

ANEXO 3

1-MANUAL PARA USO DEL PROGRAMA TNT

TNT (*Tree analysis using New Technology*) es un programa para realizar análisis filogenéticos bajo parsimonia creado por P. Goloboff, J. Farris y K. Nixon (2000). Gracias a un acuerdo con la Willi Henning Society y los autores del programa, el TNT está actualmente disponible como un programa de uso libre

(<http://www.lillo.org.ar/phylogeny/tnt/>)

La matriz debe tener cierta información, presentada en un orden determinado, para que el programa pueda procesarla. Una matriz ejemplo es:

xread	1º: Comando xread
17 8	2º: número de caracteres y número de taxa
Lythrum	3º: los datos, identificando taxones y estados (códigos para los caracteres, ? para los datos faltantes, y – para gaps
---0000??00000000	
Ludwigia	
00000?0031?000100	
Circaea	
00001120010110000	
Hauya	
00001010220111010	
Fuchsia	
01001010010110000	
Lopezia	
01001210010110000	
Oenothera	
10111010110110010	
Epilobium	
10031011311110001	
;	
p/;	4º: comando para el TNT

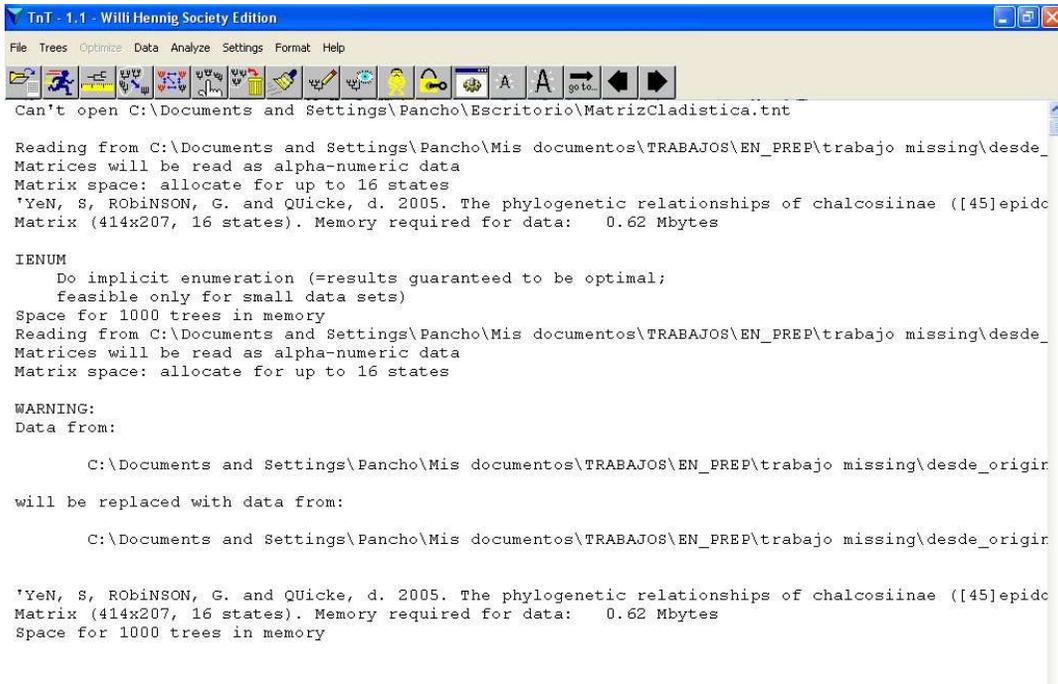
1- ABRIR ARCHIVOS: ir a la ventana **File** y dentro de ella a **Open Input File** (como en cualquier programa de Windows). Es conveniente cambiar el tipo de extensión de los

archivos para ver todos los tipos de matrices (pueden ser de distintos formatos: TNT, SS). También hay un botón en la barra de herramientas para realizar este procedimiento.

