

Daniela Werner Ribeiro dos Santos

**MICROBIOTA ASSOCIADA A BAMBU E  
PROCEDIMENTOS DE DESINFECÇÃO COMO SUBSÍDIOS AO  
ESTABELECIMENTO DE CULTURAS VIÁVEIS DE CÉLULAS,  
TECIDOS E ÓRGÃOS**

Tese submetida ao Programa de Pós  
Graduação em Recursos Genéticos  
Vegetais da Universidade Federal  
de Santa Catarina para obtenção do  
título de Doutora em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Miguel P.  
Guerra

Florianópolis, SC  
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

dos Santos, Daniela Werner Ribeiro  
MICROBIOTA ASSOCIADA A BAMBU E PROCEDIMENTOS DE  
DESINFECÇÃO COMO SUBSÍDIOS AO ESTABELECIMENTO DE  
CULTURAS VIÁVEIS DE CÉLULAS, TECIDOS E ÓRGÃOS /  
Daniela Werner Ribeiro dos Santos ; orientador,  
Miguel Pedro Guerra, 2018.  
185 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de  
Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais,  
Florianópolis, 2018.

Inclui referências.

1. Recursos Genéticos Vegetais. 2. Cultura de  
tecidos de plantas. 3. Estabelecimento de plantas  
in vitro. 4. Micro-organismos associados. 5.  
Metabarcoding. I. Guerra, Miguel Pedro . II.  
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de  
Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais. III.  
Título.

**Microbiota associada a bambu e  
procedimentos de desinfecção como subsídios  
ao estabelecimento de culturas viáveis de  
células, tecidos e órgãos**

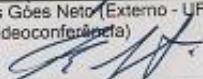
por

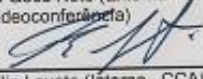
**Daniela Werner Ribeiro dos Santos**


Tese julgada e aprovada em 25/05/2018, em sua forma final, pelo Orientador e membros da Banca Examinadora, para obtenção do título de Doutora em Ciências. Área de Concentração Recursos Genéticos Vegetais, no Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, CCA/UFSC.

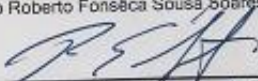
Banca Examinadora

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Miguel Pedro Soares (Presidente - CCA/UFSC)

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Aristóteles Góes Neto (Externo - UFMG/MG)  
(Participação por videoconferência)

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Paulo Emilio Lovato (Interno - CCA/UFSC)

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Cláudio Roberto Fonseca Sousa Soares (Interno -  
CCB/UFSC)

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Paulo Emilio Lovato (Coordenador do Programa)

Florianópolis, maio de 2018.



Este trabalho é dedicado à todos que  
tem interesse no desenvolvimento da  
cadeia produtiva do bambu.



## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Miguel P. Guerra pela oportunidade de realizar este trabalho, pela orientação nas questões científicas, acadêmicas e de ordem pessoal, pelo incentivo na realização de mudanças, pela compreensão nos momentos inesperados e pela oportunidade de crescimento profissional.

À Dra. Aline Bruna Vaz (UFMG), ao Dr. Elisandro R. Drechsler-Santos (UFSC), ao Dr. Aristóteles Góes Neto (UFMG), ao Dr. Gustavo H. F. Klabunde (Epagri-Itajaí) e ao Dr. Eduardo L.H. Giehl (UFSC) pelas orientações e auxílios em questões específicas do trabalho.

Ao doutorando Thiago S. Ornellas pelo auxílio no desenvolvimento de experimentos, discussão e análise de dados, momentos de descontração e apoio profissional e pessoal.

Ao graduando Théo P. Rocker, dedicado bolsista de iniciação científica, pelo auxílio no desenvolvimento de experimentos.

Ao Sr. Hans J. Kleine (BambuSC) pelas aulas sobre bambus e por permitir e facilitar a coleta de material vegetal em sua coleção particular.

À Epagri – CETRE Florianópolis/SC, por permitir a coleta de material vegetal em sua propriedade.

Aos colegas de Pós-graduação pela companhia e bela convivência.

Aos amigos da vida pela amizade, carinho e incentivo.

À minha família pelos conselhos, paciência e incentivo, auxiliando na minha formação pessoal e profissional e fundamentando meus princípios éticos.

Aos meus amores Olívia e Ricardo por existirem.





## RESUMO

Este trabalho buscou estudar a fase de estabelecimento *in vitro* do bambu sob duas abordagens: um experimento tradicional, o qual avaliou a presença de biocida e antibiótico no meio de cultura, bem como sua estrutura física e; um levantamento da microbiota associada aos segmentos nodais (fonte de explante para o estabelecimento *in vitro*) por meio de ferramentas de metagenômica – *metabarcoding*. O experimento de estabelecimento *in vitro* avaliou a presença de casugamicina, PPM-Plant Preservative Mixture® e ágar no meio de cultura em três espécies de bambu: *Bambusa vulgaris*, *Phyllostachys bambusoides* e *Dendrocalamus asper*. Os resultados mostraram um efeito significativo na interação dos fatores, onde as concentrações 2 e 4 ml/L de PPM e o meio de cultura líquido foram mais eficientes na diminuição de contaminação e oxidação dos explantes e, no estabelecimento efetivo dos explantes. O inventário da microbiota associada a *Dendrocalamus asper* foi realizada por meio do sequenciamento de *amplicons* – *metabarcoding* – de Archaea, Bacteria e Fungi. Os resultados revelaram, pela primeira vez, a diversidade e estrutura das comunidades em segmentos nodais e meio de cultura na fase de estabelecimento de uma espécie de bambu. Foram revelados 1.070 Unidades Taxonômicas Operacionais (UTOs), sendo 12 de Archaea, 391 de Bacteria, e 667 de Fungi. Em Archaea foi identificado o filo Thaumarchaeota, e os gêneros *Candidatus Nitrosopumilus* e *Candidatus Nitrososphaera*. Em Bacteria, os filos mais abundantes foram Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Acidobacteria, sendo o gênero *Pantoea* responsável pela maior abundância de sequências no meio de cultura, indicando um possível contaminante. Em Fungos, foram identificados os filos Ascomycota e Basidiomycota, onde as classes Sordariomycetes e Dothideomycetes foram responsáveis pela maior abundância de sequências, notadamente a ordem Pleosporales. O sequenciamento de *amplicons* se mostrou uma ferramenta eficaz na determinação de micro-organismos potencialmente contaminantes do estabelecimento *in vitro* revelando a presença e abundância de grande número de táxons no meio de cultura, podendo também revelar micro-organismos benéficos ao desenvolvimento das culturas *in vitro*.

Palavras-chave: Bambusoideae, PPM, Archaea, Bacteria, Fungi, metagenômica, *Metabarcoding*



## ABSTRACT

This work aimed at to study the *in vitro* establishment phase of bamboo under two approaches: a traditional experiment, which evaluated the presence of biocide and antibiotic in the culture medium, as well as its physical structure and; a survey of the microbiota associated with nodal segments (source of explant for *in vitro* establishment) by metagenomic tools - metabarcoding. The *in vitro* establishment approach evaluated the presence of casugamycin, PPM (Plant Preservative Mixture®) and agar in the culture medium in three bamboo species: *Bambusa vulgaris*, *Phyllostachys bambusoides* and *Dendrocalamus asper*. The results showed a significant effect on the interaction of the factors and the concentrations of 2 and 4 ml/L of PPM and the liquid culture medium were more efficient in reducing contamination and oxidation of the explants, as well as in the effective establishment of viable cultures. The inventory of the microbiota associated with *Dendrocalamus asper* was performed through the amplicon sequencing - metabarcoding - of Archaea, Bacteria and Fungi. The results revealed for the first time the diversity and structure of the communities in nodal segments and culture medium in the establishment phase of a bamboo species. A total of 1,070 Operational Taxonomic Units (OTUs) were revealed, 12 of Archaea, 391 of Bacteria, and 667 of Fungi. In Archaea was identified the phylum Thaumarchaeota, and the genera Candidatus Nitrosopumilus and Candidatus Nitrososphaera. In Bacteria, the most abundant phyla were Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Acidobacteria, being the genus Pantoea responsible for the greater abundance of sequences in the culture medium, indicating a possible contaminant. In Fungi, the Ascomycota and Basidiomycota phyla were identified, where the classes Sordariomycetes and Dothideomycetes were responsible for the greater abundance of sequences, especially the order Pleosporales. Amplicon sequencing proved to be an effective tool in the determination of potentially contaminating microorganisms *in vitro*, revealing the presence and abundance of large numbers of taxa in the culture medium, and could also reveal microorganisms beneficial to the development of *in vitro* cultures.

Keywords: Bambusoideae, PPM, Archaea, Bacteria, Fungi, metagenomics, metabarcoding



## SUMÁRIO

Introdução.....	15
Revisão Bibliográfica .....	17
Bambu – características e usos .....	17
Cultivo <i>in vitro</i> de bambus.....	20
Microbiota associada à plantas e contaminação <i>in vitro</i> .....	22
Metagenômica – <i>Metabarcoding</i> .....	22
Hipóteses .....	24
Objetivos.....	25
Objetivo Geral .....	25
Objetivos específicos .....	25
Referências Bibliográficas .....	26
Capítulo I - Estabelecimento de <i>Bambusa vulgaris</i> , <i>Phyllostachys bambusoides</i> e <i>Dendroclamaus asper in vitro</i> .....	35
Resumo .....	35
Introdução.....	35
Material e Métodos .....	38
Resultados e Discussão.....	40
Conclusões.....	56
Referências Bibliográficas .....	56
Capítulo II – Caracterização por <i>metabarcoding</i> da microbiota associada à <i>Dendroclamaus asper</i> (Schult. & Schult. f.) Backer ex K. Heyne.....	63
Resumo .....	63
Introdução.....	63
Material e Métodos .....	66
Estratégia de amostragem .....	66
Extração, sequenciamento e curadoria das sequências de DNA .....	68
Análise da Riqueza e Diversidade .....	69
Análise da estrutura das comunidades microbianas .....	70
Resultados e discussão.....	70
Análise da riqueza e diversidade.....	75
Estrutura da comunidade microbiana.....	84
Conclusões.....	101
Referências Bibliográficas .....	101
Considerações Finais e Perspectivas Futuras .....	118
Apêndice A – Archaea – abundância absoluta de UTOs .....	119
Apêndice B – Bacteria - abundância absoluta de UTOs .....	120
Apêndice C – Bacteria – abundância relativa de UTOs .....	142
Apêndice D – Fungi abundância absoluta de UTOs .....	145
Apêndice E – Fungi – abundância relativa de UTOs .....	181
ANEXO A – Meio MS .....	185



## INTRODUÇÃO

Com a aprovação do Projeto “Tecnologias para o desenvolvimento sustentável da cadeia produtiva de bambu no sul do Brasil/CNPq” no âmbito do Edital CNPq AT 66/2013, coordenado pelo Prof. Miguel P. Guerra, do Programa de Pós Graduação em Recursos Genéticos Vegetais (PPG-RGV) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), surgiu a oportunidade de realizar estudos relacionados à espécies de bambus nativos e exóticos com a finalidade de contribuir com o desenvolvimento da cadeia produtiva do bambu (LEI Nº 12.484/2011, que dispõe sobre a Política Nacional de Incentivo ao Manejo Sustentado e ao Cultivo do Bambu). No âmbito do supramencionado projeto, um subprojeto trata do desenvolvimento de tecnologias para a micropropagação de mudas, uma vez que a baixa disponibilidade de mudas é um impeditivo claro para a ampliação da cadeia produtiva de bambus no Brasil. Após grande número de experimentos e trabalhos relacionados à produção de mudas *in vitro* e conhecimento da microbiota que possa estar contribuindo significativamente para a intensa contaminação *in vitro*, o presente estudo foi estruturado em dois capítulos:

O Capítulo I apresenta resultados dos principais experimentos relacionados ao estabelecimento *in vitro* de três espécies exóticas de bambu. Anteriormente à esse experimento foram conduzidos, no Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal – LFDGV – grande variedade de experimentos com o objetivo de obter culturas assépticas, inclusive de outras espécies de bambu, tanto nativas quanto exóticas. Foram avaliadas diversas estratégias de desinfestação, desde protocolos básicos como uso de álcool 70% e hipoclorito de sódio até o uso de termoterapia, sonicação, nitrato de prata e vácuo infiltração. Diante dos altos índices de contaminação, alcançando por diversas vezes 100%, reconheceu-se que seria necessário avaliar diferentes fatores associados à obtenção de explantes de bambu *in vitro*, e suas interações. Por isso, o Cap.I reúne experimentos onde foram avaliados o uso do biocida PPM (*Plant Preservative Mixture*®) e antibiótico casugamicina no meio de cultura e a consistência do meio com o objetivo de estabelecer plantas *in vitro*. O Capítulo II está relacionado ao estabelecimento *in vitro* de *Dendroclamaus asper*, mas com a intenção de identificar e caracterizar a microbiota dos tecidos vegetais utilizados como explantes e verificar quais micro-organismos apresentam maior abundância no meio de cultura de estabelecimento. Optou-se pelo sequenciamento de nova geração *barcoding* utilizando plataforma Illumina MiSeq, uma vez que ela fornece

dados para a caracterização da microbiota associada ao sistema sob investigação.



## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

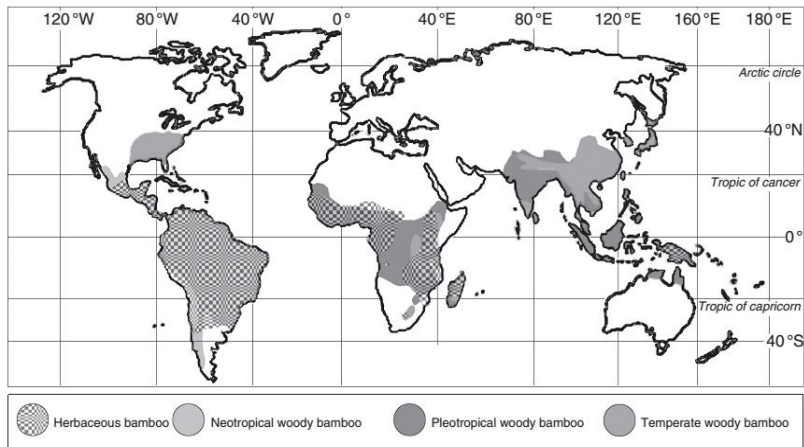
### Bambu – características e usos

Os bambus pertencem a família Poaceae que possui distribuição cosmopolita, grande amplitude ecológica e inclui cerca de 11.000 espécies distribuídas em 800 gêneros (PETERSON, 2005). Atualmente, Poaceae está dividida em treze subfamílias (GPWG, 2001; SÁNCHEZ-KEN et al., 2007). Dentre estas, os bambus estão incluídos em Bambusoideae, que constitui a principal linhagem de gramíneas de folhas largas associadas a ambientes florestais (JUDZIEWICZ e CLARK, 2007).

Bambusoideae abrange 116 gêneros e 1.439 espécies (BAMBOO PHYLOGENY GROUP – BPG, 2012) e é caracterizada especialmente por apresentar plantas em geral rizomatosas, com caules aéreos do tipo colmo, sólidos ou ocos, herbáceos ou lignificados; lâminas foliares pseudopeciouladas, relativamente amplas; mesófilo com células brachiformes assimetricamente invaginantes e células fusoides bem desenvolvidas, especialmente nas folhas de sombra; rota fotossintética C3 e ausência de anatomia Kranz (BPG, 2012), as flores com três ou mais lodículos, usualmente com seis estames e as sementes apresentam pequenos embriões e um hilo linear (SODERSTROM, 1981).

