Treatment`.

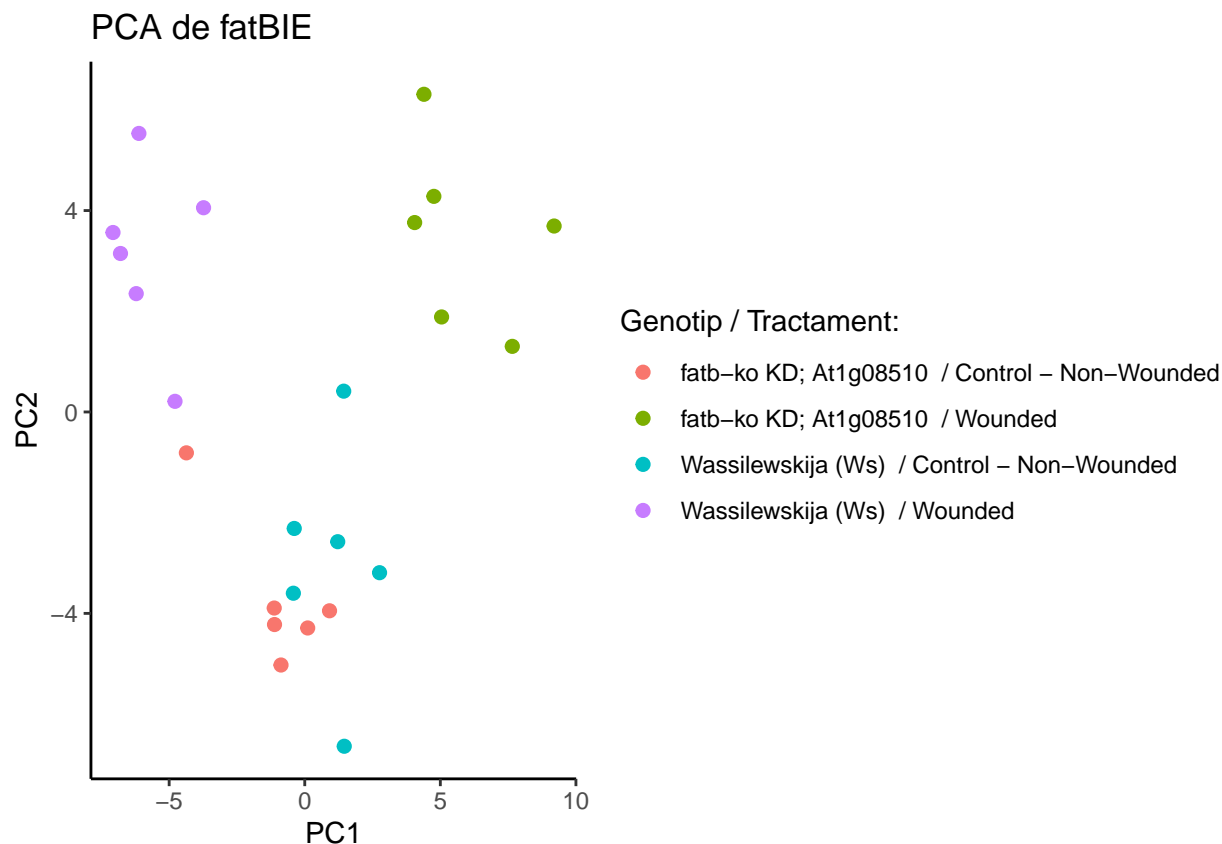


· Non-Wounded ● fatb-ko KD; At1g08510 /Wounded ● Wassilewskija (Ws) /Control - Non-Wounded

Es va observar com els grups de plantes que no havien sigut tractades amb ferides representaven una representació molt similar. EL grup de plantes sense mutació però que havien sigut sotmeses a ferides es trobaven lleugerament desplaçades cap a l'esquerra de l'eix X i més cap a munt de l'eix Y. Per últim, les plantes que tenien la mutació i havien estat sotmeses a ferides demostraven estar representades més cap amunt i molt més cap a la dreta dels demás grups. Per tant, aquests resultats van suggerir que la presència de la mutació representava un canvi als nivells metabòlics de la planta com a resposta a un estrès com seria una ferida.

A partir d'aquest gràfic es van obtenir les dades, les quals es van guardar com a dades processades. Amb aquestes dades, es va procedir a fer un gràfic de les PCA. Aquest es va fer amb `prcomp()` sobre la transposada

de les dades processades. D'aquest, es van obtenir les dades per un parell de les PCAs i es van graficar emprant la funció `ggplot()`.



Amb aquest últim gràfic, es va arribar a la conclusió de que es podien diferenciar 3 grups diferents: primer de tot, un que consistia en les plantes que tenien o no la mutació, però que no havien estat sotmeses a una ferida. Per altra banda, es va concloure que la mutació afecta a la resposta de les plantes a ferides a nivell metabòlic degut que els dos grups s'observaven completament distanciats en el gràfic de PCA.

Per tant, de l'anàlisi exploratori es va concloure que el fet de que una planta tingués la mutació no afectava de forma directa als nivells de metabolits quan aquesta planta que no tenia cap ferida, però quan aquesta sí que la tenia es donava una resposta diferent tant de les plantes que no tenien ferides com de les que sí que tenien la mutació al seu genoma. Aquesta diferència, a la vegada, es va veure que era molt més significativa en el grup de plantes que tenien la mutació. Aquests resultats es poden confirmar fent-li una ullada als resultats del annexos, on s'han disposat els diferents nivells de cada metabolit per cadascuna de les agrupacions.