2. GENERAL DEL PROGRAMA: el TNT posee una pantalla (*buffer*) donde van a ir apareciendo todas las acciones (inclusive los árboles de consenso o de soportes, si no está activado el **preview trees** de la ventana **Format**). Debajo hay una barra que dice **Enter Commands**, donde se puede escribir comandos para que el programa trabaje (existen comandos para realizar todos los procedimientos indicados en las ventanas y más). Por ejemplo, poniendo "ie" se realiza una búsqueda exacta de la matriz abierta.

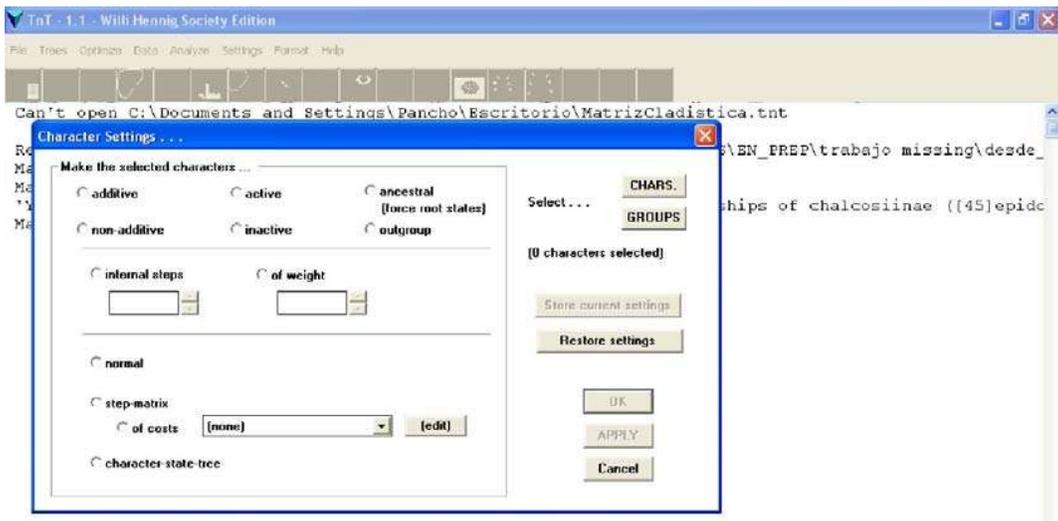
Además, existe un espacio para los árboles, donde los árboles que el programa encuentra en las búsquedas son guardados, al cual se accede mediante el botón de la barra de herramienta indicado con un árbol y un ojo. Este espacio tiene un tamaño o memoria para almacenar árboles que se puede cambiar. Conviene tener bastante memoria para árboles (por ej. 10000). Por esto, antes de hacer búsquedas, es conveniente ir a **Settings/Memory** y cambiar el número de árboles en **Max Trees**. Otros seteos previos convenientes son: tildar: **Map Characters in color** y **Preview Trees** en la ventana **Format**.

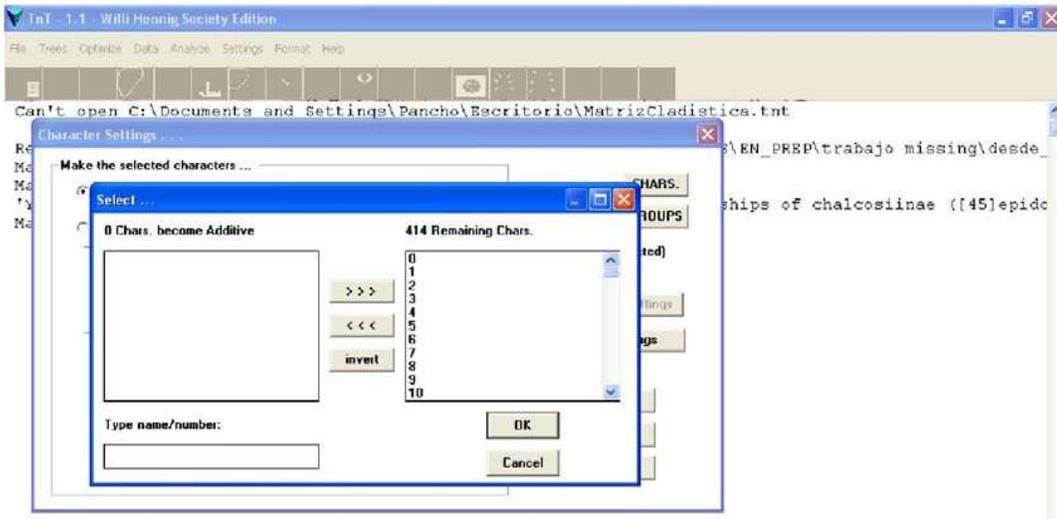
Tecleando el comando **Help** en la barra de comandos, se puede ver el listado de comandos y una descripción de los mismos. Si se conoce el nombre de un comando, se puede tipear help seguido del nombre del comando (e.g. **help mult**) y solo muestra la explicación de este comando.