Os membros de Bambusoideae ocorrem naturalmente em quase todos os continentes do globo (Fig. 1.), exceto Europa e Antártida (KELCHNER e BPG, 2013), em altitudes que variam desde o nível do mar até 4.300 m (JUDZIEWICZ et al., 1999). A maioria das espécies é nativa do continente asiático (62%), sendo a China o país com a maior diversidade de espécies, seguido das Américas (34%), da África e da Oceania (4%) (HIDALGO LOPEZ, 2003). Entretanto, acredita-se que a diversidade de bambus nativos do continente americano seja equivalente à da Ásia, já que muitas espécies ainda não foram descritas (CRUZ RÍOS, 2009). Na América do Sul os países com maior diversidade natural são o Brasil, a Venezuela e a Colômbia, sendo que o Brasil apresenta a maior concentração, com 89% dos gêneros e 65% das espécies conhecidas para o novo mundo. As áreas naturais mais extensas, conhecidas como `taboacais` no Estado do Acre e `pacales` no Peru, cobrem 600.000 ha no Brasil, Peru e Bolívia. No Brasil, a diversidade nativa é estimada em 232 espécies (FILGUEIRAS e GONÇALVES, 2004). Finalmente, no continente americano encontram-se 28% dos recursos de bambu do mundo (LOBOVIKOV et al., 2007).

Figura 1. Distribuição mundial de bambus (DAS et al., 2008).



A subfamília Bambusoideae se divide em três tribos: *Olyreae* (bambu herbáceos), *Bambuseae* (bambus lignificados) e *Arundinarieae* (bambus lignificados de clima temperado). Entretanto, as espécies de bambu apresentam basicamente dois sistemas de rizomas: entouceirantes e alastrantes. Os primeiros, com rizomas curtos e colmos agrupados, apresentam padrão de ramificação simpodial e geralmente ocorrem em regiões de clima tropical. Já os alastrantes possuem rizomas longos e colmos distantes entre si com padrão de ramificações monopodial, ocorrendo principalmente em regiões de clima temperado. No sistema de rizomas simpodial, cada nova brotação de colmo torna-se dominante e desenvolve-se em colmo, enquanto no monopodial a gema dominante é simples e os colmos desenvolvem-se a partir de gemas secundárias. Ainda há ocorrência de sistemas de rizomas intermediários de combinações desses (KIGOMO, 2007).

O cultivo e manejo dos bambus são atividades altamente sustentáveis, entre outras, por serem recursos renováveis. Bambuzais prestam serviços ambientais associados à contenção de solos, reduzindo assim a erosão, a manutenção e recuperação de recursos hídricos e matas ciliares e a redução de pressão de desmatamento de florestas nativas, reduzindo a pressão sobre os ecossistemas ameaçados no Brasil. Outro serviço ecossistêmico prestado por bambus é a sua associação com a fauna, seja por alimento ou abrigo (HAEMIG, 2012 a, b). A sua cadeia produtiva possibilita também a promoção da inserção social, pois seu

plântio permite cortes seletivos e permanentes resultando assim em serviços sociais constantes. O plântio do bambu gera também empregos qualificados no campo, com manejo e colheita mais tecnificados.

Os bambus lignificados são também vulgarmente chamados de madeira-dos-pobres por serem matérias primas de grande disponibilidade às populações com menor renda. A ampla distribuição mundial e rusticidade tornam estes bambus uma boa fonte de material para construções, principalmente para o meio rural devido a maior disponibilidade no campo (OLIVEIRA, 2011). Este amplo potencial de uso inclui a construção civil, sendo os colmos utilizados como pilar, viga, caibro, ripa, telha, dreno, piso, revestimentos, e se tratado adequadamente, pode durar como madeira de alta qualidade. Ainda há possibilidade do uso como substituto a vergalhões de aço em estruturas de concreto armado (PACHECO-TORGAL e JALALI, 2010). Atualmente a multiplicidade de formas de beneficiamento industriais permite a diversificação dos produtos obtidos de colmos, tais como os *plybamboo* e *Strand Woven Bamboo* (SWB) (VOGTLÄNDER et al., 2010). Visto que as fontes de matéria prima para aplicações de madeiras de alta densidade estão se esgotando e as alternativas de plântio certificado não atendem à demanda, o bambu se apresenta como uma excelente alternativa para suprir estas necessidades (GRECO e CROMBERG, 2011).

No Brasil há potencial para o plântio tanto de espécies nativas como exóticas. Dentro das nativas destacam-se algumas espécies do gênero *Guadua*, que apresentam alta resistência e durabilidade. Este gênero, nativo da América, é conhecido e utilizado há pelo menos 5.000 anos e encontra-se amplamente distribuído no Brasil, compondo vastas florestas naturais nas planícies amazônicas do Acre. Com relação às exóticas, as espécies que apresentam maior potencial são *Dendrocalamus giganteus*, *D. latiflorus* e *D. asper*, e os gêneros *Phyllostachys* e *Bambusa* (AZZINI e BERARDO, 2001; PEREIRA, 2001; GRECO e CROMBERG, 2011).

A cadeia produtiva dos bambus é expressiva em vários países, gerando mais de sete bilhões de dólares anuais na economia mundial na forma de produtos variados, tais como papel, compensados, laminados, pisos, revestimentos, estruturas, alimento, artesanato, movelaria, dentro dos mais de 1.500 usos catalogados. Atualmente, no Brasil, a importância econômica dos bambus deixou de estar relacionada apenas ao artesanato e produção de móveis e estas plantas e seus produtos são hoje utilizados na construção de casas, quiosques, produtos laminado-colado e para

consumo alimentar em forma de brotos. As espécies mais indicadas para esse fim são *D. giganteus*, *D. latiflorus*, *D. asper*, *P. pubescens* e *P. bambusoide* (GRECO e CROMBERG, 2011).

Outras espécies de importância econômica são *Bambusa vulgaris*, utilizada na produção de bioenergia (carvão e etanol), celulose e papel, *B. lako* e *B. vulgaris* var. *vitata* no uso ornamental por apresentarem cores diferenciadas, *B. oldhamii* na alimentação, e *P. aurea* com uma ampla gama de aplicações associadas ao paisagismo, arquitetura, confecção de móveis, cortinas, indústria da pesca, artesanato em geral e alimentação (GRECO e CROMBERG, 2011).

A *International Network for Bamboo and Ratan* (INBAR), em parceria com o *International Plant Genetic Resources Institute* (IPGRI), publicou a lista das espécies prioritárias de bambus baseada nos seguintes critérios: utilização, cultivo, produtos e processos, germoplasma e recursos genéticos, e agroecologia (BYSTRIAKOVA et al., 2003). Das 38 espécies listadas, 20 foram consideradas prioritárias, sendo também apontadas espécies endêmicas de grande importância para as populações locais. Por esta razão e pela enorme diversidade da subfamília Bambusoideae as pesquisas não devem ficar restritas a essa lista.

### **Cultivo *in vitro* de bambus**

Convencionalmente a propagação dos bambus é feita por sementes, divisão de touceiras e rizomas e estacas de colmos. No entanto, vários problemas são relacionados com essas formas de propagação. As sementes apresentam curta viabilidade e são geralmente consumidas pela fauna associada. Além disso, as plantas de bambu são monocárpicas, bastante heterogêneas e apresentam ciclo de floração longo, para algumas espécies chega até 120 anos. Por sua vez a propagação vegetativa é dificultada pela limitada disponibilidade de propágulos, dependência sazonal, baixa taxa de sobrevivência, incidência de doenças e pragas, classificação taxonômica dificultada, e o alto custo de produção de mudas por técnicas convencionais, principalmente em decorrência de insumos e transporte. Assim, a falta de mudas de bambu com qualidade genética e fitossanitária pode tornar-se um gargalo na cadeia produtiva, pois os métodos convencionais de propagação não conseguem atender a demanda (OPRINS et al., 2004; MUDOI et al., 2013; SINGH et al., 2013).

As biotecnologias associadas às técnicas de cultura de tecidos vegetais apresentam grande potencial para o desenvolvimento e a propagação massal de genótipos superiores, com captura e fixação de

ganhos genéticos e qualidade fitossanitária, bem como para o estabelecimento de bancos de germoplasma, visando à manutenção da variabilidade genética das populações naturais (GUERRA et al., 1999). Para ambos atributos as técnicas mais avançadas possibilitam a produção industrial de plantas *in vitro* em condições controladas, as chamadas biofábricas, a partir de segmentos de plantas matrizes de alto valor genético, seguindo protocolos desenvolvidos especificamente para cada espécie a ser propagada.

Alexander e Rao (1968) foram os primeiros a relatar a germinação de sementes assépticas de híbridos de bambu (*Bambusa x Saccharum*) em meio de cultura contendo sacarose, dando início a cultura de tecidos de bambu. Ressalta-se que não têm sido reportados avanços expressivos no melhoramento de bambus por meio de métodos convencionais (SINGH et al., 2013).

A literatura associada a esta área revela que protocolos eficientes de micropropagação que podem ser utilizados para fins comerciais, foram estabelecidos somente para 11 espécies (JIMÉNEZ et al., 2006; KAPOOR e RAO, 2006; RAMANAYAKE et al., 2006). Uma vez que a diversidade de espécies de bambu é muito vasta, é necessário estabelecer protocolos característicos para cada espécie (JIMÉNEZ e GUEVARA, 2007).

Mehta et al. (2011), Mudoi et al. (2013) e Singh et al. (2013) revisaram a possibilidade de propagação massal e a obtenção de mudas uniformes de bambus por meio de diferentes sistemas regenerativos *in vitro*. Tanto a embriogênese somática (LIN et al., 2012; BAG et al. 2012) como a organogênese (JIMÉNEZ et al., 2006; RAMANAYAKE et al., 2006) têm sido as rotas morfogenéticas *in vitro* efetivamente empregadas para as finalidades apontadas anteriormente, e o desenvolvimento de protocolos para a propagação *in vitro* tem sido de grande relevância para a otimização de laboratórios-biofábricas (JIMÉNEZ e GUEVARA, 2007; SINGH et al., 2013; MUDOI et al., 2013).

Dentre os fatores que influenciam a organogênese em bambu, destacam-se o genótipo, o estado fisiológico do tecido e a época do ano em que os explantes são coletados e cultivados (MUDOI et al., 2013; SINGH et al., 2013). Explantes de *Dendroclaurus asper* coletados durante a primavera tiveram melhores respostas em termos de diminuição da contaminação e aumento da brotação levando a um alto número de brotos (SINGH et al., 2011) enquanto que para *Dendrocalamus hamiltonii*, a melhor época foi o verão (SINGH et al., 2012a).

## **Microbiota associada à plantas e contaminação *in vitro***

A microbiota de plantas pode ser composta por organismos procariotos e eucariotos, entre bactérias, fungos, arqueas, vírus e protozoários, conhecidos por terem capacidade de participar do controle de várias características do hospedeiro, como metabolismo, nutrição, fisiologia e imunologia (OTTMAN et al., 2012; ANDREOTE e PEREIRA E SILVA, 2017). Virtualmente todos os tecidos vegetais abrigam uma comunidade microbiana (TURNER et al., 2013a) e numerosos estudos vêm sendo realizados abordando o isolamento de micro-organismos à partir de tecidos internos e externos de diversos órgãos de plantas (PORRAS-ALFARO e BAYMAN, 2011; VORHOLT, 2012; SCHLAEPI e BULGARELLI, 2015). A diversidade e composição das comunidades microbianas pode variar entre e dentro de órgãos de uma mesma planta (ANDREOTE e PEREIRA E SILVA, 2017). A filosfera é a região aérea das plantas que suporta uma diversificada comunidade de micro-organismos, que habitam tanto tecidos internos (micro-organismos endofíticos) como tecidos superficiais (micro-organismos epifíticos) (LINDOW e BRANDL, 2003). Os segmentos nodais são identificados como os melhores explantes para a microporpropagação de bambu (GOYAL et al., 2015) e a microbiota, seja endofítica ou epifítica, dessa região limita a propagação *in vitro* (ALI et al. 2009; RAY et al., 2017). Os contaminantes crescem rapidamente utilizando os nutrientes do meio de cultura, resultando em mortalidade dos tecidos e redução do crescimento da planta (LEIFERT et al., 1991). O uso de biocidas e antibióticos para controle da contaminação *in vitro* de bambu é relatado (MUDOI e BORTHAKUR, 2009; SHARMA e SARMA, 2011; NADHA et al., 2012, RAY et al., 2017) mas o seu uso indiscriminado pode levar à resistência do micro-organismo (POLLOCK et al., 1983), bem como à fitotoxicidade (KULKARNI et al., 2007).

### **Metagenômica – *Metabarcoding***

O desenvolvimento das tecnologias de sequenciamento de nova geração (NGS – *next generation sequencing*) permite o acesso ao genoma da comunidade microbiana presente no ambiente sem a necessidade de cultivo desses organismos (MARGULIES et al., 2005, CUADROS-ORELLANA et al., 2013). A utilização de NGS aumentou substancialmente durante a última década devido ao baixo custo e vantagens da técnica. Como consequência, o número de projetos de

metagenômica tem aumentado exponencialmente (WOOLEY et al., 2010).

A metagenômica é o estudo do conjunto dos distintos genomas (completos ou parciais) de micro-organismos de um ambiente (TRINGE et al., 2005). A abordagem de metagenômica baseada em uma amplificação prévia de uma região genômica específica, ou metagenômica de amplicon (*targeted metagenomics* ou *metabarcoding*), permite o estudo quali-quantitativo da variação da diversidade de comunidades de micro-organismos no espaço e/ou no tempo quando a região selecionada é um metacódigo de barras de DNA do grupo taxonômico em estudo (IOM, 2013). Como a metagenômica independe dos métodos microbiológicos tradicionais de cultivo, essa abordagem metodológica possibilita o acesso à diversidade total de microbiotas de qualquer tipo de substrato em qualquer ambiente do planeta, sem as restrições impostas pela seletividade que existe em outros métodos (CUADROS-ORELLANA et al., 2013).

Muitos estudos, por meio da metagenômica, vêm encontrando correlações entre a composição de microrganismos e características ambientais e geográficas, tais como salinidade, profundidade e latitude (MARTINY et al., 2006).

Nesse contexto, as análises a partir do DNA *Barcode* possibilitam uma identificação rápida e padronizada das espécies em determinada amostra. O método consiste na utilização de um pequeno segmento padronizado de DNA que seja suficientemente variável a nível específico, mas pouco variável ao nível infra-específico, baseado na premissa de que a variação genética entre as espécies analisadas excede a variação existente dentro destas mesmas espécies para o segmento de DNA selecionado (HERBERT *et al.* 2003).

Tais abordagens influenciam diretamente no conhecimento da real diversidade de micro-organismos. Sendo assim, a identificação molecular, além de ser uma ferramenta prática, representa modernização no estudo da diversidade da maioria dos grupos de organismos.

## HIPÓTESES

- O estabelecimento *in vitro* de espécies de bambu é influenciado pela combinação de agentes químicos de desifestação (PPM e casugamicina) e a consistência do meio de cultura;
- Espécies de bambu apresentam alta riqueza e diversidade de micro-organismos associados;
- O meio de cultura atua como agente seletivo da comunidade microbiana associada à bambu, alterando a riqueza e diversidade da comunidade.



## OBJETIVOS

### Objetivo Geral

Avaliar o estabelecimento de culturas *in vitro* e caracterizar comunidades microbianas associadas à bambu e ao meio de cultura.