DISCUSSIÓ

En resum, es van poder observar tres nivells metabòlics diferents. Per una banda es va veure que tant les plantes sense mutació com les que la tenien si no havien sigut tractades amb una ferida i, per tant, no tenien aquest estrès al que havien de respondre, expressaven uns nivells de metabolits similars entre elles. Per altra banda, si a una planta sense la mutació al gen FatB se li feia una ferida, aquests nivells es veien alterats; el mateix va passar amb les plantes que tenien la mutació i rebien una ferida.

Les principals limitacions que se li podrien trobar en aquest estudi i aquestes dades podria ser la quantitat d'aquests, ja que 24 mostres per cada grup (excepte un cas on n'hi ha 30) es podrien considerar poques com per extreure unes conclusions clares, sobretot seguint un factor que pot variar tant entre individus per diferents factors tant interns com externs.

Pel que fa a la creació de l'objecte `SummarizedExperiment`, es podrien veure certes limitacions a com està creat. Primerament, està el fet que la funció `do_query()` no implementa correctament tota la metadata que es pot trobar a la pàgina web de l'estudi, pel que si es vol introduir també aquesta en l'objecte és necessari fer-ho manualment. Aquest fet també comporta a que es necessiti d'una altra font d'informació (com seria JSON) per poder-ho dur a terme. Pel que fa a l'anàlisi exploratòria, es podria haver fet una anàlisi més exhaustiva i amb alguna informació més primordial, però amb l'anàlisi portada a terme sembla suficient com per poder observar quins resultats es poden obtenir de l'estudi.

CONCLUSIONS

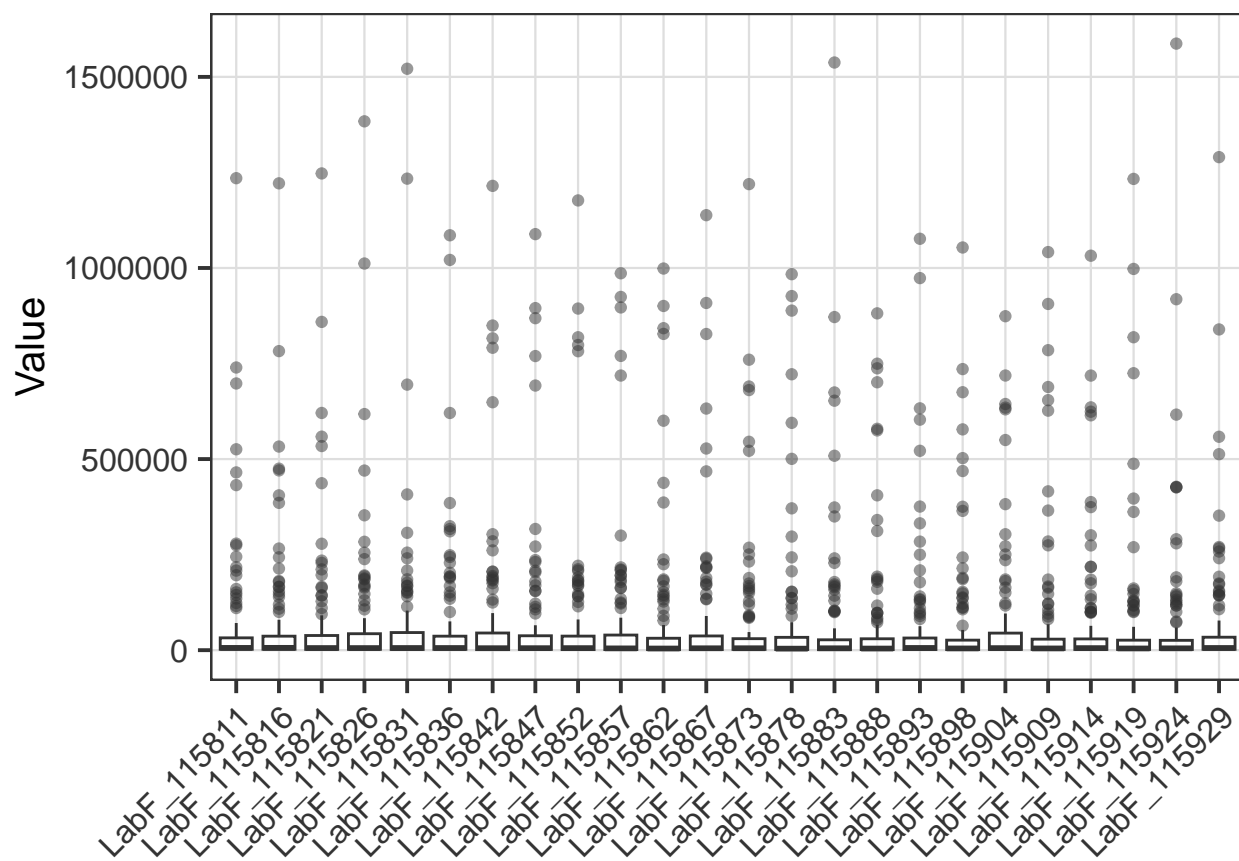
- Amb `do_query()` no s'aconsegueix extreure tota la metadata de l'estudi.
- En situacions normals, les plantes amb mutacions no demostren diferències amb els controls.
- Les plantes sense mutació i amb ferida demostren una diferència metabolòmica significativa amb les que no en tenen.
- Les plantes amb mutacions veuen afectats els seus nivells metabolòmics quan tenen una ferida.
- Les plantes amb mutacions i ferides presenten diferències significatives a nivells metabolòmics amb els altres grups.