3- SETEO CARACTERES: ir a *Data/Character settings*

Para tratar a los caracteres como aditivos/ordenados clicar en **additive** y luego presionar **CHARS** (Botón de la derecha arriba):





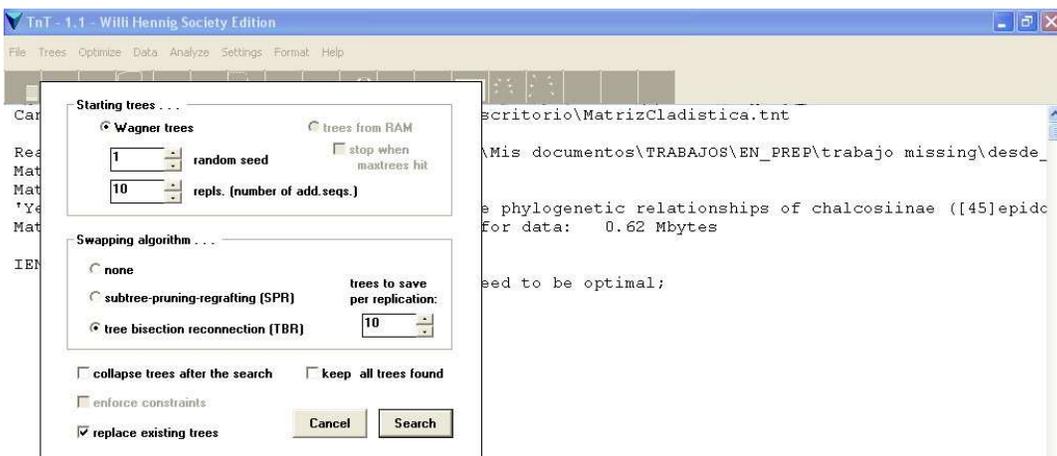
Los caracteres que se desean codificar como aditivos se deben pasar de la ventana derecha a la izquierda que dice **Chars become Additive** y luego apretar **OK**.

Para volver a considerarlos como no ordenados, o para activarlos o desactivarlos, hay que volver a la pantalla anterior, clicar en **non-additive** (o **active – inactive**) y repetir el procedimiento.

4- BÚSQUEDAS: ir a **ANALYZE**

*Si la matriz es pequeña (menos de 20 o 15 taxones) hacer una búsqueda exacta - ir a **Implicit Enumeration**

*Si la matriz es más grande - ir a **Traditional Search** :



La primera sub-ventana permite indicar la cantidad de árboles de Wagner iniciales y cambiar la secuencia al azar para la aleatorización de los taxones, entre otros.