### Objetivos específicos

a) Avaliar a eficácia do antibiótico casugamicina e do biocida PPM no meio de cultura, e a consistência do mesmo no estabelecimento de *Bambusa vulgaris*, *Phyllostachys bambusoides* e *Dendroclamaus asper in vitro*,

b) Conhecer, através de abordagens de *metabarcoding*, a composição da comunidade de Archaea, Bacteria e Fungi em tecidos internos e externos de segmentos nodais de *Dendroclamaus asper* e no meio de cultura;

c) Comparar a riqueza e diversidade taxonômica de Archaea, Bacteria e Fungi em tecidos internos e externos de segmentos nodais de *Dendroclamaus asper* e no meio de cultura;

d) Identificar os táxons com maior abundância relativa de sequências em tecidos internos e externos de segmentos nodais de *Dendroclamaus asper* e no meio de cultura

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDER, M.P., RAO, T.C. (1968). *In vitro* culture of bamboo embryo. *Curr Sci*, 37:415
- ALI, H., NIRMALA, C., SHARMA, M. (2009) Control of *in vitro* contamination in bamboos. *Plant Cell Biotechnol Mol Biol* 10(3&4):119–124.
- ANDREOTE, F.D., PEREIRA E SILVA, M de C. (2017) Microbial communities associated with plants: learning from nature to apply it in agriculture. *Current Opinion in Microbiology*, 37:29–34
- ARYA, S., SATSANGI, R., ARYA, .ID. (2002). Rapid mass multiplication of edible bamboo *Dendroclaurus asper*. *J Sustain For*, 4:103–109.
- AZZINI, A., BERALDO, A.L. (2001). *Métodos práticos para utilização do bamboo*. Gráfica da UNICAMP, Campinas, SP, 14p.
- BAG, N., PALNI, L.M.S., CHANDRA, S., NANDI, S.K. (2012). Somatic embryogenesis in ‘Maggar’ bamboo (*Dendrocalamus hamiltonii*) and field performance of regenerated plants. *Curr Sci*, 102:1279–1287.
- BPG (BAMBOO PHYLOGENY GROUP) (2012). An updated tribal and subtribal classification of the bamboos (Poaceae: Bambusoideae). *Bamboo Science and Culture: The Journal of the American Bamboo Society*, 24(1): 1-10.
- BYSTRIAKOVA, N., KAPOS, V., LYSENKO, I., STAPLETON, C.M.A. (2003). Distribution and conservation status of forest bamboo biodiversity in the Asia-Pacific Region. *Biodivers. Conserv.* 12: 1833–1841
- CRUZ RÍOS, H. (2009). *Bambú–Guadua (Guadua angustifolia Kunth): Bosques naturales en Colombia y plantaciones comerciales en México*. 1ed. Colômbia: Colmex. 691p.
- CUADROS-ORELLANA, S., LEITE, L.R., SMITH, A., MEDEIROS, J.D., BADOTTI, F., FONSECA, P.L.C., VAZ, A.B.M., OLIVEIRA, G.,

- GÓES-NETO, A. (2013) Assessment of Fungal Diversity in the Environment using Metagenomics: a Decade in Review. *Fungal Genomics & Biology* 3: 110
- DEKKERS, A.J., RAO, A.N. (1989). Tissue culture of four bamboo genera. In: Rao, A.N., Yusoff, A.M. (eds) *Tissue Culture of Forest Species*, FRIM/IDRC: 89–90.
- FILGUEIRAS, T.S., GONCALVES, A.P.S. (2004). A checklist of the basal grasses and bamboos in Brazil. *Bamboo Science and Culture* 18(1): 7-18.
- GOYAL ,A.K., PRADHAN, S., BASISTHA, B.C., SEM, A. (2015) Micropropagation and assessment of genetic fidelity of *Dendrocalamus strictus* (Roxb.) nees using RAPD and ISSR markers. *Biotech* 5(4):473–482.
- GPWG (GRASS PHYLOGENY WORKING GROUP). (2001). Phylogeny and subfamilial classification of the grasses (*Poaceae*). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 88(3): 373-430.
- GRECO, T.M., CROMBERG, M. (2011). *BAMBU cultivo e manejo*. Editora Insular, Florianópolis, 184p.
- GUERRA, M.P., TORRES, A.C., TEIXEIRA, J.B. (1999). Embriogênese Somática e Sementes Sintéticas. 1999. In: Torres, A.C., Caldas, L.S., Buso, J.A. (eds.). *Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas*, v. 2, Embrapa, Brasília, p. 533-568.
- HAEMIG, P.D. (2012a). *Pássaros e Mamíferos Associados ao Bambu na Mata Atlântica*. *Ecologia.Info* 5. Disponível em: <http://www.ecologia.info/bambu.htm>. Acesso em: 13/02/2014.
- HAEMIG, P.D. (2012b). *Pássaros da Amazônia Associados ao Bambu*. *Ecologia.Info* 7. Disponível em: <http://www.ecologia.info/bambu.htm>. Acesso em: 13/02/2014.
- HERBERT, P.D.N.; CYWINSKA, A.; BALL, S.L.; DEWARD, J.R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proc Biol Sci.* 270(1512): 313–321, doi: [10.1098/rspb.2002.2218](https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218).

HIDALGO LOPEZ, O. (2003). *Bamboo: The gift of the Gods*. 1. ed. Bogotá, Colombia: D'vinni Ltda. 553p.

HUANG, L., MURASHIGE, T. (1983). Tissue culture of bamboo. *Bot Bull Acad Sin* 24: 31–52.

HUANG, L.C., HUANG, B.L. (1995). Loss of species distinguishing trait among regenerated *Bambusa ventricosa* McClure plants. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 42:109–111

HUANG, L.C., HUANG, B.L., CHEN, W.L. (1989). Tissue culture investigations of bamboo—IV. Organogenesis leading to adventitious shoots and plants in excised shoot apices. *Environ Exp Bot*, 19: 307–315.

JIMÉNEZ, V.M., CASTILLO, J., TAVARES, E., GUEVARA, E., MONTIEL, M. (2006). *In vitro* propagation of the neotropical giant bamboo, *Guadua angustifolia* Kunth, through axillary shoot proliferation. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 86, 389–395

JIMENEZ, V.M., GUEVARA, E. (2007). Micropropagation of bamboo species through axillary shoot proliferation. In (eds): Jain, M., Haggman, H. *Protocols for Micropropagation of Woody Trees and Fruits*, Springer, The Netherlands, 465–467.

JUDZIEWICZ, E.J., CLARK, L.G. (2007). Classification and biogeography of New World Grasses: Anomochloideae, Pharoideae, Ehrhartoideae, and Bambusoideae. *Aliso*, 23: 303–314.

JUDZIEWICZ, E.J., CLARK, L.G., LONDOÑO, X., STERN, M.J. (1999). *American Bamboos*. 1.ed. Washington: Smithsonian. 392p

KAPOOR, P., RAO, I.U. (2006). *In vitro* rhizome induction and plantlet formation from multiple shoots in *Bambusa bambos* var. *gigantea* Bennet and Gaur by using growth regulators and sucrose. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 85:211–217.

KELCHNER, S.A., BPG (Bamboo Phylogeny Group). (2013). Higher level phylogenetic relationships within the bamboos (*Poaceae: Bambusoideae*) based on five plastid markers. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 67: 404–413.

KIGOMO, B. (2007). *Guidelines for growing bamboo*. KFRI Guideline Series: No 4, Kenya Forestry Research Institute, Nairobi, Kenya.

KULKARNI AA, KELKAR SM, WATVE MG, KRISHNAMURTHY KV (2007) Characterization and control of endophytic bacterial contaminants in *in vitro* cultures of *Piper* spp., *Taxus baccata* subsp. *wallichiana*, and *Withania somnifera*. *Can J Microbiol* 53(1):63– 74. doi:10.1139/w06-106.

LEIFERT C, RITCHIE JY, WAITES WM (1991) Contaminants of plant-tissue and cell cultures. *World J Microbiol Biotechnol* 7(4):452–469.

LIN, C.S., KALPANA, K., CHANG, W.C., LIN, N.S. (2007). Improving multiple shoot proliferation in bamboo mosaic virus-free *Bambusa oldhamii* Munro propagation by liquid culture. *Hortic Sci*, 42:1243–1246.

LIN, X., HUANG, L., FANG, W. (2012). Bamboo Regeneration via Embryogenesis and Organogenesis, *Embryogenesis*, Dr. Ken-Ichi Sato (Ed.), ISBN: 978-953-51-0466-7, InTech. DOI: 10.5772/37138.

LINDOW, S.E., BRANDL, M.T. (2003) Microbiology of the Phyllosphere. APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Vol. 69, No. 4: 1875–1883 DOI: 10.1128/AEM.69.4.1875–1883.2003

LOBOVIKOV, M., PAUDEL, S., PIAZZA, M., REN, H., WU, J. (2007). *World bamboo resources: a thematic study prepared in the framework of the Global Forest Resources Assessment 2005*. FAO, Rome

LONDOÑO, X., ZURITA, E. (2008). Two new species of *Guadua* (*Bambusoideae: Guaduinae*) from Colombia and Bolivia. *J. Bot. Res.Inst. Texas* 2: 25-34.

MARGULIES, M., EGHOLM, M., ALTMAN, W.E., ATTIYA, S., BADER, J.S., BEMBEN, L.A., BERKA, J., BRAVERMAN, M.S., CHEN, Y.J., CHEN, Z.T. (2005). Genome sequencing in microfabricated highdensity picolitre reactors. *Nature*, 437: 376–380.

MARTINY, J.B.H., BOHANNAN, B.J.M., BROWN, J.H., COLWELL, R.K., FUHRMAN, J.A., GREEN, J.L., HORNER-DEVINE, M.C.,

KANE, M., KRUMINS, J.A., KUSKE, C.R., MORIN, P.J., NAEEM, S., OEVREAAS, L., REYSENBACH, A.L., SMITH, V.H., STALEY, J.T. (2006). Microbial biogeography: putting microorganisms on the map. *Nature Reviews: Microbiology* 4: 102-112.

MEHTA, R., SHARMA, V., SOOD, A., SHARMA, M., SHARMA, R.K. (2011). Induction of somatic embryogenesis and analysis of genetic fidelity of *in vitro* derived plantlets of *Bambusa nutans* Wall. using AFLP markers. *Eur J Forest Res* 130:729–736.

MISHRA, Y., PATEL, P.K., YADAV, S., SHIRIN, F., ANSARI, S.A. (2008). A micropropagation system for cloning of *Bambusa tulda* Roxb. *Sci Hortic*, 115:315–318.

MISHRA, Y., RANA, P.K., SHIRIN, F., ANSARI, S.A. (2001). Augmenting *in vitro* shoot multiplication by vipul (triacetanol) and adventitious rhizogenesis by rice bran extract in *Dendrocalamus strictus*. *Indian J Exp Biol*, 39:165–169.

MUDOI, K.D., BORTHAKUR, M. (2009) *In vitro* micropropagation of *Bambusa balcooa* Roxb. through nodal explants from field-grown culms and scope for upscaling. *Curr Sci India* 96(7):962–966.

MUDOI, K.D., SAIKIA, S.P., GOSWAMI, A., GOGOI, A., BORA, D., BORTHAKUR, M. (2013). Micropropagation of important bamboos: A review. *African Journal of Biotechnology*, 12(20); 2770-2785.

NADGAUDA, R.S., JOHN, C.K., MASEARENHAS, A.F. (1990). Precocious flowering and seedling behaviour in tissue cultured bamboos. *Nature*, 344:355–356.

NEGI, D., SAXENA, S. (2011). *In vitro* propagation of *Bambusa nutans* Wall. ex Munro through axillary shoot proliferation. *Plant Biotechnol, Rep* 5:35–43.

OLIVEIRA, C.L.S. Bambu: uma proposta para o desenvolvimento sustentável da agricultura familiar no Distrito Federal. Monografia apresentada a faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília. 2011.129 fls. Disponível em:<http://bdm.bce.unb.br/>. Acesso em: 12/02/2014.

OPRINS, J., GRUNEWALD, W., GILLIS, K., DELAERE, P., PEETERS, H., GIELIS, J. (2004). Micropropagation: a general method for commercial bamboo production. In: *Proceedings of the 7th World Bamboo Congress*.

OTTMAN, N., SMIDT, H., DE VOS, W.M., BELZER, C. (2012) The function of our microbiota: who is out there and what do they do? *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2:104 doi.org/10.3389/fcimb.2012.00104.

PACHECO-TORGAL, F., JALALI, S. (2010). Cementitious building materials reinforced with vegetable fibres: a review. *Constr Build Mater*, 25(2):575-81.

PEREIRA, M.A.R. (2001). *Bambu: espécies, características e aplicações*. Apostila de curso, UNESP, Bauru, SP, 2001.

PETERSON, P.M. (2005). Grasses: family *Poaceae*. Pp. 104-108. In: krupnick, G.A. and kress, W.J. (eds.). *Plant conservation: A natural history approach*. Chicago: University of Chicago Press

POLLOCK, K., BARFELD, D.G., SHIELDS, R. (1983) The toxicity of antibiotics to plant cell cultures. *Plant Cell Rep* 2(1):36–39.

PORRAS-ALFARO, A., BAYMAN, P. (2011). Hidden fungi, emergent properties: Endophytes and microbiomes. *Ann. Rev. Phytopathol.* 49:291-315

RAMANAYAKE, S.M.S.D., MEEMADUMA, V.N., WEERAWARDENE, T.E. (2006). *In vitro* shoot proliferation and enhancement of rooting for the large-scale propagation of yellow bamboo (*Bambusa vulgaris* ‘*Striata*’). *Sci. Hort.* 110: 109–113

RATHORE, T.S., KABADE, U., JAGADISH, M.R., SOMASHEKAR, P.V., VISWANATH, S. (2009). Micropropagation and evaluation of growth performance of the selected industrially important bamboo species in southern India. In: *Proc 8th World Bamboo Cong Lucas S* (ed) Bangkok, Thailand, p 41–55.

RAY, S.S., ALI, M.N., MUKHERJEE, S., CHATTERJEE, G., BANERJEE, M. (2017) Elimination and molecular identification of

endophytic bacterial contaminants during *in vitro* propagation of *Bambusa balcooa*. *World J Microbiol Biotechnol*, 33:31 DOI 10.1007/s11274-016-2196-z

SÁNCHEZ-KEN, J.G., CLARK, L.G., KELLOGG, E.A., KAY, E.E. (2007). Reinstatement and emendation of subfamily *Micrairoideae* (*Poaceae*). *Systematic Botany*, 32(1): 71-80

SCHLAEPPI, K.; BULGARELLI, D. (2015) The Plant Microbiome at Work. *MPMI* Vol. 28, No. 3, pp. 212–217. doi.org/10.1094/MPMI-10-14-0334-

SHARMA P, SARMA KP (2011) *In vitro* propagation of *Bambusa balcooa* for a better environment. In: *International conference on advances in biotechnology and pharmaceutical sciences* (ICABPS'2011), Bangkok, pp 248–252.

SINGH, S. R., SINGH, R., KALIA, S., DALAL, S., DHAWAN, A. K., KALIA, R. K. (2013). Limitations, progress and prospects of application of biotechnological tools in improvement of bamboo—a plant with extraordinary qualities. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 19(1): 21-41.

SINGH, S.R., DALAL, S., SINGH, R., DHAWAN, A.K., KALIA, R.K. (2011). Micropropagation of *Dendroclamaus asper* (Schult. & Schult. F. Backer ex K Heyne): an exotic edible bamboo. *J Plant Biochem Biotechnol*, 21:220–228.

SINGH, S.R., DALAL, S., SINGH, R., DHAWAN, A.K., KALIA, R.K. (2012) Seasonal influences on *in vitro* bud break in *Dendrocalamus hamiltonii* Arn. ex Munro nodal explants and effect of culture microenvironment on large scale shoot multiplication and plantlet regeneration. *Indian J Plant Physiol*, 17:9–21.

SODERSTROM, T.R. (1981). Some evolutionary trends in the *Bambusoideae* (*Poaceae*). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 68, 15–47.

THIRUVENGADAM, M., REKHA, K.T., CHUNG, I.M. (2011). Rapid *in vitro* micropropagation of *Bambusa oldhamii* Munro. *Philipp Agric Sci*, 94:7–13.