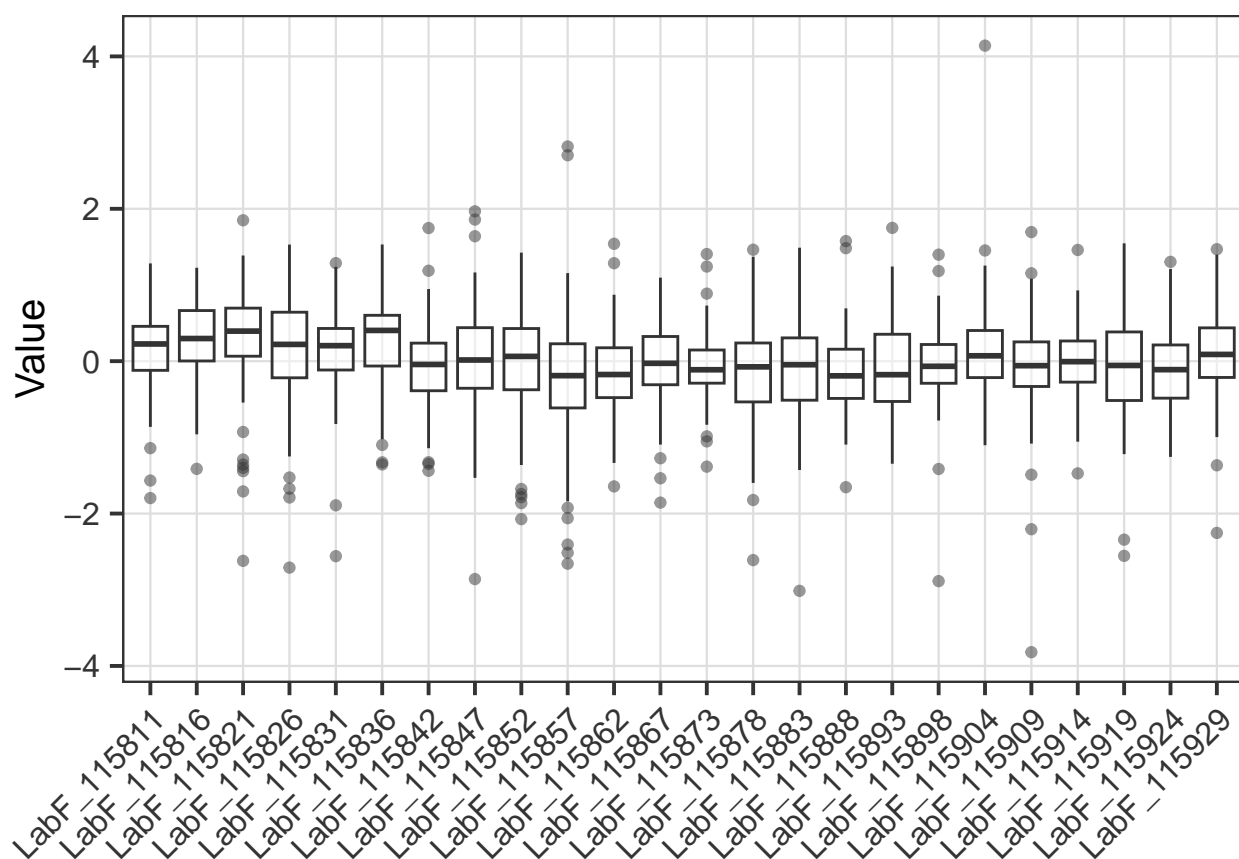
REFERÈNCIES

1. Repositori GitHub: <https://github.com/raulg3112/Garcia-Gonzalo-Raul-PEC1.git>.
2. *FATb Induction Experiment FatBIE*. <https://www.metabolomicsworkbench.org/data/DRCCMetadata.php?Mode=Study&StudyID=ST000001>. DOI: 10.21228/M8159B.
3. *Example Using structToolbox*. <https://bioconductor.org/packages/release/bioc/vignettes/SummarizedExperiment/inst/doc/SummarizedExperiment.html>.
4. *SummarizedExperiment for Coordinating Experimental Assays, Samples and Regions of Interest*. <https://bioconductor.org/packages/release/bioc/vignettes/SummarizedExperiment/inst/doc/SummarizedExperiment.html#introduction>.
5. *ExpressionSet and SummarizedExperiment*. <https://www.sthda.com/english/wiki/expressionset-and-summarizedexperiment#licence>.
6. *Get Started*. Pol Castellano-Escuder, Ph.D. <https://bioconductor.org/packages/release/bioc/vignettes/POMA/inst/doc/POMA-workflow.html>
7. Anàlisis de Componentes Principales (PCA). https://rpubs.com/cristina_gil/pca.

ANNEXOS

Annex 1. Diagrames de caixes de fatBIE i norm_fatBIE.