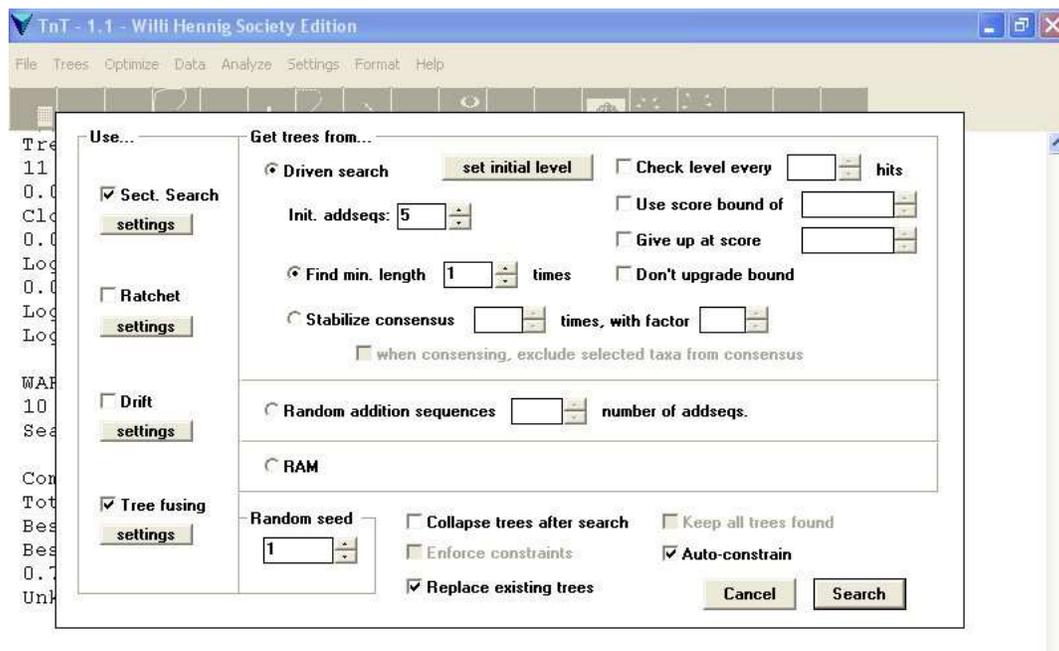
En la segunda sub-ventana, se puede elegir la estrategia de *swapeo* (como modificar los árboles de Wagner para buscar árboles más cortos). La ventana con el número 10, (**trees to save per replication**) es para indicar cuántos árboles debe guardar el programa en cada ronda.

Siempre se debe tildar la opción **collapse trees after search**. Si esta opción no se tilda aparecerán nodos no soportados por ninguna transformación de caracteres.

Una vez cumplidos estos pasos se selecciona **Search** para obtener el o los árboles por parsimonia.

*Nuevas Tecnologías (Para matrices muy grandes)

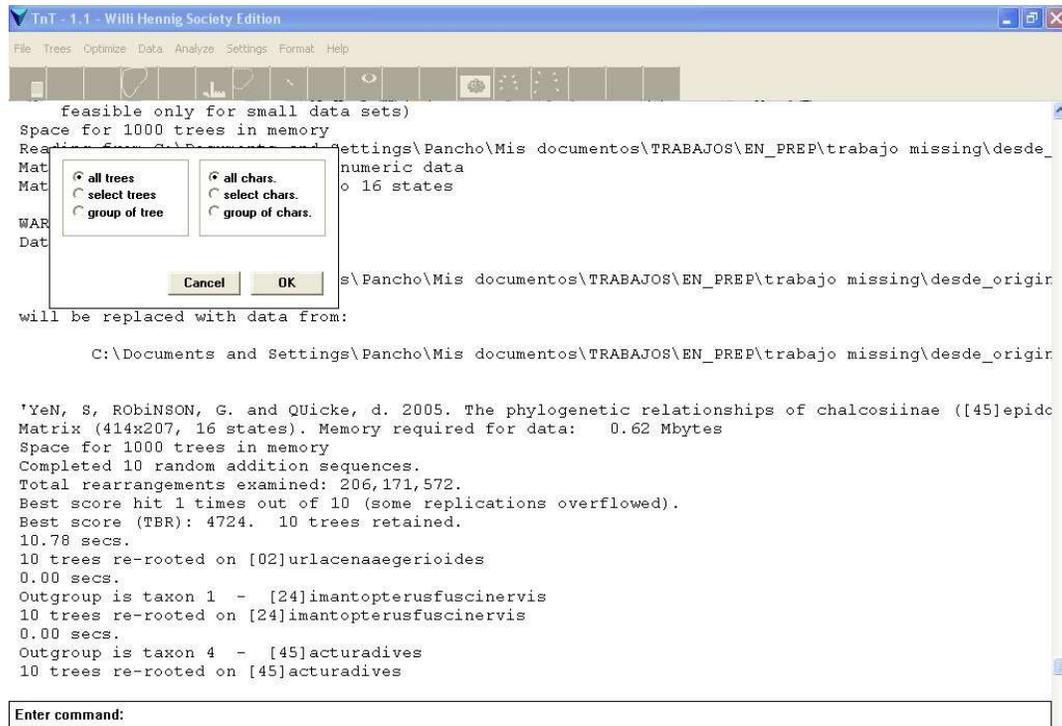
Entrar en **Analyze/ New Technology Search**:



Con esta opción se pueden combinar distintos algoritmos de búsqueda, como búsquedas sectoriales, *ratchet*, *drifting* y *tree fusing*. También se pueden cambiar distintos parámetros de las búsquedas (e. g. número de secuencias de adición, etc.).

5- OPTIMIZACIONES:

En la ventana **OPTIMIZE**, en **Characters/Mapping characters** se puede pedir al programa que optimice caracteres en uno o más árboles. Esto se regula seleccionando árboles y caracteres en la ventana que sigue:

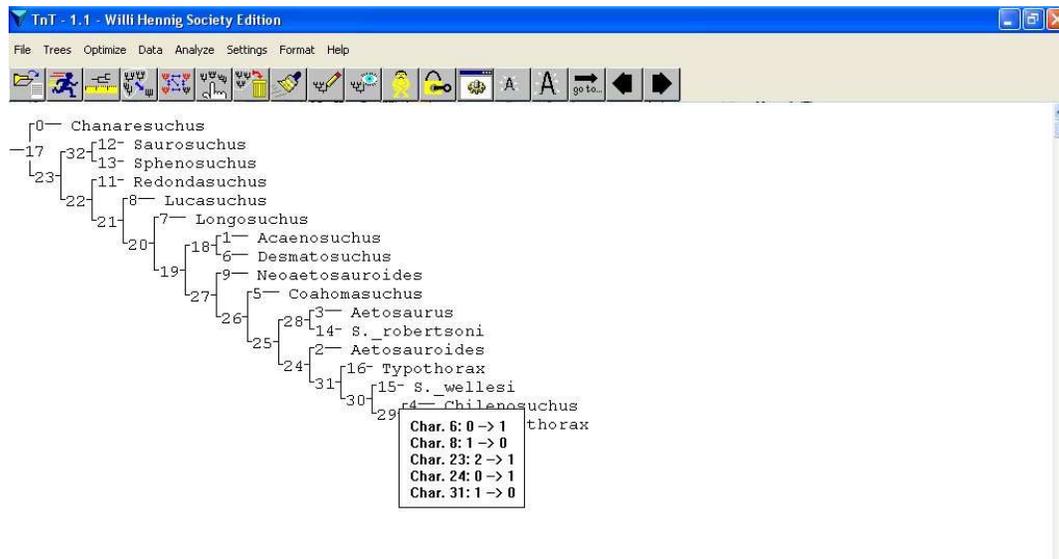


Como resultado, cada carácter va a aparecer mapeado en el o los árboles, con un color para cada estado. Los nodos en gris tienen optimizaciones ambiguas (los estados 0, 1 o 2 dan la misma longitud). De esta forma pueden identificarse posibles lugares donde se den optimizaciones ACCTRAN o DELTRAN (hay que chequear que no sea un nodo terminal con algún taxón con entradas faltantes “?”). En estos casos se le puede pedir al programa que muestre las reconstrucciones posibles para el carácter (con **OPTIMIZE/Characters/Reconstructions**) e identificar cuál corresponde a ACCTRAN y cuál a DELTRAN.