TRINGE, S., VON MERING, C., KOBAYASHI, A., SALAMOV, A., CHEN, K., CHANG, H., PODAR, M., SHORT, J., MATHUR, E., DETTER, J., BORK, P., HUGENHOLTZ, P. & RUBIN, E. (2005) Comparative metagenomics of microbial communities. *Science* 308: 554–557.

TURNER, T.R., JAMES, E.K., POOLE, P.S. (2013a). The plant microbiome. *Genome Biology* 2013, 14:209 <http://genomebiology.com/2013/14/6/209>

VOGTLÄNDER, J., VAN DER LUGT, P., BREZET, H. (2010). The sustainability of bamboo products for local and Western European. Applications. LCAs and land-use. *Journal of Cleaner Production*, 18: 1260 -1269.

VORHOLT, J. (2012). Microbial life in the phyllosphere. *Nature Rev. Microbiol.* 10:828-840.

WOOLEY, J.C., GODZIK, A. & FRIEDBERG, I. (2010) A primer on metagenomics. *PLoS computational biology* 6 (2): e1000667.

ZAMORA, A.B., GRUEZO, S.S., DAMASCO, O.P. (1989). Callus induction and plant regeneration from internode tissues of *Dendrocalamus latiflorus* cv Machiku. In: Rao AN, Yusoff AM (eds) *Proc Seminar Tiss Cult Forest Sp.* FRI Malaysia and IDRC, Singapore, pp 76–82.



## Capítulo I - Estabelecimento de *Bambusa vulgaris*, *Phyllostachys bambusoides* e *Dendroclaurus asper* *in vitro*

### Resumo

A presença de antibiótico casugamicina e PPM (*Plant Preservative Mixture*®) no meio de cultura e a consistência do meio com vistas ao estabelecimento *in vitro* de *Bambusa vulgaris*, *Phyllostachys bambusoides* e *Dendrocalamus asper*, importantes espécies de bambu, foram avaliadas. A interação dos fatores presença de PPM e consistência do meio contribuíram para a diminuição da contaminação microbiana e da oxidação e para o aumento do número de culturas viáveis *in vitro* de *B.vulgaris*, *P. bambusoides* e *D. asper*. A presença do antibiótico casugamicina não promoveu redução significativa da contaminação para *D. asper* e *P. bambusoides*. A estação do ano foi importante para a coleta das três espécies, sendo que o outono foi a estação com maiores índices de culturas viáveis. A presença de PPM no meio de cultura também apresentou efeito significativo nas concentrações de 2 ou 4 mL/L, assim como o meio de cultura gelificado no aumento de plantas estabelecidas. Desta maneira, para o estabelecimento *in vitro* de *B.vulgaris*, *P. bambusoides* e *D. asper* são recomendadas coletas no outono, adição de 2 ou 4 mL/L de PPM ao meio de cultura, e utilização de meio de cultura líquido.

Palavras-chave: micropropagação de bambu, contaminação em bambu, assepsia

### Introdução

Atualmente, no Brasil, a importância econômica dos bambus deixou de estar relacionada apenas ao artesanato e à produção de móveis, e estas plantas e seus produtos são hoje utilizados na construção de casas, quiosques, produtos em bambu laminado-colado e para consumo alimentar em forma de brotos (AZZINI e BERALDO, 2001; GRECO e CROMBERG, 2011). Espécies dos gêneros *Dendrocalamus*, *Bambusa* e *Phyllostachys* têm potencial para o plantio no Brasil (GRECO e CROMBERG, 2011), além das espécies nativas, as quais necessitam de estudos mais aprofundados para determinar sua melhor utilização.

*Bambusa vulgaris* Schrad ex Wendl, originária da Ásia Tropical, é a espécie mais utilizada no mundo. No Brasil é matéria prima para produção de papel na região nordeste do país, sendo também amplamente

aproveitado no meio rural para construções de estruturas temporárias, cercas, dentre outros usos (PEREIRA e BERALDO, 2008). *Phyllostachys bambusoides* Sieb. & Zucc., originária da China, tem como principal uso a construção de móveis e laminados e *Dendroclamaus asper* (Schult. & Schult. f.) Baker ex K. Heyne, espécie tropical de bambu simpodial gigante, originária do Sudeste Asiático, tem utilização diversificada como ornamental, biocombustível, fibras, substituta da madeira em processos industriais, e na forma de brotos comestíveis (SINGH et al., 2012).

Tradicionalmente, espécies de bambu são propagadas por sementes ou vegetativamente, este último por meio de segmentos de colmo ou de rizomas. No entanto, vários problemas são relacionados com essas formas de propagação. As sementes apresentam curta viabilidade e são geralmente consumidas pela fauna associada. Além disso, as plantas de bambu são monocárpicas, bastante heterogêneas e apresentam ciclo de floração longo, sendo que para algumas espécies chega até 120 anos. Por sua vez, a propagação vegetativa é dificultada pela limitada disponibilidade de propágulos, dependência sazonal, baixa taxa de sobrevivência, incidência de doenças e pragas, classificação taxonômica dificultada, e o alto custo de produção de mudas por técnicas convencionais, principalmente em decorrência de insumos e transporte. Assim, a falta de mudas de bambu com qualidade genética e fitossanitária pode tornar-se um gargalo na cadeia produtiva, pois os métodos convencionais de propagação não conseguem atender a demanda (OPRINS et al., 2004; MUDOI et al., 2013; SINGH et al., 2013).

Frente a essa lacuna na cadeia produtiva do bambu, biotecnologias baseadas na propagação *in vitro* destas plantas se constituem em ferramentas apropriadas para a propagação em larga escala e rotas regenerativas baseadas na organogênese têm sido empregadas com sucesso (JIMÉNEZ e GUEVARA, 2007). Uma vez que a diversidade de espécies de bambu é muito vasta, é difícil obter um único protocolo (passo a passo) que permita a micropropagação de todas elas. Por isso, há a necessidade de testar e refinar condições de cultivo *in vitro* para cada espécie/gênero (JIMÉNEZ e GUEVARA, 2007).

Diversos fatores influenciam o estabelecimento de bambu *in vitro*, tais como a contaminação por micro-organismos, a oxidação dos explantes, estação do ano, a juvenilidade dos explantes e a consistência do meio de cultura (MUDOI et al., 2013; SINGH et al., 2012b),

A contaminação, seja por fungos filamentosos, leveduriformes e/ou bactérias, pode levar a 100% de perda do material introduzido, e assim tornar mais difícil a elaboração de protocolos de micropropagação. Geralmente, a contaminação *in vitro* é atribuída à ineficiência do processo

de desinfecção na fase de estabelecimento e das práticas assépticas de manipulação do material já estabelecido (THOMAS e KUMARI, 2010). Diversos autores relatam a dificuldade em estabelecer explantes de diferentes espécies de bambu *in vitro* devido aos altos índices de contaminação (DAS e PAL, 2005; JIMÉNEZ et al., 2006; RAMANAYAKE et al., 2006; JIMÉNEZ e GUEVARA, 2007; YASODHA et al., 2008; SINGH et al., 2013; MUDOI et al., 2014).

Dentre os agentes químicos mais utilizados para assepsia dos explantes estão o hipoclorito de sódio (0,5 – 5%), hipoclorito de cálcio (9 – 10%) e álcool etílico (70%). Antibióticos, como uma solução aparente, são ocasionalmente utilizados para combater ou controlar o crescimento de micro-organismos *in vitro* (LONDE et al., 2007). Para bambus, no entanto, segundo a literatura, os antifúngicos benomil, carbendazim e mancozeb (RAMANAYAKE e YAKANDAWALA, 1997; JIMÉNEZ e GUEVARA, 2007, SINGH et al., 2012b; MUDOI et al., 2014) e os antibióticos agrimicina, canamicina, streptomycina e gentamicina (JIMÉNEZ e GUEVARA, 2007; NADHA et al., 2012; MUDOI et al., 2014) são amplamente utilizados para desinfecção dos materiais pré-introdução *in vitro*. O uso de alguns antibióticos pode ser eficiente no controle de bactérias *in vitro*, porém seu uso é limitado devido à toxicidade às vitroplantas, possibilidade de indução de resistência em bactérias, e dificuldade de obtenção dos mesmos (ARRUDA, 2000; LONDE et al., 2007).

Um agente químico que tem sido utilizado para eliminar ou controlar micro-organismos *in vitro* é o PPM – *Plant Preservative Mixture*® (Plant Cell Technology, Washington DC, USA). O PPM penetra na parede celular de micro-organismos e inibe diversas enzimas-chave do ciclo do ácido cítrico e da cadeia transportadora de elétrons, atuando como um biocida de amplo espectro (*Plant Cell Technology*, 2018). Trabalhos com diversas espécies de bambus relatam menores índices de contaminação com a adição de PPM ao meio de cultura durante as fases iniciais do cultivo *in vitro*, variando sua concentração de 0,1 à 20% (MUDOI et al., 2013; OGITA et al., 2008; JIMÉNEZ et al., 2006; JIMÉNEZ e GUEVARA, 2007).

A oxidação é bastante comum em explantes de bambu e considerada um dos maiores problemas no estabelecimento *in vitro* (MUDOI et al., 2013, DAS e PAL, 2005). A exsudação de compostos fenólicos causa escurecimento e necrose dos tecidos que sofreram algum tipo de injúria, como a secção do explante, limitando a absorção dos componentes do meio de cultura e o desenvolvimento da planta (MUDOI

et al., 2014; GEORGE et al., 2008). Para bambu, diferentes estratégias são relatadas com a intenção de diminuir a oxidação, como a adição de anti-oxidantes ao meio de cultura (SINGH et al., 2012a; SANJAYA et al., 2005), adição de polivinilpirrolidona - PVP (SAXENA e DHAWAN 1999; JULLIEN e VAN, 1994), frequentes transferências para um novo meio de cultura (SINGH et al., 2012b), e estação do ano de coleta dos explantes (MUDOI et al., 2014), sendo que o sucesso de cada estratégia é dependente da espécie em estudo.

A juvenilidade dos explantes e a estação do ano em que ocorre a coleta são determinantes para a brotação das gemas dormentes e para os índices de contaminação (RAMANAYAKE e YAKANDAWALA, 1997; BANERJEE et al., 2011; SINGH et al., 2012b) e também é dependente das espécies e do local onde estão crescendo.

Geralmente, na etapa de estabelecimento, é utilizado o meio de cultura gelificado, mas para bambu, alguns autores têm relatado maiores índices de multiplicação no meio de cultura líquido (SOOD et al. 2002; DAS e PAL 2005; ARYA et al. 2006; OGITA et al. 2008).

Por hipótese, o estabelecimento *in vitro* de espécies de bambu é influenciado pela combinação de agentes químicos e físicos. Desta maneira, este estudo teve como principal objetivo estabelecer plantas de *Bambusa vulgaris*, *Phyllostachys bambusoides* e *Dendroclamaus asper* *in vitro* em duas estações de coleta e inoculação dos explantes, avaliando a presença do antibiótico casugamicina e do biocida PPM no meio de cultura, e a consistência do mesmo.

## Material e Métodos

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal (LFDGV) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis/SC, Brasil. Como plantas doadoras de explantes foram utilizadas a) *Bambusa vulgaris* - Touceira adulta, Florianópolis/SC (27°34'56"S – 48°30'17"O; ); b) *Phyllostachys bambusoides* – Mudanças com dois anos mantidas em vaso na casa de vegetação do LFDGV (27°34'50"S – 48°30'15"O), c) *Dendroclamaus asper* - Touceira adulta - (27°36'07"S – 48°31'29"O).

Para a obtenção de plantas assépticas foram instalados experimentos de estabelecimento *in vitro* para as três espécies de bambu citadas em duas estações do ano: outono (abril/maio) e primavera (outubro/novembro).

Foram avaliadas três concentrações da solução de Plant Preservative Mixture®- PPM (Plant Cell Technology, Washington DC, USA), 0; 2 e 4 mL/l; presença do antibiótico casugamicina (Kasumin® - Arysta Lifescience), adicionado na quantidade de 3 mL/L para *B. vulgaris* e *P. bambusoides* e 1 mL/L para *D. asper*; e consistência do meio de cultura, líquido ou sólido, sendo este último com adição do agente gelificante ÁGAR® (5 g/L).

Ramos principais e secundários foram coletados e transportados ao LFDGV onde as folhas e bainhas que cobriam as gemas dormentes foram retiradas e limpos com algodão embebido em álcool 70%. Os ramos foram seccionados em segmentos nodais contendo uma gema dormente ( $1,5 \pm 0,5$  cm) e mantidos a 4°C por seis horas. A seguir, os segmentos nodais foram imersos em solução de Tween 20 (1 gota/100 ml de água deionizada estéril - ADE) e mantidos sob agitação por 20 min, imersos em solução contendo bactericida Agrimicina (3 g/L de ADE) por 15 min, seguida de uma lavagem com ADE. Após a pré-asepsia, os explantes foram transferidos para a câmara de fluxo laminar onde foram imersos em álcool 70 % por 2 min seguidos de imersão em NaOCl 2% (cloro ativo) por 15 min. Fez-se três lavagens com ADE e os explantes permaneceram imersos em solução de PPM® 5% por 16 horas. Antes da inoculação em meio de cultura, foram seccionadas as extremidades dos segmentos para retirada de tecido oxidado.

O meio de cultura foi composto por sais de MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962; ANEXO A), suplementado com 3% de sacarose e 2 mL/L de vitaminas de Morel (MOREL e WETMORE, 1951), 15 µM de 6-benzilaminopurina (BAP), 250 mg/L de Polivinilpirrolidona (PVP), 40 mg/L de sulfato de adenina e PPM (0; 2 e 4 mL/L). Nos tratamentos contendo antibiótico, foi adicionado o antibiótico casugamicina nas concentrações já citadas. O pH dos meios de cultura foi ajustado para 5,8 antes da adição de 5 g/L de ágar (para meio de cultura sólido) e autoclavagem por 15 min a 121°C e 1,1 atm de pressão.

Todas as culturas foram mantidas a  $25 \pm 2$  °C sob 16 h de fotoperíodo, iluminadas por lâmpadas fluorescentes tubulares brancas à 40 – 50 µM/m<sup>2</sup>/s.

Para cada experimento, 14 repetições (*B. vulgaris*) e 15 repetições (*P. bambusoides* e *D. asper*) foram utilizadas como unidade experimental. As observações foram anotadas após 25 dias de cultivo e dados de presença/ausência de contaminação aparente por micro-organismos (fungos e bactérias), oxidação (escurecimento do explante) e

estabelecimento (brotação da gema com ausência de contaminação e oxidação) foram registrados.