Annex 2. Resum estadístic dels valors de PCA.

```
## Importance of components:
##
##          PC1      PC2      PC3      PC4      PC5      PC6      PC7
## Standard deviation  4.5338  3.8374  3.18613  2.97686  2.64102  2.42312  2.25684
## Proportion of Variance 0.2015  0.1444  0.09952  0.08688  0.06838  0.05756  0.04993
## Cumulative Proportion 0.2015  0.3459  0.44542  0.53230  0.60068  0.65824  0.70818
##
##          PC8      PC9      PC10     PC11     PC12     PC13     PC14
## Standard deviation  2.17617  1.95605  1.78582  1.57780  1.55090  1.43691  1.3661
## Proportion of Variance 0.04643  0.03751  0.03127  0.02441  0.02358  0.02024  0.0183
## Cumulative Proportion 0.75461  0.79212  0.82338  0.84779  0.87137  0.89161  0.9099
##
##          PC15     PC16     PC17     PC18     PC19     PC20     PC21
## Standard deviation  1.31075  1.22213  1.13111  1.01524  0.93750  0.9254  0.90541
## Proportion of Variance 0.01684  0.01464  0.01254  0.01011  0.00862  0.0084  0.00804
## Cumulative Proportion 0.92675  0.94140  0.95394  0.96404  0.97266  0.9811  0.98909
##
##          PC22     PC23     PC24
## Standard deviation  0.78386  0.70576  7.016e-16
## Proportion of Variance 0.00602  0.00488  0.000e+00
## Cumulative Proportion 0.99512  1.00000  1.000e+00
```

Annex 3. Nivells de metabolits de plantes sense la mutació i no tractades amb ferides.

```
##      LabF_115811  LabF_115816  LabF_115821  LabF_115826  LabF_115831  LabF_115836
##      <num>      <num>      <num>      <num>      <num>      <num>
## 1:      22417      32062      37686      15180      50264      46282
## 2:       610       1113       851       884       888       948
```

## 3:	196116	154345	165784	185200	185399	248457
## 4:	208216	213580	196640	167437	240358	188624
## 5:	5625	5964	4591	5658	6287	4960
## 6:	257	1174	1074	1317	843	972
## 7:	7104	5588	7981	8596	7565	7878
## 8:	431890	405053	278425	255206	208333	202302
## 9:	1235014	1221490	1247389	1383749	1521353	1085594
## 10:	7769	10492	22525	7896	1564	7033
## 11:	39663	38545	44057	50458	46401	43978
## 12:	1181	1302	1384	797	799	1395
## 13:	1731	1957	1798	2214	1303	1626
## 14:	1202	1230	1534	1542	1377	1693
## 15:	2423	2697	3045	3519	4391	2734
## 16:	5649	6204	4122	2349	5752	5657
## 17:	2553	3671	3972	4005	4468	3630
## 18:	1298	1369	1357	877	1027	1143
## 19:	465113	470295	558622	283620	694837	324449
## 20:	18800	20725	19685	18812	20103	19059
## 21:	522	745	816	411	651	695
## 22:	22315	23408	29917	19787	27789	24533
## 23:	10149	9420	9973	2078	5782	14733
## 24:	34014	35576	43483	83729	91920	29028
##	LabF_115811	LabF_115816	LabF_115821	LabF_115826	LabF_115831	LabF_115836
##	LabF_115842	LabF_115847	LabF_115852	LabF_115857	LabF_115862	LabF_115867
##	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>
## 1:	27827	25459	26485	23088	20565	24915
## 2:	905	1240	1012	938	859	1043
## 3:	193989	154463	169905	134135	152265	179077
## 4:	185060	207878	182640	195754	181544	189012
## 5:	8823	40246	8547	85013	27673	6983
## 6:	574	728	211	418	609	869
## 7:	8445	7871	7236	6764	6048	7566
## 8:	261095	230805	190516	216632	224913	241988
## 9:	1214876	1088569	1176823	986149	998619	1138210
## 10:	18720	19913	16046	21631	17121	12734
## 11:	39350	40561	31684	39732	31715	35724
## 12:	783	805	386	958	743	771
## 13:	525	822	1248	551	732	936
## 14:	563	1005	1229	825	1062	899
## 15:	1825	3416	3054	909	3629	3706
## 16:	3818	3462	3648	3446	3358	3848
## 17:	4055	5422	5080	5335	4862	5020
## 18:	471	754	543	590	536	511
## 19:	816033	769579	893830	924261	900614	908471
## 20:	14173	10803	14991	15394	14574	14718
## 21:	376	480	898	169	556	510
## 22:	21463	22911	41983	21168	18964	19541
## 23:	13997	9184	19716	9873	15886	21818
## 24:	62656	39767	29414	26390	41740	37686
##	LabF_115842	LabF_115847	LabF_115852	LabF_115857	LabF_115862	LabF_115867
##	LabF_115873	LabF_115878	LabF_115883	LabF_115888	LabF_115893	LabF_115898
##	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>
## 1:	16177	24611	23768	26265	23398	19528
## 2:	683	1047	734	586	387	688
## 3:	167774	136767	373437	192416	249959	189174
## 4:	156470	152975	172271	183800	126211	152607
## 5:	6061	6383	5422	4966	2600	4431