6- SOBRE ARBOLES:

En la memoria de árboles se pueden observar los árboles más parsimoniosos almacenados. Debajo de cada uno, se indica qué árbol se está viendo y cuántos hay (ejemplo “tree 0 of 3”, quiere decir que estamos en el primer árbol de los 4 almacenados). Siempre el primer árbol, carácter o taxón es el número 0. Si figura

(**locked**) quiere decir que el árbol no se puede modificar, para hacerlo hay que apretar el botón de la barra de herramientas que es un candado (después va a decir **unlocked**). Apretando el botón derecho del ratón sobre los nodos con los árboles bloqueados van a aparecer los cambios de caracteres que sostienen a ese nodo. El botón con un hombre desnudo sirve para indicar el número de cada nodo y taxón.



Para cambiarle la raíz a un árbol: Primero se debe ir a **DATA/outgroup taxon** y elegir la nueva raíz. Luego ir a **Trees/reroot**. Así se observarán los árboles enraizados con el nuevo *outgroup*.

7- CONSENSOS

Ir a **Trees/Consensus** (también con el 4º botón desde la derecha):

TnT - 1.1 - Willi Hennig Society Edition

File Trees Optimize Data Analyze Settings Format Help

User interrupt...
 2 trees re-rooted on Chanaresuchus
 0.00 secs.

Calculate...
 Strict (=Nelsen)
 show location of pruned taxa
 Combinable Components
 Majority Rule
 Cut-off:
 Frequency Diffs.
 Cut-off:

Using...
 all trees
 select trees
 group of trees

Show/Save...
 show/save tree diagram
 save to RAM

Include...
 all taxa
 select taxa
 group of taxa

Note: trees will be temporarily collapsed, when min. branch length is zero

Cancel OK

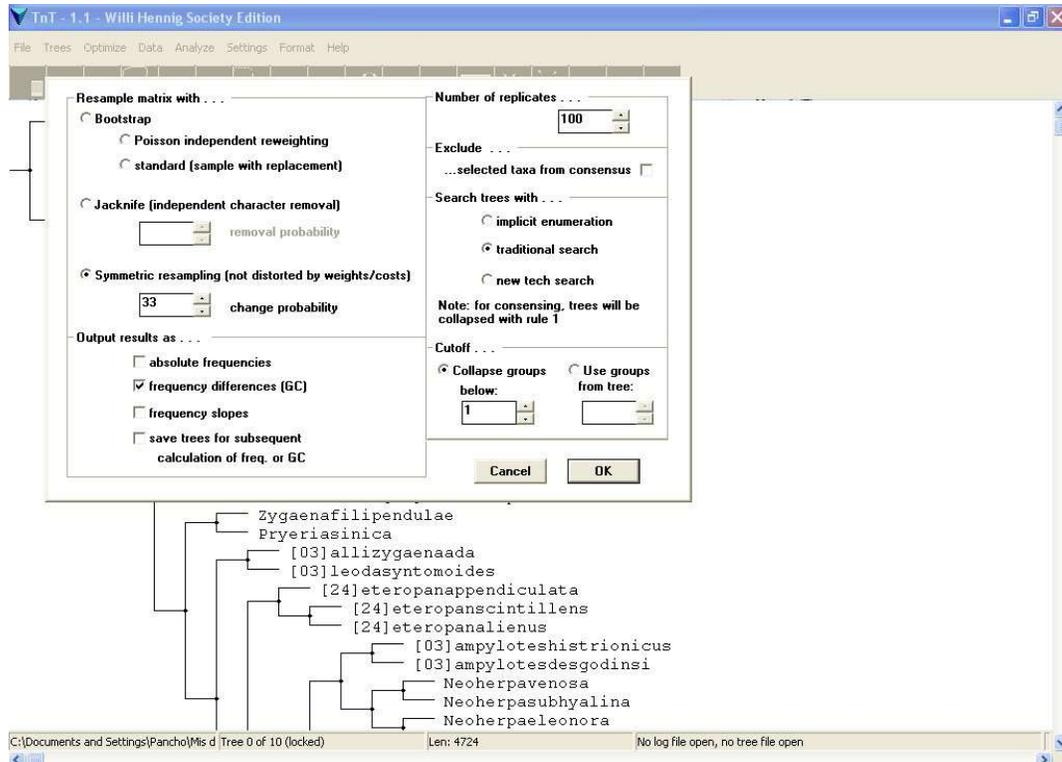
	+0	+1	+2	+3	+4	+5	+6	+7	+8	+9
0	164	164	234	237	210	226	215	222	220	228
10	217	217	233	212	213	229	226	220	214	225
20	233	219								