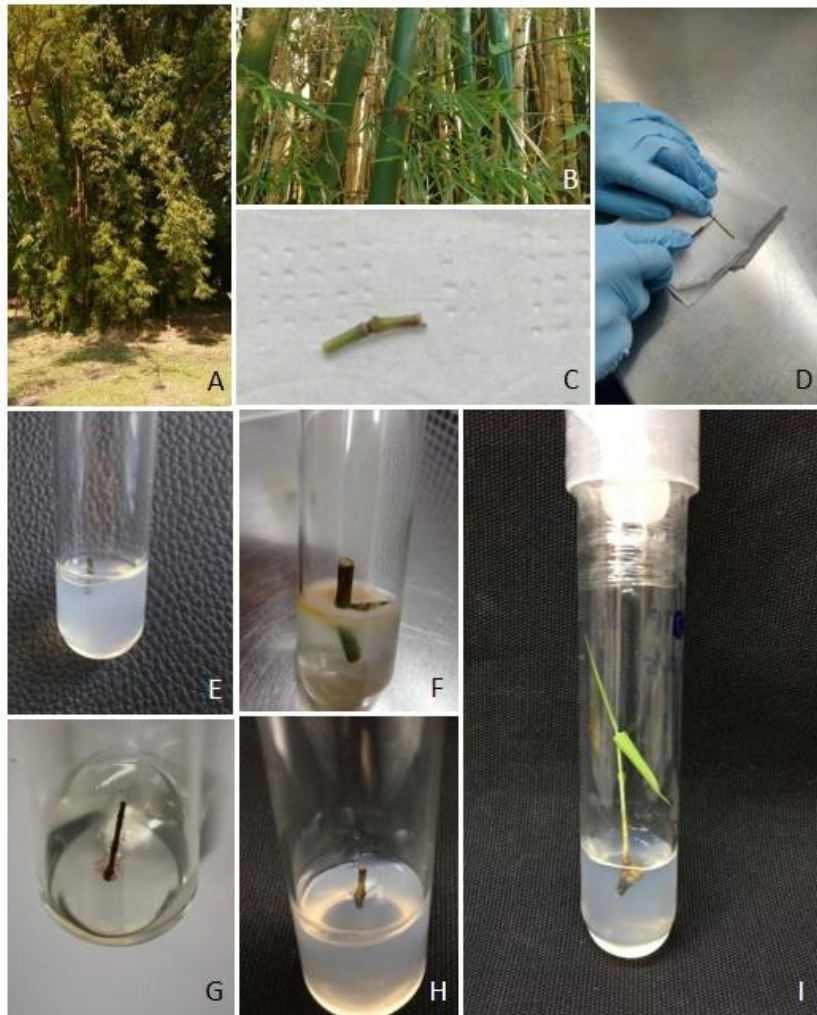
O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado. Modelos de regressão foram aplicados em todas as análises onde utilizaram-se modelos lineares generalizados. Para todos os modelos selecionados aplicou-se o critério de informação de Akaike (AKAIKE, 1974). Efeitos e coeficientes foram considerados significantes quando  $p < 0,05$  e médias foram separadas ao nível de 95% de significância. Todas as análises foram realizadas na plataforma R (R CORE TEAM, 2014) e os pacotes utilizados foram "car" (FOX e WEISBERG, 2011), "gdata" (WARNES, 2012), "ggplot2" (WICKHAM, 2009), "gmodels" (WARNES et al., 2012) e "mass" (VENABLES e RIPLEY, 2002).

### **Resultados e Discussão**

Para análise das observações e obtenção de resposta efetiva de estabelecimento, foram utilizados os dados brutos registrados aos 25 dias após a inoculação. A figura 1 ilustra as etapas do processo de estabelecimento *in vitro* de *Bambusa vulgaris*.

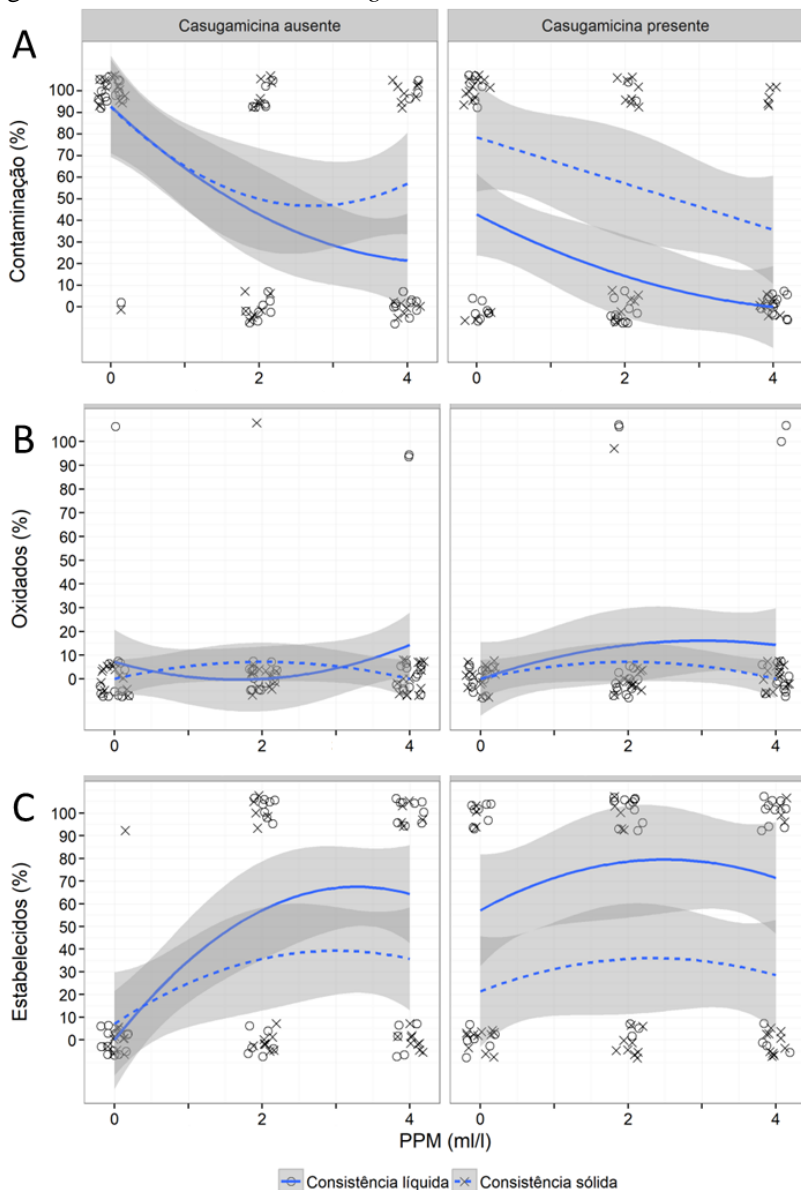


Figura 1. Etapas do processo de estabelecimento de *Bambusa vulgaris in vitro*: A – Planta matriz; B – ramos axilares; C – segmento nodal; D – secção do segmento nodal; E – explante recém inoculado *in vitro*; F – explante contaminado por fungo; G – explante contaminado por bactéria; H – explante oxidado; I – planta estabelecida. Fonte: o autor.



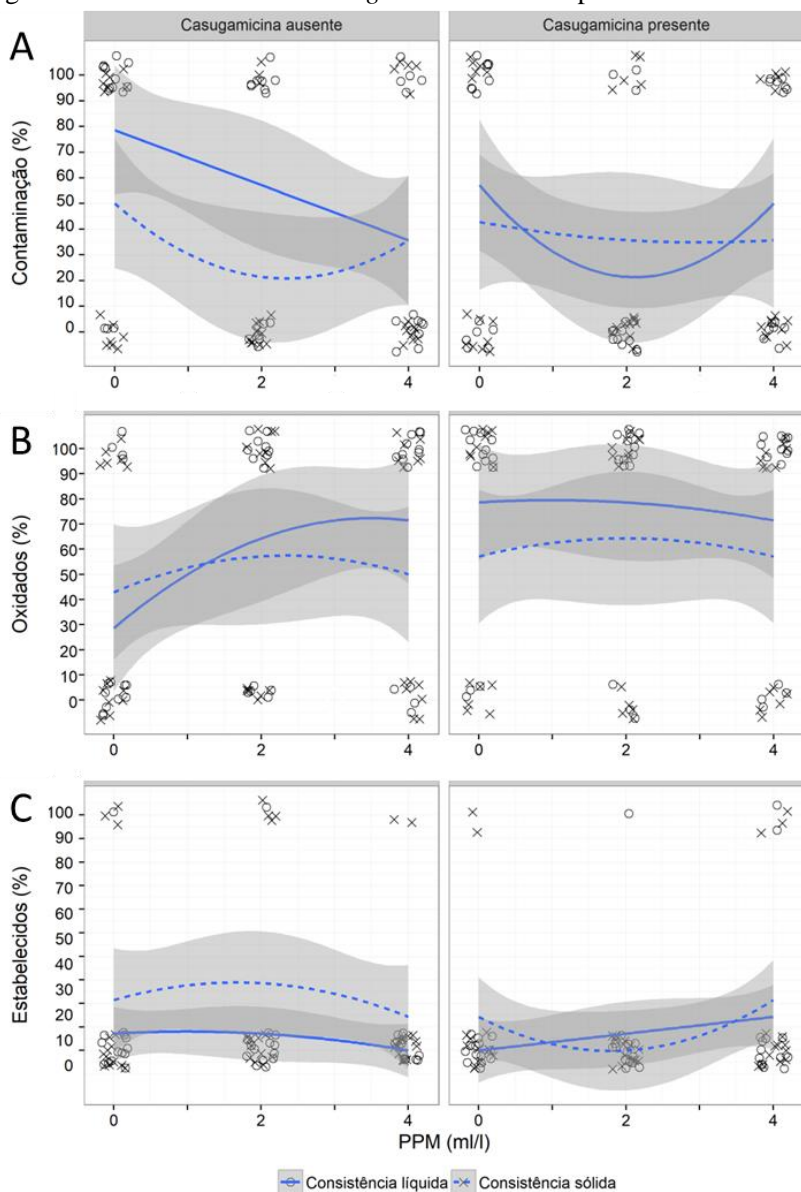
Culturas originadas de explantes de *Bambusa vulgaris* coletados no outono mostraram diferença significativa entre as concentrações de PPM e entre ausência/presença de casugamicina ( $P < 0,05$ ) em relação à contaminação microbiana aparente (Fig. 2A). De modo geral, houve decréscimo da contaminação conforme se aumentou a dose de PPM (0 a 4 ml/L), demonstrando sua atuação como biocida, assim como a presença de casugamicina resultou em menores percentuais de contaminação. Somente foi observada diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre as consistências do meio de cultura na presença de casugamicina, onde o meio líquido apresentou menor percentual de explantes contaminados. A oxidação dos explantes coletados no outono não foi influenciada pelos fatores em estudo ( $P < 0,05$ ) (Fig. 2B), onde os valores mantiveram-se abaixo de 20% de explantes oxidados. Quando analisados os explantes estabelecidos, verificou-se interação entre os fatores e que esta variável foi modulada pela presença de PPM e de casugamicina ( $P < 0,05$ ) (Fig. 2C). O aumento na dose de PPM e a presença do antibiótico proporcionaram maior número de explantes não contaminados e que tiveram suas gemas desenvolvidas. O maior valor observado de explantes estabelecidos (80%) deu-se em meio de cultura líquido, acrescido de casugamicina e 2 ml/l de PPM.

Figura 2. Contaminação, oxidação e estabelecimento *in vitro* de segmentos nodais de *Bambusa vulgaris* coletados no outono.



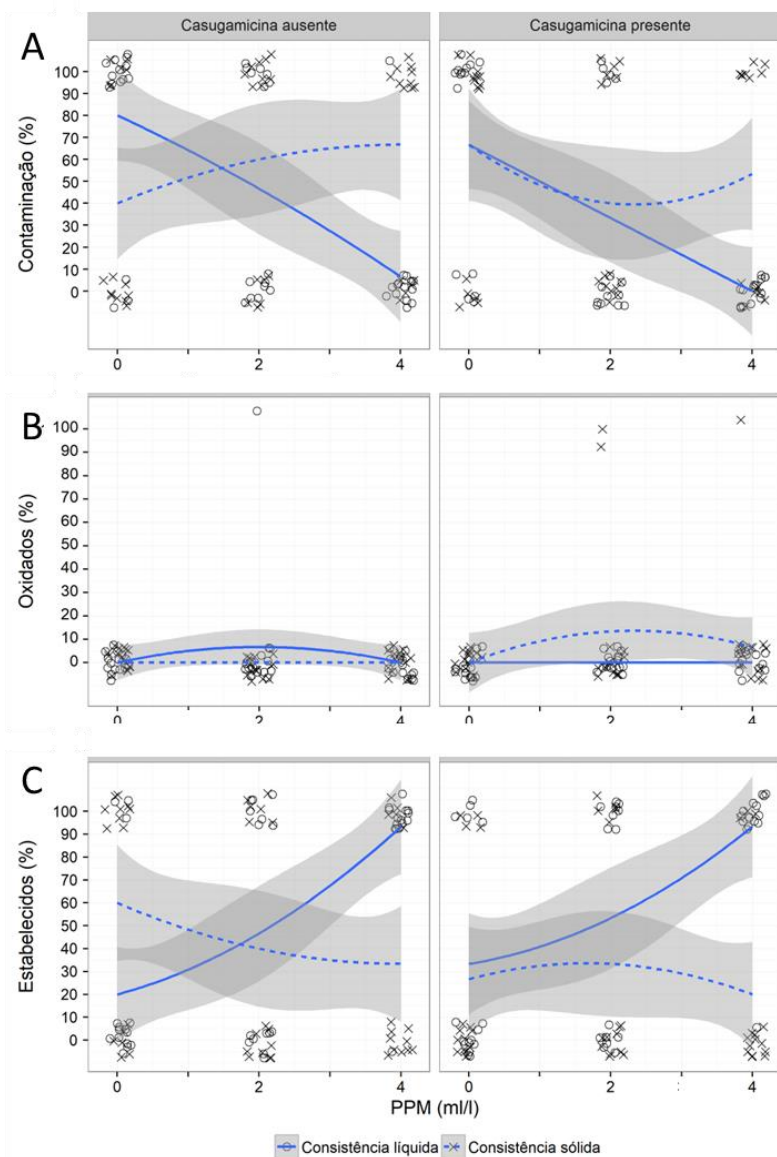
Na primavera, a contaminação nos explantes de *Bambusa vulgaris* foi influenciada pela presença de PPM no meio de cultura mas não houve diferença significativa entre as concentrações 2 e 4 ml/l ( $P < 0,05$ ) (Fig. 3A). Nesta estação do ano, os explantes apresentaram alto percentual de oxidação, chegando a 80% em meio de cultura líquido (Fig. 3B). Diferença significativa foi observada apenas em relação à casugamicina, onde na sua ausência foram obtidos menores valores de oxidação. O estabelecimento dos explantes foi influenciado principalmente pela consistência do meio de cultura, onde em meio sólido e na ausência de casugamicina foi observado até 30 % de explantes estabelecidos (Fig. 3C).

Figura 3. Contaminação, oxidação e estabelecimento *in vitro* de segmentos nodais de *Bambusa vulgaris* coletados na primavera.



Explantos de *Phyllostachys bambusoides* coletados no outono mostraram que a contaminação microbiana foi modulada pela interação entre PPM e a consistência do meio de cultura ( $P < 0,05$ ) (Fig. 4A). Culturas em meio líquido acrescido de PPM apresentaram menores percentuais de contaminação, sendo observado 0% de contaminação em meio de cultura líquido acrescido de 4 mL/L de PPM. Os fatores não apresentaram diferença significativa ( $P < 0,05$ ) sobre a oxidação dos explantes e os valores apresentaram-se entre 0 e 15% nesta época do ano (Fig. 4B). Quando avaliado o estabelecimento dos explantes *in vitro*, as respostas foram moduladas pela interação entre os fatores ( $P \leq 0,05$ ) (Fig. 4C). Verificou-se que a adição e aumento da concentração de PPM no meio de cultura promoveu aumento do número de explantes estabelecidos, bem como o uso do meio de cultura líquido. O maior valor observado de explantes estabelecidos (90 %) deu-se em meio de cultura líquido acrescido de 4 mL/L de PPM independente da presença de casugamicina.