## 6:	742	886	850	996	591	652
## 7:	6826	7291	3991	4484	7714	6850
## 8:	250433	242858	349891	340639	284022	364440
## 9:	1219442	983821	1537672	881268	1076451	1053644
## 10:	10516	18710	7727	19606	5116	12991
## 11:	30227	34811	29319	30886	33532	32354
## 12:	500	557	784	1015	548	1020
## 13:	1182	1353	1301	1516	1102	1264
## 14:	1005	1193	1343	1097	1010	1185
## 15:	1987	2509	3057	2459	2097	2584
## 16:	4743	3073	3366	3447	3662	4365
## 17:	3244	3166	3771	3237	2910	3662
## 18:	1137	1078	885	838	661	763
## 19:	545280	926506	674347	749637	375771	375298
## 20:	16477	18885	14140	13466	15416	16778
## 21:	632	460	1343	428	520	373
## 22:	18516	16132	15169	15178	25586	17995
## 23:	5375	2218	14043	10771	17802	9330
## 24:	13879	23526	19171	37881	51367	23069
##	LabF_115873	LabF_115878	LabF_115883	LabF_115888	LabF_115893	LabF_115898
##	LabF_115904	LabF_115909	LabF_115914	LabF_115919	LabF_115924	LabF_115929
##	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>
## 1:	29214	23914	24339	23111	16368	38112
## 2:	662	759	487	470	604	510
## 3:	184971	166504	218190	396681	190545	172219
## 4:	150584	147358	132985	130527	121826	152121
## 5:	6114	5185	5716	4356	4699	5249
## 6:	1163	661	734	957	871	686
## 7:	7767	6826	6073	5703	6173	8279
## 8:	382033	365318	374337	361825	290242	240590
## 9:	873841	1041650	1032124	1233087	1587140	1290010
## 10:	16857	15850	18593	5239	12929	12192
## 11:	37867	38860	38507	32235	25803	31749
## 12:	1018	561	979	1115	425	546
## 13:	1498	1440	1423	1370	1267	1358
## 14:	868	897	957	1182	839	1341
## 15:	2358	2611	2528	2590	2939	2566
## 16:	4466	3740	4296	2929	3919	5493
## 17:	3211	3142	3181	3442	3350	3693
## 18:	977	836	1212	690	782	1130
## 19:	644142	688606	718520	487692	427588	512823
## 20:	19426	17990	17626	15385	15105	17277
## 21:	545	488	644	380	522	518
## 22:	19008	16439	20073	20793	19975	24793
## 23:	9614	1312	9767	25548	4230	8605
## 24:	76735	36752	58216	127485	74984	14067
##	LabF_115904	LabF_115909	LabF_115914	LabF_115919	LabF_115924	LabF_115929

Annex 4. Nivells de metabolits de plantes amb la mutació i no tractades amb ferides.

##	LabF_115811	LabF_115816	LabF_115821	LabF_115826	LabF_115831	LabF_115836
##	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>
## 1:	5194	5444	7949	5546	5208	3785
## 2:	2445	2716	4819	7603	5843	3120
## 3:	7069	8227	4463	6047	5044	4832

## 4:	2693	3129	3226	1378	3654	5738
## 5:	7466	6036	5306	6856	7188	8495
## 6:	217051	242998	234347	195741	176201	192702
## 7:	278803	181015	534059	238196	407513	243905
## 8:	4730	3879	4056	354	5514	4150
## 9:	144530	146610	163175	130360	168677	228731
## 10:	539	627	359	657	395	146
## 11:	2280	2039	2564	3850	3577	2619
## 12:	274357	385465	142510	469969	255285	310945
## 13:	904	662	806	766	759	588
## 14:	18307	22485	18567	27016	17372	22090
## 15:	12707	14185	16733	14507	13234	14923
## 16:	5039	8478	15763	6703	7687	5127
## 17:	16679	12493	12195	3168	12241	43280
## 18:	71021	79621	38192	71978	103466	75306
## 19:	123499	139126	127771	187813	140980	167928
## 20:	5269	6108	8779	13449	6883	5424
## 21:	50225	57689	72473	45618	65762	34745
## 22:	1568	993	536	1007	605	1001
## 23:	9301	10412	12459	8416	11111	8855
## 24:	4130	4985	4899	4272	3679	4524
##	LabF_115811	LabF_115816	LabF_115821	LabF_115826	LabF_115831	LabF_115836
##	LabF_115842	LabF_115847	LabF_115852	LabF_115857	LabF_115862	LabF_115867
##	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>
## 1:	3709	3089	2897	2131	2779	2685
## 2:	789	1869	1766	1837	2048	1512
## 3:	4078	5188	6140	4752	3322	4555
## 4:	3565	3558	2986	3325	3017	3483
## 5:	5118	3123	5182	1217	4740	4477
## 6:	182455	155475	211644	195527	167064	215698
## 7:	648700	692392	798504	718573	827500	527648
## 8:	1363	2964	2837	2779	2535	2115
## 9:	204955	203557	207767	162375	127301	172366
## 10:	179	328	435	685	264	298
## 11:	2856	2133	2994	2351	1955	2811
## 12:	189880	235648	175868	209098	185169	215896
## 13:	642	515	651	713	508	902
## 14:	15321	20578	15616	13331	10406	16958
## 15:	9875	8621	11477	9608	9918	8871
## 16:	1146	3462	1322	2584	2241	1974
## 17:	11339	17873	16990	14695	15741	12014
## 18:	49907	53545	37942	184586	600349	58690
## 19:	160651	169694	147063	110276	133006	134416
## 20:	8061	7355	7106	1972	7268	11379
## 21:	78700	65136	73347	63272	77425	89417
## 22:	446	505	600	7826	728	553
## 23:	15187	14067	16093	4760	14931	15893
## 24:	3507	5148	4913	3265	3681	4415
##	LabF_115842	LabF_115847	LabF_115852	LabF_115857	LabF_115862	LabF_115867
##	LabF_115873	LabF_115878	LabF_115883	LabF_115888	LabF_115893	LabF_115898
##	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>
## 1:	6833	4854	3298	3723	6027	4593
## 2:	2457	2640	2579	1728	847	1547
## 3:	7725	5312	2832	2982	10321	6783
## 4:	2349	2986	3621	3047	3277	3402
## 5:	6225	4110	8511	7182	8869	6193
## 6:	174461	206360	178303	178766	133263	185798