0.00 secs.

El programa construye consensos estrictos y de mayoría. Si se tilda **save to RAM** el consenso calculado se almacenará en la memoria de árboles y será el último.

8- SOPORTES

Ir a **ANALYZE/Resampling**. Aparecen las opciones de soportes basados en remuestreos (e.g. *Bootstrap*, *Jackknife*):



Se debe definir qué tipo de remuestreo se desea realizar (el *default* es Symmetric Resampling, un tipo de JackKnife). En **Output results as** conviene tildar **absolute frequencies**, sacar el de **frequency differences** y dar **OK**.

9- CALCULO DE CI, RI, BREMER Y LECTURA DE SCRIPTS

El TNT no tiene implementado el cálculo de estos índices, pero permite hacerlo con la ayuda de un *script* (o macro). Estos son archivos con una serie de comandos (una receta) que indican al programa que realice algún cálculo, por ejemplo que calcule un determinado índice. De esta manera el usuario avanzado puede hacer análisis muy sofisticados que no están implementados en ningún programa.

Para el cálculo de CI/RI, con la matriz abierta y los árboles más parsimoniosos en la memoria de árboles, se debe abrir el Archivo **CI_RI.txt** a través de **FILE/open input file** (o el botón de la barra de herramientas). En el **buffer** aparecerá una tabla con los resultados. Otra forma de realizar este procedimiento es escribir en la barra de comandos **run CI_RI.txt**. En este caso el archivo tiene que estar en la misma carpeta que la matriz.

De la misma manera, abriendo el archivo BREMER.run se pueden calcular los soportes de Bremer para los nodos de uno o más árboles que haya en memoria.

10- SALVANDO ÁRBOLES

Para salvar árboles, en la solapa **FILE/Open Tree File**, hay dos opciones, salvarlos con formato “compacto” o “parentético”. Para ello se debe ir a **Open, compact mode** o **Open, parenthetical mode**, respectivamente. Con la opción **append** se pueden agregar árboles a un archivo creado con anterioridad. Si al crear el archivo ya existen árboles en memoria, estos automáticamente serán guardados en el archivo, pero si se hacen nuevas corridas con posterioridad y se quieren conservar copias de estos nuevos árboles, se debe ir nuevamente a **FILE/Open Tree File / Save trees to open file**. Cuando se finaliza se debe cerrar el archivo con **FILE/Open Tree File/Close tree file**. Con posterioridad se podrán abrir estos archivos de árboles y automáticamente estarán en memoria, sin necesidad de hacer las búsquedas de nuevo.

Output: permite guardar toda la información que el programa va volcando en el buffer de texto, o hacer registro de lo que se ha realizado (que puede incluir árboles si no tenemos activada la opción **Preview Trees** en **Format**). Se maneja de la misma manera que el comando para guardar árboles, pero se entra por **File/Output**.

Esta guía fue creada por el Dr. Francisco Prevosti.