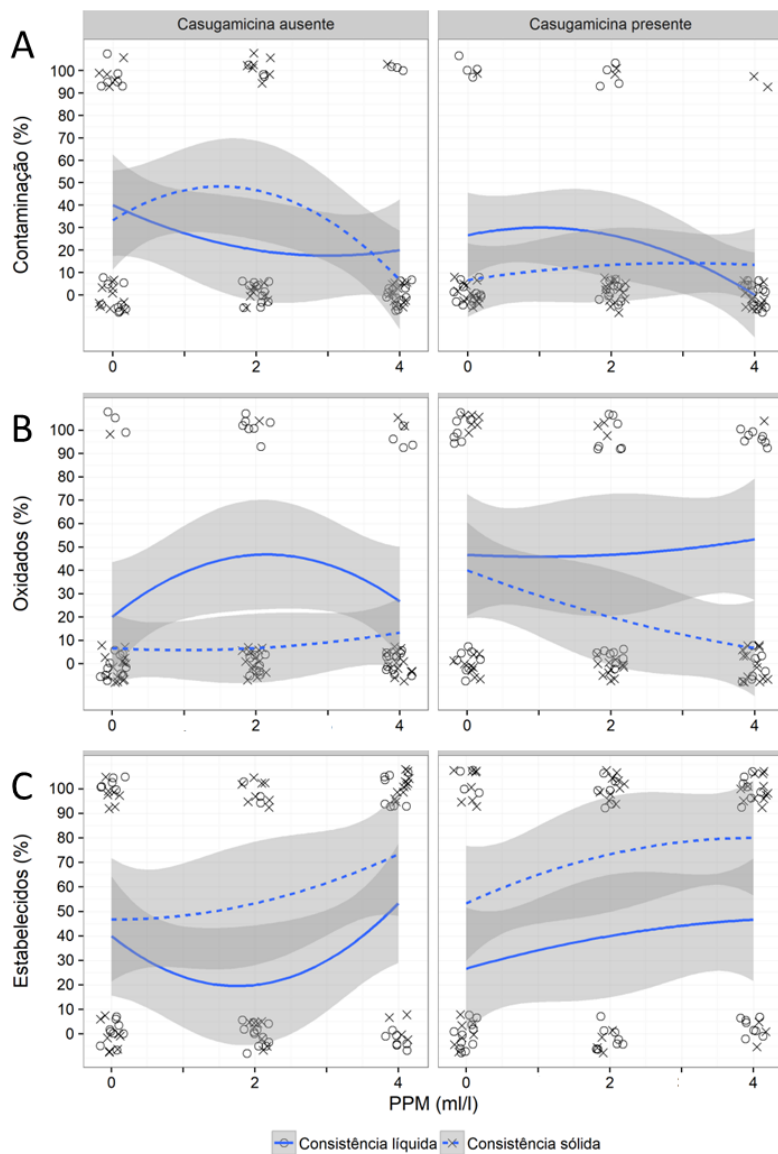
Figura 4. Contaminação, oxidação e estabelecimento *in vitro* de segmentos nodais de *Phyllostachys bambusoides* coletados no outono.



Na primavera, não houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os fatores com relação à contaminação e oxidação (Fig. 5A). Já no estabelecimento dos explantes houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre as consistências do meio de cultura e entre as concentrações de PPM, onde em meio sólido e 4 ml/l de PPM foram observadas maiores porcentagens de plantas estabelecidas (80%) (Fig. 5C).

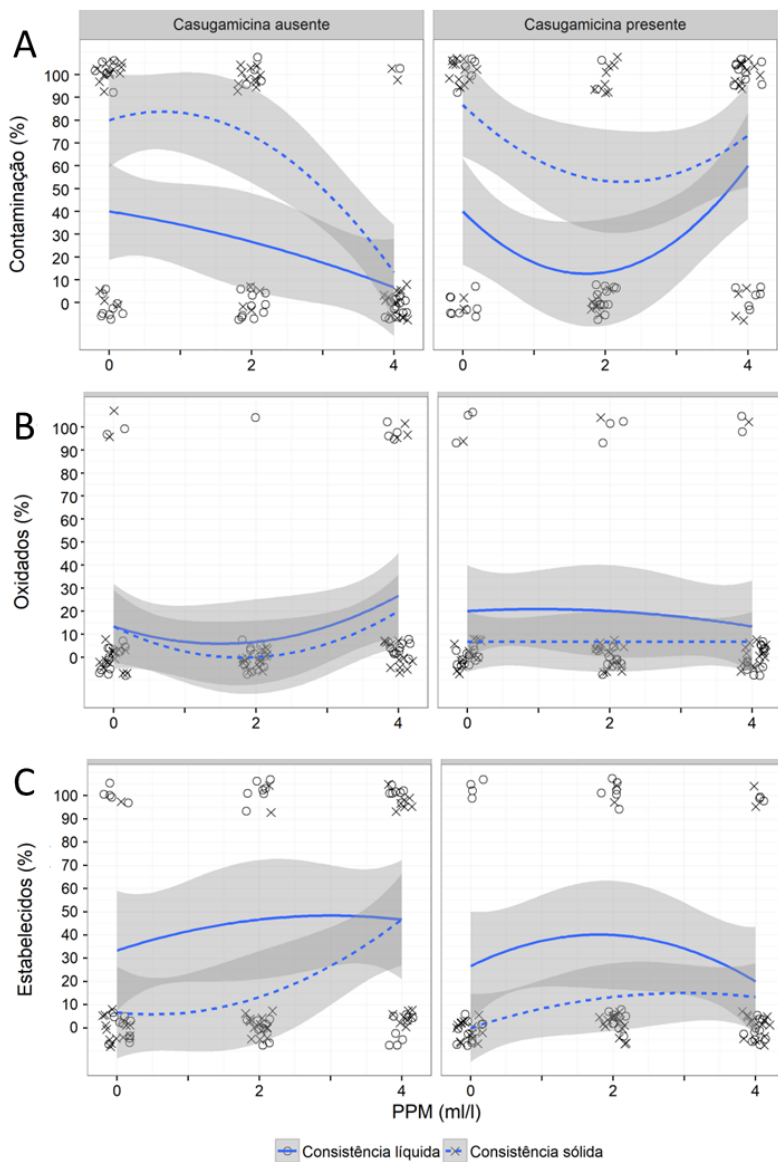


Figura 5. Contaminação, oxidação e estabelecimento *in vitro* de segmentos nodais de *Phyllostachys bambusoides* coletados na primavera.



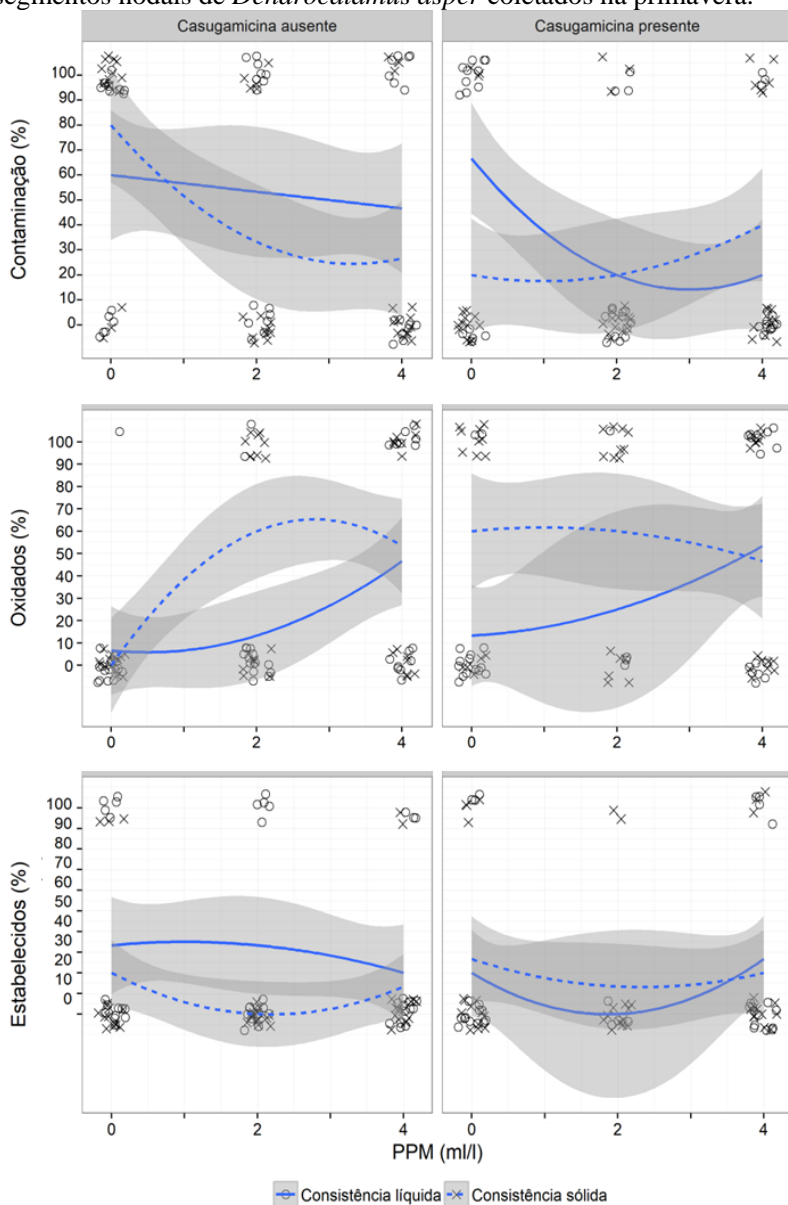
Em explantes de *Dendroclamaus asper* coletados no outono, a contaminação foi influenciada pelo PPM e pela consistência do meio de cultura, assim como pela interação entre PPM e casugamicina ( $P < 0,05$ ). Observou-se que, na ausência de casugamicina, a contaminação microbiana diminuiu com o aumento da concentração de PPM, tanto em meio de cultura líquido como sólido (Fig. 6A). Houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre a presença e ausência de PPM e entre as consistências do meio de cultura, onde o meio líquido apresentou menores valores de contaminação. Na presença de casugamicina, houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre as consistências do meio de cultura. Nesta estação do ano, os fatores não apresentaram diferença significativa ( $P < 0,05$ ) sobre a oxidação, onde os valores mantiveram-se entre 10 e 30% de explantes oxidados (Fig. 6B). O estabelecimento dos explantes *in vitro* foi modulado pela casugamicina e pela consistência do meio de cultura ( $P < 0,05$ ). Os explantes inoculados em meios contendo casugamicina apresentaram maiores valores de estabelecimento, principalmente em meio líquido (Fig. 6C). O maior percentual de explantes estabelecidos (50%) foi observado em meio de cultura contendo 4 ml/l de PPM, acrescido de casugamicina e de consistência líquida ou sólida.

Figura 6. Contaminação, oxidação e estabelecimento *in vitro* de segmentos nodais de *Dendrocalamus asper* coletados no outono.



Na primavera, a contaminação microbiana em *Dendroclamaus asper* foi influenciada pela interação entre todos os fatores, apresentando diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) (Fig. 7A). Observaram-se menores percentuais de contaminação (20%) em meios de cultura líquido contendo 4 ml/l de PPM e casugamicina. A oxidação dos explantes também foi modulada pelos fatores, onde os menores valores foram observados em meios isentos de PPM e de casugamicina (Fig. 7B). A consistência do meio de cultura apresentou diferença significativa ( $P < 0,05$ ) em relação ao estabelecimento dos explantes *in vitro*. Na ausência de casugamicina, o meio de cultura líquido apresentou maiores valores de explantes estabelecidos (Fig. 7C).

Figura 7. Contaminação, oxidação e estabelecimento *in vitro* de segmentos nodais de *Dendrocalamus asper* coletados na primavera.



A partir dos dados obtidos das três espécies em estudo verificou-se a influência principalmente do PPM e da consistência do meio de cultura no controle da contaminação e estabelecimento *in vitro*, independente da estação do ano em que os explantes foram coletados e introduzidos *in vitro*.

A estação do ano é um fator importante a ser considerado na coleta e estabelecimento de culturas *in vitro* (TISSERAT, 1985). Alguns trabalhos com espécies de bambu evidenciam a importância da época do ano na redução da contaminação e aumento da quebra de dormência das gemas, ou seja, início da brotação e desenvolvimento da gema. Explantes de *D. asper* coletados durante a primavera (Fev-Abr, Índia) apresentaram melhores respostas em relação à diminuição da contaminação e aumento do percentual de gemas brotadas (SINGH et al., 2011) enquanto que o verão indiano foi melhor para o estabelecimento de explantes de *D. hamiltonii* (SINGH et al, 2012). Também na Índia, explantes de *Bambusa nutans* coletados em Julho, época das monções (fim do verão seco e aumento da pluviosidade), apresentaram maior brotação (NEGI e SAXENA, 2011). Ornellas et al. (2017) obtiveram alta porcentagem de contaminação em *D. asper in vitro* coletados no verão de Florianópolis/SC/Brasil (verão quente e chuvoso). Também para *D. asper*, explantes coletados na época das pré-moções na Índia obtiveram melhores respostas de estabelecimento mas com altos índices de contaminação por micro-organismos (BANERJEE et al., 2011). Mudoj et al. (2014) obtiveram maiores índices de explantes de *Bambusa nutans* estabelecidos no outono indiano. Explantes coletados na estação do ano de maior crescimento das espécies tendem a apresentar maiores índices de desenvolvimento das gemas *in vitro* (DAS e PAL, 2005). Apesar dos dados não terem sido comparados, observou-se que *B. vulgaris* e *D. asper* apresentaram maior número de explantes estabelecidos no outono, estação de menor crescimento destas espécies. Ainda assim, há relatos de espécies que tiveram maiores índices de estabelecimento *in vitro* quando os explantes foram coletados na estação de menor crescimento, como *Sapium sebiferum*, uma Euphorbiaceae (SIRIL e DAR, 1997) e *Myrica esculenta*, uma Myricaceae (BHATT e DHAR, 2004).

Ainda no outono foram observados menores valores de oxidação para as três espécies. Apesar de ter sido utilizado o agente adsorvente PVP acrescido ao meio de cultura, explantes coletados na primavera apresentaram altos índices de oxidação. De maneira geral, a exsudação de compostos fenólicos tem sido relatada como menor em épocas de temperaturas mais baixas (ANDERSONE e IEVINSH, 2002).

A presença de PPM no meio de cultura também influenciou a contaminação microbiana e o estabelecimento *in vitro* onde as concentrações de 2 e 4 mL/L controlaram/eliminaram a contaminação de *B. vulgaris*, *P. bambusoides* e *D. asper*. Ogita et al. (2008) obtiveram sucesso na germinação asséptica de *Phyllostachys meyeri* utilizando 0,1% de PPM em água destilada estéril. Jiménez et al. (2004, 2006) relataram eficiência do uso de 2 mL/L de PPM no estabelecimento *in vitro* de segmentos nodais de *Guadua angustifolia* cultivada em casa de vegetação, mas observam que essa concentração não foi eficiente para explantes coletados de plantas a campo.

A presença de casugamicina no meio de cultura pouco influenciou a contaminação *in vitro*. Verificou-se que sua atuação foi dependente de outros fatores, com exceção de *B. vulgaris*, onde sua presença reduziu os índices de contaminação microbiana. Casugamicina (Kasumin®) é um antibiótico sistêmico, apresentado na forma líquida, o que permite sua diluição ao meio de cultura. Nahda et al. (2012) utilizaram canamicina e estreptomicina adicionadas ao meio de cultura para diminuir o crescimento de bactérias do gênero *Pantoea*.

O efeito da consistência do meio de cultura também influenciou a contaminação e o estabelecimento das três espécies de bambu *in vitro*. Menores índices de contaminação foram obtidos em meio de cultura líquido, provavelmente porque os explantes ficaram totalmente imersos e envoltos pelo PPM, o qual efetivamente atuou no controle dos micro-organismos.

Em meio líquido também foram obtidos maiores índices de explantes estabelecidos. Na etapa de estabelecimento *in vitro* geralmente são utilizados meios de cultura gelificados por permitirem melhor visualização da contaminação microbiana e manterem o explante livre de hipóxia. Singh et al. (2012) não obtiveram bons resultados quando utilizaram meio de cultura líquido no estabelecimento de *D. asper in vitro*. Contudo, diversos trabalhos relatam a preferência pelo meio líquido para início das culturas de *Bambusa balcooa*, *B. nutans*, *B. salarkhanii* e *B. vulgaris* (NURUL ISLAM e RAHMAN, 2005). Segundo Marulanda et al., (2005) o meio líquido apresenta uma maior distribuição e disponibilidade de nutrientes, o que contribui para o crescimento dos explantes. Também são relatados maiores índices de multiplicação e crescimento *in vitro* quando utilizados meio de cultura líquido como para *B. balcooa* (DAS e PAL, 2005), *D. giganteus* (ARYA et al., 2006), *B. glaucescens* (SHIRIN e RANA, 2007) e *Phyllostachys meyeri* (OGITA et al., 2008). Baixo índice de multiplicação e crescimento lento em meio

sólido quando comparado ao meio líquido pode ser atribuído ao fato do agente gelificante liberar água, nutrientes e fitoreguladores de forma mais lenta, não acompanhando o metabolismo de algumas espécies (SINGH et al., 2013).