## 7:	231965	594793	652762	700994	331879	468690
## 8:	3681	3367	2489	1910	4074	2432
## 9:	149797	119256	102457	97919	131423	121472
## 10:	315	307	209	337	445	283
## 11:	3037	2389	2138	1548	1918	2133
## 12:	268140	297306	228418	186816	177888	214239
## 13:	676	636	513	479	825	468
## 14:	12203	13891	17562	15253	13124	15177
## 15:	9612	11870	13643	11833	7834	9670
## 16:	1140	1473	603	1287	722	611
## 17:	7906	4845	17253	22555	22134	23190
## 18:	680528	721940	168441	737457	973531	674933
## 19:	128092	135861	164950	97229	99716	106849
## 20:	6067	8895	9056	10015	5747	6270
## 21:	40889	73167	57130	72739	26770	44939
## 22:	661	310	847	470	755	1059
## 23:	8829	11281	6118	7651	7418	6794
## 24:	2823	2712	4033	2668	1581	2289
##	LabF_115873	LabF_115878	LabF_115883	LabF_115888	LabF_115893	LabF_115898
##	LabF_115904	LabF_115909	LabF_115914	LabF_115919	LabF_115924	LabF_115929
##	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>
## 1:	5273	6204	4901	3913	5971	6826
## 2:	942	1567	1023	2508	4862	6847
## 3:	10725	8376	5743	2846	5398	6015
## 4:	2822	2444	3014	3720	1790	3062
## 5:	6224	6914	6333	8876	6552	5983
## 6:	163570	163491	174967	117739	148727	192104
## 7:	718653	784923	635325	724624	425955	266472
## 8:	1725	4190	1828	2564	4780	5526
## 9:	91608	95476	110237	99757	116851	174615
## 10:	321	324	228	362	249	319
## 11:	2212	3420	2196	1726	2719	3192
## 12:	303352	274295	217997	161473	180252	269946
## 13:	607	769	550	530	631	672
## 14:	16176	18036	18378	22936	14426	15796
## 15:	10246	10403	8893	10845	9162	9919
## 16:	859	1238	1132	10590	5751	7967
## 17:	14889	4015	18675	26214	4829	13195
## 18:	271901	415520	274058	60405	72728	117162
## 19:	250458	4483	100408	116440	140518	107130
## 20:	10317	11653	8215	12192	6163	4356
## 21:	52772	47266	63729	43732	41211	39036
## 22:	2367	531	380	1373	1266	1286
## 23:	9014	9056	8269	8690	7208	10014
## 24:	1922	1649	1668	2928	2660	2603
##	LabF_115904	LabF_115909	LabF_115914	LabF_115919	LabF_115924	LabF_115929

Annex 5. Nivells de metabolits de plantes sense la mutació i que van ser tractades amb ferides.

##	LabF_115811	LabF_115816	LabF_115821	LabF_115826	LabF_115831	LabF_115836
##	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>
## 1:	2257	1718	1740	3472	2054	1367
## 2:	1035	789	875	224	641	693
## 3:	735	632	815	805	941	709
## 4:	1325	922	1235	1204	1742	2109

## 5:	2896	2965	2225	2496	3043	4073
## 6:	590	745	644	588	408	417
## 7:	32336	53997	94396	63832	45136	33372
## 8:	244564	265977	228393	352904	167603	317125
## 9:	4628	4312	5523	5441	5202	5146
## 10:	110148	178780	436851	193074	150350	71969
## 11:	151251	165643	143781	171420	113881	142574
## 12:	5602	6573	5761	7078	4714	5560
## 13:	1195	1165	1749	731	1237	1766
## 14:	6040	5158	613	5321	5212	4844
## 15:	10378	13849	14137	13717	16165	14862
## 16:	58535	100045	65818	163642	156853	99844
## 17:	2360	3366	3403	3217	2740	3001
## 18:	23806	7801	9381	8543	8879	10127
## 19:	739682	782510	858933	1011677	1233805	1021155
## 20:	6542	6372	8151	5201	5714	7292
## 21:	12992	20343	45112	13861	19633	11662
## 22:	6150	6371	4012	4245	5480	7063
## 23:	4261	3769	5569	4320	7288	5881
## 24:	525654	474900	620711	106627	50883	620601
## 25:	29378	32269	36730	30171	26920	31206
## 26:	5941	5143	6255	5128	4127	5516
## 27:	26157	24596	11345	27101	24158	25672
## 28:	2579	2759	2981	2095	2467	2439
## 29:	2469	2944	2698	2868	2209	2637
## 30:	19115	24288	24757	24527	17742	21555
##	LabF_115811	LabF_115816	LabF_115821	LabF_115826	LabF_115831	LabF_115836
##	LabF_115842	LabF_115847	LabF_115852	LabF_115857	LabF_115862	LabF_115867
##	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>
## 1:	4040	2432	2189	1931	1307	2880
## 2:	393	705	100	481	265	120
## 3:	900	1778	1648	1575	1466	1145
## 4:	3061	2583	1182	2727	2505	1437
## 5:	2409	3001	2310	2153	2529	2229
## 6:	132	133	79	105	112	118
## 7:	132378	179780	126283	178585	144600	170878
## 8:	284890	317189	141180	163750	140311	219482
## 9:	5802	5531	5209	5010	4488	5285
## 10:	175204	271269	220884	299784	237302	239205
## 11:	124729	121731	168275	122029	108456	147759
## 12:	4009	4713	1988	4365	3734	4573
## 13:	572	541	808	397	774	703
## 14:	8209	6224	6464	6427	6143	8133
## 15:	6668	4435	4002	3869	4272	5471
## 16:	96975	106792	80325	60249	40715	40463
## 17:	2238	2069	2996	2322	2341	2461
## 18:	4576	3973	3857	4008	3237	3704
## 19:	791296	895021	818768	896779	842520	827264
## 20:	4676	5208	6782	5345	5154	4951
## 21:	15370	32043	28704	20758	26166	12548
## 22:	5365	6196	7044	5143	5971	5337
## 23:	3709	4176	4823	2957	4190	4752
## 24:	849485	868681	782220	769922	437894	632187
## 25:	25149	25950	33297	23469	19259	32271
## 26:	4608	5932	5030	5146	4189	4504
## 27:	47124	35787	42002	38906	29708	38790
## 28:	2236	1384	1960	415	1436	2051

## 29:	1709	1483	1509	1641	1308	1817
## 30:	14826	5655	16090	9212	5242	5634
##	LabF_115842	LabF_115847	LabF_115852	LabF_115857	LabF_115862	LabF_115867
##	LabF_115873	LabF_115878	LabF_115883	LabF_115888	LabF_115893	LabF_115898
##	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>
## 1:	2218	1754	1369	1201	3324	1355
## 2:	1185	867	676	569	579	387
## 3:	913	1340	607	794	951	922
## 4:	1343	1006	772	995	2449	2677
## 5:	2258	1907	2032	1948	2521	2521
## 6:	579	370	479	435	303	423
## 7:	47403	89698	53858	116775	40529	49133
## 8:	161640	152488	240193	160792	208853	242554
## 9:	4397	4969	2967	3391	5311	4614
## 10:	188815	500610	158461	579266	89512	112457
## 11:	118831	108622	99479	96814	81513	110814
## 12:	4445	4880	4399	4698	4363	325
## 13:	913	593	1170	1095	750	1492
## 14:	4651	1148	6480	4048	12732	4305
## 15:	9713	9851	6458	8603	5897	6266
## 16:	88333	44010	51704	20864	95616	64018
## 17:	2859	2605	2125	2036	2090	2218
## 18:	23058	8393	7642	6233	10012	10864
## 19:	759993	888501	871614	574950	603169	577671
## 20:	4414	4010	3880	5268	7422	5896
## 21:	14585	30651	16961	26450	17109	14659
## 22:	4712	3604	5805	4362	3618	4304
## 23:	3307	3090	4620	3175	1780	4295
## 24:	521726	371110	103521	405165	521683	502487
## 25:	37325	28514	17348	18077	24990	26261
## 26:	4353	4024	7245	4325	3709	4110
## 27:	24285	11073	28215	22162	48098	24835
## 28:	2024	2296	1765	1871	1915	1972
## 29:	1834	2093	1869	2043	1808	1781
## 30:	19287	20273	15664	20996	15731	16849
##	LabF_115873	LabF_115878	LabF_115883	LabF_115888	LabF_115893	LabF_115898
##	LabF_115904	LabF_115909	LabF_115914	LabF_115919	LabF_115924	LabF_115929
##	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>
## 1:	1874	3566	1945	1456	2004	1995
## 2:	987	450	1910	549	1032	902
## 3:	771	931	1114	509	516	803
## 4:	2039	2005	1496	2361	3282	2096
## 5:	2297	2403	2598	2679	2554	2857
## 6:	538	407	575	450	971	582
## 7:	80202	81211	97701	101442	43590	38507
## 8:	235409	284400	300655	269410	279531	352066
## 9:	5160	4860	4712	3958	4189	5253
## 10:	180903	184728	184596	125947	132217	144991
## 11:	95911	105705	99425	104950	117138	143764
## 12:	5158	5233	5129	518	4271	4868
## 13:	77070	3823	831	1357	828	1702
## 14:	6579	4686	5807	4325	2819	4928
## 15:	10509	9115	7857	5257	8488	6189
## 16:	46955	88356	23815	61129	100337	143155
## 17:	3243	2134	2338	2225	1964	2666
## 18:	16604	11080	7524	11814	24186	21115
## 19:	630096	905941	623933	818811	918287	839227

## 20:	5563	4482	5962	5267	3631	5304
## 21:	26541	20855	22707	21336	13759	23200
## 22:	4020	4165	3964	4688	4678	4293
## 23:	2810	2123	2719	4196	3871	3392
## 24:	549859	654166	387525	26032	426370	35284
## 25:	30760	29092	29692	18148	25663	35481
## 26:	3541	2811	3641	5462	4907	3879
## 27:	26680	25444	28678	16310	22212	26852
## 28:	2157	2148	2368	1604	2009	2047
## 29:	2000	1804	2220	2105	2186	2546
## 30:	20923	19019	19778	18874	17589	20297
##	LabF_115904	LabF_115909	LabF_115914	LabF_115919	LabF_115924	LabF_115929

Annex 6. Nivells dels metabolits de plantes amb la mutació i que van ser tractades amb ferides.