Na maioria dos trabalhos que relatam o cultivo *in vitro* de espécies de bambu, o meio utilizado geralmente é de consistência sólida (MARULANDA et al., 2005; JIMÉNEZ et al., 2006), mas diante dos resultados obtidos, recomenda-se o meio de cultura líquido, não só pelos resultados obtidos neste estudo, como por ser de fácil preparação e menor custo.

### **Conclusões**

Este experimento avaliou a interação entre fatores de natureza química e física que possam influenciar o estabelecimento *in vitro* de bambu. Verificou-se que as interações são complexas, onde a presença de PPM no meio de cultura e a consistência do meio influenciaram os índices de contaminação, oxidação e estabelecimento de *Bambusa vulgaris*, *Phyllostachys bambusoides* e *Dendrocalamus asper*. A adição de antibiótico casugamicina ao meio de cultura não apresentou influência na contaminação de *P. bambusoides* e *D. asper in vitro*, ou seja, não houve diminuição significativa da contaminação microbiana quando o antibiótico foi adicionado ao meio de cultura. A partir dos resultados obtidos pode-se recomendar que o estabelecimento *in vitro* de *B. vulgaris*, *P. bambusoides* e *D. asper in vitro* seja realizado no outono, com adição de 2 ou 4 mL/L de PPM ao meio de cultura e utilização de meio de cultura líquido.

### **Referências Bibliográficas**

AKAIKE, H. (1974). A new look at the statistical model identification. IEEE Transactions on Automatic Control. Boston, v.19, n.6, p.716-723, Dec.

ANDERSONE U., IEVINSH G. (2002). Changes of morphogenic competence in mature *Pinussylvestris* L. *in vitro*. Ann. Bot. 99:293-298

ARRUDA, S. A. (2000). Produção de propágulos de batata doce *Ipomea batatas* L. obtidos *in vitro* e submetidos a tratamentos prévios com



fungicida e bactericida. 42p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal

ARYA S, RANA PK, SHARMA R, ARYA ID (2006) Tissue culture technology for rapid multiplication of *Dendrocalamus giganteus* Munro. *Indian Forester* 3:345–357

AZZINI, A., BERALDO, A.L. (2001). *Métodos práticos para utilização do bambu*. Gráfica da UNICAMP, Campinas, SP, 14p.

BANERJEE, M., GANTAIT, S., AND PRAMANIK, B.R. (2011). A two step method for accelerated mass propagation of *Dendroclamaus asper* and their evaluation in field. *Physiol Mol Biol Plants* 17 (4), 387–393. PubMed.

BHATT ID, DHAR U (2004) Factors controlling micropropagation of *Myrica esculenta* buch.– Ham. ex D. Don: a high value wild edible of Kumaun Himalaya. *Afr J Biotech* 3:534–540

COMPTON, M.E., KOCH, J.M. (2001). Influence of Plant Preservative Mixture (PPM) on adventitious organogenesis in Melon, Petunia, and Tobacco. *In vitro Cell. Dev. Biol.- Plant.*:37:259-261

DAS, M., PAL, A. (2005). *In vitro* regeneration of *Bambusa balcooa*Roxb.: factors affecting changes of morphogenetic competence in the axillary buds. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 81:109-112.

FOX, J.; WEISBERG, S. car: (2011). Companion to Applied Regression.*R package verion 2.0-15*.

GEORGE, E. F.; KLERK, GJ D; HALL, M. A. (2008) *Plant Propagation by Tissue Culture: Volume 1. The Background*.3rd Edition. Dordrecht: Springer. ISBN 9781402050053 Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4020-5005-3>>. Acesso em: 25/09/2017.

GEORGE, M.W., TRIPEPI, R.R. 2001. Plant Preservative Mixture™ can affect shoot regeneration from leaf explants of Chrysanthemum, European Birch, and Rhododendron. *Hort Science* 36(4):768–769.

GRECO, T.M. 2013. Diversidade de bambus (Poaceae: Bambusoideae)

na ilha de Santa Catarina, Brasil. Dissertação de Mestrado. PPG em Biologia Vegetal, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC.

GRECO, T.M., CROMBERG, M. 2011. *BAMBU cultivado e manejo*. Editora Insular, Florianópolis, 184p.

JIMÉNEZ V.M., CASTILLO J., TAVARES E., GUEVARA E., MONTIEL M. (2004). Micropropagación de *Guadua angustifolia* Kunth a partir de explantes nodales. *En: Aristizábal V (ed.). Memorias*

JIMÉNEZ, V.M., CASTILLO, J., TAVARES, E., GUEVARA, E. & MONTIEL, M. 2006. *In vitro* propagation of the neotropical giant bamboo, *Guadua angustifolia* Kunth, through axillary shoot proliferation. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 86, 389–395

JIMÉNEZ, V.M., GUEVARA, E. 2007. Micropropagation of bamboo species through axillary shoot proliferation. *In (eds): Jain, M., Haggman, H. Protocols for Micropropagation of Woody Trees and Fruits*, Springer, The Netherlands, 465-467.

JULLIEN F. and VAN K.T.T. (1994) Micropropagation and embryoid formation from young leaves of *Bambusa glaucescens* golden goddess. *Plant Science*, 98,199-207

LONDE, L.N., SOUSA, C.S., VIEIRA, C.U., BONETTI, A.M. & KERR, W.E. (2007). Efeito do benomyl e identificação de fitopatógenos em meio MS para controle da contaminação na micropropagação de *Anacardium humile* (Anacardiaceae). *Biosci. J.*, 23: 94-100.

MARULANDA, M. L. GUTIÉRREZ, L. G. MÁRQUEZ, M. P. (2005). Micropropagación de *Guadua angustifolia* Kunth. *Actualidades Biológicas*.

MOREL, G., WETMORE, R. H. (1951). Tissue Culture of Monocotyledons. *American Journal of Botany*, 38(2), 138.

MUDOI, K.D., SAIKIA, S.P., BORTHAKUR, M. (2014). Effect of nodal positions, seasonal variations, shoot clump and growth regulators on micropropagation of commercially important bamboo, *Bambusa nutans*

Wall. ex. Munro. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 13(19), pp. 1961-1972. DOI: 10.5897/AJB2014.13659.

MUDOI, K.D., SAIKIA, S.P., GOSWAMI, A., GOGOI, A., BORA, D., BORTHAKUR, M. (2013). Micropropagation of important bamboos: A review. *African Journal of Biotechnology*, 12(20); 2770-2785

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962. A revised médium for rapid growth and bioassay with tobacco tissues cultures. *Physiologia Plantarum*, v.15, p. 473-497.

NADHA, H.K., R., KASANA, R.C., ANAND, M., SOOD, A. 2012. Identification and elimination of bacterial contamination during *in vitro* propagation of *Guadua angustifolia* Kunth. *Phcog Mag*, 8:93-7.

NEGI, D., SAXENA, S. 2011. *In vitro* propagation of *Bambusa nutans* Wall. ex Munro through axillary shoot proliferation. *Plant Biotechnol Rep*. 5:35–43 DOI 10.1007/s11816-010-0154-z.

NURUL ISLAM, SAM, RAHMAN, MM. (2005) Micro-cloning in commercially important six bamboo species for mass propagation and at a large scale cultivation. *Plant Tissue Cult Biotech* 15:103–111

OGITA S, KASHIWAGI H, KATO Y (2008) *In vitro* node culture of seedlings in bamboo plant, *Phyllostachys meyeri* McClure. *Plant Biotechnol* 25:381–385.

OPRINS, J., GRUNEWALD, W., GILLIS, K., DELAERE, P., PEETERS, H., GIELIS, J. (2004). Micropropagation: a general method for commercial bamboo production. In: *Proceedings of the 7th World Bamboo Congress*.

ORNELLAS, T.S., WERNER, D., HOLDERBAUM, D.F., SCHERER, R.F., GUERRA, M.P. 2017. Effects of Vitrofuril, BAP and meta-Topolin in the *in vitro* culture of *Dendroclaurus asper*. *Acta Hortic*. 1155. ISHS 2017. DOI 10.17660/ActaHortic.2017.1155.41.

R CORE TEAM. R: (2014). A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>

RAMANAYAKE S.M.S.D., YAKANDAWALA, K. (1997). Micropropagation of the giant bamboo (*Dendrocalamus giganteus* Munro) from nodal explants of field grown culms *Plant Science* 129: 213-223.

RAMANAYAKE, S.M.S.D., MEEMADUMA, V.N., WEERAWARDENE, T.E. 2006. *In vitro* shoot proliferation and enhancement of rooting for the large-scale propagation of yellow bamboo (*Bambusa vulgaris* ‘Striata’). *Sci. Hort.* 110: 109–113

SANJAYA, RATHORE, T.S., RAI, V.R. (2005). Micropropagation of *Pseudoxynthera stocksii* Munro. *In vitro Cell Dev Biol Plant*, 41:333–337.

SAXENA, S., DHAWAN, V. (1999) Regeneration and large-scale propagation of bamboo (*Dendrocalamus strictus* Nees) through somatic embryogenesis. *Plant Cell Rep* 18:438–443

SHIRIN, F., RANA, P.K. (2007) *In vitro* plantlet regeneration from nodal explants of field-grown culms in *Bambusa glaucescens* Willd. *Plant Biotechnol Rep* 1:141–147

SINGH, S.R., DALAL, S., SINGH, R., DHAWAN, A.K., KALIA, R.K. (2011.) Micropropagation of *Dendroclamaus asper* (Schult. & Schult. F. Backer ex K Heyne): an exotic edible bamboo. *J Plant Biochem Biotechnol* 21:220–228

SINGH, S.R., DALAL, S., SINGH, R., DHAWAN, A.K., KALIA, R.K. (2012a). Seasonal influences on *in vitro* bud break in *Dendrocalamus hamiltonii* Arn. ex Munro nodal explants and effect of culture microenvironment on large scale shoot multiplication and plantlet regeneration. *Indian J Plant Physiol*, 17:9–21.

SINGH SR, DALAL S, SINGH R, DHAWAN AK, KALIA RK (2012b) Evaluation of genetic fidelity of *in vitro* raised plants of *Dendroclamaus asper* (Schult. & Schult. F.) Backer ex K. Heyne using DNA-based markers. *Acta Physiol Plant* doi:10.1007/s11738-012-1084-x

SINGH, S. R., SINGH, R., KALIA, S., DALAL, S., DHAWAN, A. K., KALIA, R. K. (2013). Limitations, progress and prospects of application of biotechnological tools in improvement of bamboo—a plant with

extraordinary qualities. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 19(1): 21-41.

SIRIL, E.A., DHAR, U. (1997) Micropropagation of mature Chinese tallow tree (*Sapium sebiferum* Roxb.). *Plant Cell Rep* 16:637–640

SOOD, A., AHUJA, P.S., SHARMA, M., SHARMA, O.P., GODBOLE, S. (2002) *In vitro* protocols and field performance of elites of an important bamboo *Dendrocalamus hamiltonii* Nees et Arn. ex Munro. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 71:55–63

THOMAS, P., KUMARI, S. (2010). Inconspicuous endophytic bacteria mimicking latex exudates in shoot-tip cultures of papaya. *Scientia Horticulturae*, 124: 469-474.

TISSERAT B (1985). Embryogenesis, organogenesis and plant regeneration. In: RA Dixon (eds) *Plant cell culture - a practical approach*, IRL Press, Washington D. C. pp. 79-105

VENABLES, W. N.; RIPLEY, B. D. (2002). *Modern Applied Statistics with S*. Fourth Edition. Springer, New York.

WARNES, G.R. (2012). gdata: Various R programming tools for data manipulation. *R package version 2.11.0*.

WICKHAM, H. (2009). ggplot2: elegant graphics for data analysis. Springer New York.

YASODHA, R. KAMALA, S. ANANDA KUMAR, S.P., DURAI KUMAR, P., KALAIARASI, K. (2008). Effect of glucose *in vitro* rooting of mature plants of *Bambusa nutans*. *Scientia Hort*. 116: 113-116.

PEREIRA, M.A.R.; BERALDO, A.L. **Bambu de corpo e alma**. Bauru: Canal 6 Editora, 2008. 240p



## Capítulo II – Caracterização por *metabarcoding* da microbiota associada à *Dendroclamaus asper* (Schult. & Schult. f.) Backer ex K. Heyne

### Resumo

A análise de *metabarcoding* de DNA de Archaea, Bacteria e Fungi associados a *Dendroclamaus asper* permitiu obter informações sobre sua estrutura, tanto em segmentos nodais das plantas quanto nos meios de cultura onde os segmentos foram inoculados. O sequenciamento de *amplicons* utilizando plataforma Illumina MiSeq revelou 1.070 UTOs, sendo 12 de Archaea, 391 de Bacteria, e 667 de Fungi. Diferenças na riqueza e diversidade das comunidades foram observadas, tanto entre as amostras como entre os tratamentos. Em Archaea, todos os UTOs pertencem ao filo Thaumarchaeota, e os gêneros *Candidatus Nitrosopumilus* e *Candidatus Nitrososphaera* foram identificados. Os filios mais abundantes em Bacteria foram Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Acidobacteria, sendo o gênero *Pantoea* responsável pela maior abundância de sequências no meio de cultura. Em Fungos, foram identificados os filios Ascomycota e Basidiomycota, onde as classes Sordariomycetes e Dothideomycetes foram responsáveis pela maior abundância de sequências, notadamente a ordem Pleosporales. Este é o primeiro trabalho que buscou identificar a microbiota associada à uma espécie de bambu e possíveis contaminantes da fase de estabelecimento *in vitro* por meio de abordagens metagenômicas.

Palavras-chave: Archaea, Bacteria, Fungi, bambu, metagenômica

### Introdução

*Dendroclamaus asper* (Schult. & Schult. f.) Backer ex K. Heyne, Bambusoideae, Poaceae, é uma espécie de bambu tropical simpodial de múltiplos usos e utilidades, originária do sudeste asiático e de alto valor econômico. No Brasil é popularmente chamada de bambu balde ou bambu gigante, com colmos resistentes, podendo chegar à 30 cm de diâmetro e 30 m de altura, e por isto tem grande potencial para o uso na construção civil. Além disso, é uma das espécies mais cultivadas em climas tropicais para a produção de brotos comestíveis (BANERJEE et al., 2011; DEZHU e STAPLETON, 2006; GRECO e CROMBERG, 2011). Muitos trabalhos de micropropagação de bambu foram e estão sendo realizados, principalmente em países asiáticos, e os relatos de altos

índices de contaminação por micro-organismos no estabelecimento *in vitro* são visíveis (MUDOI et al., 2014; MUDOI et al., 2013; SINGH et al., 2012ab; BANERJEE et al., 2011, JIMÉNEZ e GUEVARA, 2007). No Brasil, o trabalho de Ornellas et al. (2017) revelou intensa contaminação microbiana em *D. asper*, chegando a 93% de perda de explantes no estabelecimento da espécie *in vitro*.