##	LabF_115811	LabF_115816	LabF_115821	LabF_115826	LabF_115831	LabF_115836
##	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>
## 1:	2434	2732	2878	2264	3291	3217
## 2:	2418	2380	1872	4537	2482	1843
## 3:	3391	2819	4961	3005	1910	4752
## 4:	160150	165750	22986	116237	152137	134462
## 5:	2284	3182	2599	2276	1818	1889
## 6:	1953	3133	3073	2437	1494	3188
## 7:	1188	1144	1552	1720	1487	1439
## 8:	23	203	341	86	543	696
## 9:	1084	1313	1449	1289	1194	1270
## 10:	371	495	397	439	231	406
## 11:	115681	108577	91136	147045	59201	151306
## 12:	52636	61892	60510	46702	47132	63605
## 13:	8338	7767	2701	6891	8635	9063
## 14:	601	607	627	398	355	633
## 15:	4085	3361	4327	2525	2290	4148
## 16:	2344	2229	3176	2225	2576	2110
## 17:	31796	37006	38429	27525	26454	22466
## 18:	930	818	611	818	531	905
## 19:	23196	34517	34253	35367	25668	37243
## 20:	697857	532747	110445	617786	307140	384956
## 21:	135122	119269	211352	76869	78221	192159
## 22:	1666	1197	1212	2594	1565	981
## 23:	12631	13440	10474	16133	5028	9811
## 24:	1156	1724	1912	1786	1700	1927
##	LabF_115811	LabF_115816	LabF_115821	LabF_115826	LabF_115831	LabF_115836
##	LabF_115842	LabF_115847	LabF_115852	LabF_115857	LabF_115862	LabF_115867
##	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>
## 1:	2386	2418	2160	2139	2055	2347
## 2:	8451	2612	2786	3689	2318	2894
## 3:	2576	1849	5597	2634	3227	3173
## 4:	205814	8658	141398	124788	89824	133091
## 5:	1752	1875	1548	1677	1364	1433
## 6:	1128	5084	1471	1251	1336	1354
## 7:	1398	1435	1358	1111	1049	1359
## 8:	99	112	111	104	126	77
## 9:	729	847	818	719	746	925
## 10:	222	396	343	259	265	509
## 11:	92079	95939	57378	54473	46548	66419

## 12:	46793	38269	47467	46987	41208	57234
## 13:	7991	25723	7452	5047	4977	8408
## 14:	228	335	428	308	458	434
## 15:	2355	3128	1008	2239	3063	2853
## 16:	1612	2522	3778	1150	3184	3256
## 17:	27956	28323	28101	35638	26344	27643
## 18:	416	1070	264	191	427	355
## 19:	27305	18289	16323	11298	18691	17981
## 20:	303440	113179	181588	211130	386358	467792
## 21:	52857	48402	114719	58672	65792	69736
## 22:	934	1032	241	115	446	1250
## 23:	8114	5330	13023	4281	3937	6769
## 24:	838	805	1122	1546	815	874
##	LabF_115842	LabF_115847	LabF_115852	LabF_115857	LabF_115862	LabF_115867
##	LabF_115873	LabF_115878	LabF_115883	LabF_115888	LabF_115893	LabF_115898
##	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>
## 1:	2314	2236	2106	2518	1678	2899
## 2:	2338	2046	1306	1200	3536	1507
## 3:	2739	1817	3941	2190	1572	3855
## 4:	91238	34512	142573	66959	140582	138205
## 5:	2120	1680	1003	1622	1764	2789
## 6:	1677	2138	1502	1904	1820	1771
## 7:	1289	1300	741	845	1465	1334
## 8:	277	85	6	255	410	352
## 9:	840	1074	1111	1004	752	1051
## 10:	301	329	250	234	221	711
## 11:	84624	66700	100977	79389	109888	148599
## 12:	39555	46959	36126	43808	46558	52961
## 13:	9373	2866	13918	3365	8781	8599
## 14:	259	237	231	374	576	519
## 15:	2223	2559	2352	3225	5935	3168
## 16:	3156	3387	3525	2199	1928	3118
## 17:	29501	40602	23053	31273	19686	26262
## 18:	382	603	472	543	677	1013
## 19:	9470	17041	19181	19737	7802	10876
## 20:	689869	40136	508665	311821	632790	735480
## 21:	86975	60620	129478	84727	62711	135713
## 22:	1844	1396	939	706	2314	989
## 23:	6698	4483	7034	10344	6569	7644
## 24:	1114	1048	1192	1021	831	883
##	LabF_115873	LabF_115878	LabF_115883	LabF_115888	LabF_115893	LabF_115898
##	LabF_115904	LabF_115909	LabF_115914	LabF_115919	LabF_115924	LabF_115929
##	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>	<num>
## 1:	2153	1650	2204	2454	2927	3657
## 2:	2197	8148	2149	1860	2375	2368
## 3:	2334	2259	2461	3867	1553	1892
## 4:	122481	121790	109758	60409	127477	155438
## 5:	1743	1705	1881	2752	2649	3516
## 6:	1867	1890	2040	2149	1602	2287
## 7:	1538	1413	1222	1172	1162	1369
## 8:	64	114	217	122	474	278
## 9:	999	851	910	558	899	866
## 10:	333	324	270	883	419	391
## 11:	116769	121027	142576	156785	144382	258037
## 12:	54589	42020	55440	36538	30324	34584
## 13:	4868	5624	4826	3223	9093	8626
## 14:	449	276	706	486	216	593

## 15:	4863	1844	5217	3674	1589	2827
## 16:	3499	2331	3911	3463	1692	1430
## 17:	26727	27875	23031	19725	24816	26583
## 18:	1730	530	552	1081	764	973
## 19:	18493	17800	11614	14972	14633	11909
## 20:	634620	626729	614460	997543	616372	558396
## 21:	89094	67792	100027	147016	59530	77524
## 22:	1381	2707	1277	1039	1603	1640
## 23:	4280	4356	7340	11721	6508	9480
## 24:	982	763	689	534	1216	1503
##	LabF_115904	LabF_115909	LabF_115914	LabF_115919	LabF_115924	LabF_115929