A contaminação por micro-organismos é uma das principais causas de descarte de plantas e subsequente atraso nas pesquisas em laboratórios e elevação de custos de produção em biofábricas comerciais. Geralmente resulta em variação no crescimento da cultura, necrose dos tecidos, diminuição dos índices de multiplicação e mortalidade da cultura (GEORGE et al., 2008). A presença dos micro-organismos nessa etapa pode ser decorrente da própria planta matriz (micro-organismos associados), da ineficiência do processo de assepsia ou do incorreto manuseio dos explantes e materiais. A contaminação, seja da planta e/ou do meio de cultura se deve principalmente à presença de micro-organismos epifíticos, endofíticos, oportunistas e/ou patogênicos (LONDE et al., 2007). Estudos mostram que, eventualmente, em culturas considerados axênicas (livres de micro-organismos) observa-se o crescimento microbiano no meio de cultura ou sobre as vitroplantas, sendo que estes podem aparecer logo no dia seguinte à inoculação, ou após algum evento de estresse mecânico, físico ou nutricional (THOMAS et al., 2008). Existem ainda micro-organismos que apresentam crescimento lento em meio de cultura e que por isso são percebidos tardiamente (ARAÚJO et al., 2010).

A microbiota de plantas é altamente diversa e influenciada pelo genótipo vegetal, variando de acordo com o tecido da planta hospedeira, com as condições macro e micro ambientais, com a idade, e com o estado hídrico e nutricional da planta (TURNER et al., 2013). Virtualmente todos os tecidos vegetais hospedam uma comunidade de micro-organismos (TURNER et al., 2013) e para o cultivo de plantas *in vitro* os tecidos aéreos superficiais e internos são os mais utilizados como explantes.

Um importante passo a ser dado na tentativa de minimizar os danos causados por micro-organismos contaminantes é a identificação e caracterização dos mesmos. A partir desse conhecimento é possível tomar medidas específicas para eliminação, controle e até mesmo manutenção, como por exemplo, no caso de endófitos promotores de crescimento.

De maneira geral a identificação morfológica e/ou molecular de micro-organismos associados a diferentes espécies de bambu é realizada a partir de cepas isoladas e cultivadas em meio específico. Os métodos



baseados em cultura revelam grande diversidade de micro-organismos associados a plantas, mas não na sua totalidade. As abordagens baseadas no cultivo favorecem o crescimento de apenas alguns membros da comunidade, enquanto uma grande parte da população é negligenciada. Estima-se que apenas 1% dos microrganismos presentes em um ecossistema pode ser caracterizado usando as técnicas tradicionais de cultura (TORSVIK et al., 1998, FU et al., 2011).

Nos últimos anos, estudos de *metabarcoding*, ou seja, a utilização de sequências *barcode* para identificação massal de UTOs (Unidades Taxonômicas Operacionais) associados a plataformas de sequenciamento de nova geração, tem incrementado o conhecimento acerca da diversidade de micro-organismos em diferentes habitats, incluindo aqueles associados a plantas (AKINSANYA et al., 2015). A maioria dos trabalhos que utiliza metagenômica e suas variações, dentre elas o *metabarcoding*, busca inventariar a microbiota de amostras complexas como solo, lixo, intestino humano e de insetos (IHRMARK et al., 2012; SUENAGA, 2012; DJEMIEL et al., 2017). A aplicação do sequenciamento de nova geração para análise de *metabarcoding* e metagenômica de amostras de DNA ambiental permite também identificar espécies não cultiváveis da microbiota (REVA et al., 2015). Na Biologia de plantas essas abordagens também foram usadas para estudar interações planta-microbiota revelando endófitos cultiváveis e não cultiváveis que podem ser benéficos e buscando aplicabilidade para os mesmos (SESSITSCH et al., 2012; AKINSANYA et al., 2015; PERSONH, 2015; MÜLLER et al., 2015; BECKERS et al., 2017; DJEMIEL et al., 2017).

O *metabarcoding* de DNA de comunidades de Archaea e Bacteria utilizando sequências 16S rRNA e de comunidades de Fungi utilizando regiões ITS (*Internal Transcribed Spacer*) vêm contribuindo para o entendimento do papel significativo da microbiota de plantas (TURNER et al., 2013; SCHLAEPPI e BULGARELLI, 2015; BUSBY et al., 2017) e pode ser utilizado para conhecer e entender o comportamento dessas comunidades no processo de estabelecimento de plantas *in vitro*.

Por hipótese, espécies de bambu apresentam alta riqueza e diversidade de micro-organismos associados e o meio de cultura pode atuar como agente seletivo da comunidade microbiana associada à bambu, alterando a riqueza e diversidade da comunidade. Desta maneira, o objetivo do presente estudo foi caracterizar a comunidade microbiana (Archaea, Bacteria e Fungi) em segmentos nodais de *Dendroclaurus asper* e nos meios de cultura provenientes do estabelecimento *in vitro* de

segmentos nodais, utilizando sequenciamento de nova geração - *metabarcoding*.

## **Material e Métodos**

### Estratégia de amostragem

Cinco plantas de *Dendroclamaus asper* cultivadas na localidade Rio Bravo de Baixo, município de Santa Rosa de Lima, Santa Catarina, Brasil (28°02'46,5" S; 49°06'36,5" O, altitude de 319 m) foram amostradas em novembro de 2016. Não é possível afirmar que as plantas avaliadas neste estudo são provenientes de um mesmo genótipo, mas as cinco plantas compartilham o mesmo histórico de cultivo (tratos culturais, idade, etc.) e condições de desenvolvimento (clima, solo, etc.). A classificação climática segundo Köppen-Geiger é Cfa (subtropical úmido) e no momento da coleta, às 9 horas, a temperatura era de 26°C, sem precipitação no momento e no dia anterior. As plantas com quatro anos de idade encontravam-se distantes seis metros umas das outras (Fig. 1A, B). Para cada planta foram utilizadas luvas, pinças, bisturis, lâminas para bisturi e tubos tipo Falcon (15 ml) para armazenamento das amostras, previamente esterilizados. Foram coletados 20 segmentos nodais (Fig. 1C, D) de cada planta, localizados no terço médio dos ramos principais à altura de 1,5 m do chão.

Os segmentos foram separados em duas amostras compostas por 10 segmentos nodais onde uma amostra foi destinada à extração de DNA total *in vivo* (NS) e a outra amostra destinada ao cultura *in vitro* e posterior extração de DNA total do meio de cultura (CM), totalizando dez amostras (NS1, NS2, NS3, NS4, NS5, CM1, CM2, CM3, CM4, CM5) reunidas em dois tratamentos NS e CM.

Figura 1. *Dendroclamaus asper* cultivados em Santa Rosa de Lima/SC. (A) Planta 1; (B) Plantas 4 e 5; (C) Coleta dos segmentos nodais; (D) Segmento nodal.



As amostras foram armazenadas sob refrigeração e transportadas imediatamente ao Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal (LFDGV), da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil. As cinco amostras NS foram armazenadas em freezer  $-80^{\circ}\text{C}$  até o momento da extração do DNA. As cinco amostras CM

foram inoculadas em meio de cultura de MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), onde nesse caso, cada segmento nodal foi inoculado individualmente em tubos de ensaio contendo 10 ml de meio, em câmara de fluxo laminar, totalizando 10 sub-amostras para cada amostra. O meio de cultura foi composto por sais de MS, 2 ml/lde Vitaminas de Morel (MOREL e WETMORE, 1951) e 3 g/lde sacarose. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 antes da adição de 6 g/l de ágar e autoclavagem por 15 min a 121°C e 1,1 atm de pressão. Os tubos permaneceram 30 dias em sala de crescimento a  $25 \pm 2$  °C sob 16 h de fotoperíodo, iluminados por lâmpadas fluorescentes tubulares brancas.

### Extração, sequenciamento e curadoria das seqüências de DNA

Para extração de DNA total foi utilizado o Kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega Corporation, Madison, WI, EUA), segundo protocolo do fabricante. Cada amostra de NS foi macerada em nitrogênio líquido e 75 mg de tecido vegetal foram usados para extração.

Para a preparação das amostras CM, após 30 dias *in vitro*, os segmentos nodais foram descartados e os meios de cultura referentes a cada amostra foram intensamente agitados em agitador de tubos tipo Vórtex® para mistura e solubilização dos compostos. Para compor a amostra final, foi utilizado 1 ml de cada tubo, totalizando 10 ml de meio de cultura para cada amostra. Para extração do DNA total foram utilizados 3 ml de cada amostra. O DNA total extraído foi quantificado e analisado para pureza a 260/280 nm (1,9-2,0) para proteínas e 260/230 (1,9-2,0) nm para polifenóis (Nanodrop 1000, Thermo Fisher Scientific, EUA) e Qubit3® (Invitrogen-Life Technologies) por fluorimetria para quantidade de DNA total e estocado à -80°C.

Para analisar a composição das comunidades de Bacteria, Archaea e Fungi foi realizada a abordagem de sequenciamento de *amplicons*<sup>1</sup> utilizando plataforma Illumina MiSeq, onde a biblioteca foi construída com utilização da estratégia PE300, em cinco amostras de segmentos nodais *in vivo* e cinco amostras de meio de cultura.

---

<sup>1</sup> Amplicon – fragmento resultante da amplificação por PCR, de fragmentos específicos de DNA ou RNA.

As amostras receberam seqüências *barcoding* para diferenciação após o sequenciamento conjunto. O quadro 1 apresenta as regiões e seqüências de *primers* utilizados para amplificação e sequenciamento dos *metabarcodings* de Archaea, Bactéria e Fungi.

Quadro 1. Regiões e seqüências de *primers* utilizados para amplificação e sequenciamento dos *metabarcodings* de Archaea, Bactéria e Fungi em segmentos nodais de *Dendroclamaus asper* e no meio de cultura.

<b>Grupo taxonômico</b>	<b>Região</b>	<b>Sub-Região</b>	<b>Seqüências de <i>primers</i> (5'-3')</b>
Archaea	16S	V4	CAGYMGCCRCGGKAAHACC, GGACTACNSGGTMTCTAAT
Bactéria	16S	V3-V4	GTGCCAGCMGCCGCGGTAA, CCGTCAATTCCTTTGAGTTT
Fungi	ITS	ITS2	GCATCGATGAAGAACGCAGC, TCCTCCGCTTATTGATATGC

As etapas de amplificação, sequenciamento, preparo das bibliotecas e análise parcial dos dados foram realizadas pela empresa Novogene Corporation (EUA). A partir das seqüências centróides fornecidas por essa empresa, foi realizada a curadoria manual baseada na busca por similaridade nas bases de dados SILVA (PRUESSE et al., 2007) para Archaea e Bactéria e UNITE (ABARENKOV et al., 2010) para Fungi, com identidade mínima  $\geq 95\%$  (CAMACHO et al. 2008). Antes das análises todas as seqüências de cloroplastos e mitocôndrias foram retiradas do conjunto de dados.

### Análise da Riqueza e Diversidade

Diferenças na diversidade alfa entre tratamentos foram avaliadas por meio da construção de curvas de interpolação (ou rarefação) e extrapolação da riqueza de espécies (CHAO et al., 2014; HSIEH, et al., 2016). Além disso, a riqueza total foi extrapolada com o estimador Chao1, um estimador não-paramétrico que utiliza as espécies raras e a riqueza observada para inferir a riqueza total da amostra. As estimativas foram realizadas com o uso da abundância das UTOs.

A diversidade beta foi comparada entre tratamentos com análises de variância multivariadas com base em permutações (Permanova, MCARDLE; ANDERSON, 2001), utilizando 999 iterações. Como essa análise pode confundir efeitos de localização (composição diferente entre

tratamentos) com efeitos de dispersão (variação ou diversidade beta diferente dentro de tratamentos; WARTON et al WRIGHT; WANG, 2012), testamos também a homogeneidade da dispersão multivariada (ANDERSON, 2006; ANDERSON et al., 2006) para avaliar a capacidade das Permanovas em apontar inequivocadamente para diferenças na composição de espécies. Ademais, realizamos esses testes com dados de presença-ausência de UTOs seguidas do cálculo da dissimilaridade de Jaccard e, alternativamente, com dados de abundância de UTOs (transformadas com  $\log(x + 1)$  para diminuir o peso de UTOs muito abundantes) seguida do cálculo da dissimilaridade de Bray-Curtis. As análises foram realizadas nos pacotes iNEXT (CHAO et al., 2014; HSIEH et al., 2016) e vegan (OKSANEN et al., 2017) no programa R (R CORE TEAM, 2017).

A partir dos dados de presença/ausência de UTOs (Unidades Taxonômicas Operacionais) de Archaea, Bacteria e Fungi foram construídos Diagramas de Venn para detalhar o compartilhamento e exclusividade de UTOs.

#### Análise da estrutura das comunidades microbianas

As comparações entre as comunidades microbianas foram feitas com base nas abundâncias relativas dos componentes de cada comunidade. Sequências não classificadas ao nível de Domínio (Archaea e Bacteria) foram excluídas do conjunto de dados.

### Resultados e discussão

Pela primeira vez a microbiota associada a *Dendroclamaus asper* foi examinada por meio de abordagem metagenômica baseada no sequenciamento de *amplicons* (*metabarcoding*).-Também é inédito o uso dessa abordagem para determinar a composição de micro-organismos considerados contaminantes do cultivo *in vitro* de bambus.

O sequenciamento gerou grande número de dados brutos, totalizando 4.596.911 sequências das quais 760.331 e 765.543 foram obtidas em segmentos nodais (NS) e meio de cultura (CM), respectivamente para Archaea, 691.004 e 765.173 em NS e CM para Bacteria e 808.791 e 836.076 em NS e CM para Fungi (Tab.1).

Tabela 1. Resumo da estatística descritiva (dados brutos do sequenciamento e dados efetivamente utilizados após a curadoria manual – ACM).

	Amostras	Sequências brutas	Seq. limpas	% GC	Tamanho médio das seq. (nt)	Total de UTOs	Seq. de cloroplastos ACM	Seq. de mitocôndrias ACM	Seq. não classificadas ACM	Seq. utilizadas ACM	Total de UTOs ACM
Archaea	NS1	153.367	144.656	54,48	247	342	96.717	30.769	6.071	183	4
	NS2	144.188	135.020	54,87	248	253	113.164	13.531	4.001	14	3
	NS3	158.576	149.889	54,99	248	263	114.484	26.938	2.925	131	2
	NS4	159.018	149.905	55,15	248	179	126.584	17.666	1.829	90	3
	NS5	145.182	133.045	54,63	247	215	111.948	12.757	5.800	1	1
	Total NS	760.331	712.515	-	-	-	562.897	101.661	20.626	419	-
	CM1	157.364	149.838	55,76	249	124	156	574	166	136	2
	CM2	158.790	147.209	55,39	249	220	182	1.999	4.381	97	5
	CM3	151.699	137.203	57,58	249	154	189	95	192	1.600	8
	CM4	148.465	140.575	55,96	249	138	116	423	353	1	1
	CM5	149.225	141.160	55,83	249	153	280	596	112	840	7
Total CM	765.543	715.985	-	-	-	923	3.687	5.204	2.674	-	
Total Archaea	1.525.874	1.428.500	-	-	-	563.820	105.348	25.830	3.093	-	

Amostras	Sequências brutas	Seq. limpas	% GC	Tamanho médio das seq. (nt)	Total de UTOs	Seq. de cloroplastos ACM	Seq. de mitocôndrias ACM	Seq. não classificadas ACM	Seq. utilizadas ACM	Total de UTOs ACM	
NS1	148.909	110.521	55,86	373	101	89.368	19.742	16	12.311	274	
NS2	141.613	104.871	55,77	372	88	77.415	25.464	4	6.298	190	
NS3	132.037	101.004	57,37	373	68	80.173	20.044	4	6.194	190	
NS4	125.299	92.623	55,97	372	62	65.528	22.849	0	7.982	141	
NS5	143.146	99.742	55,91	372	79	64.806	31.239	2	6.234	145	
Total NS	691.004	508.761	-	-	-	377.290	119.338	26	39.019	-	
Bacteria	CM1	142.846	117.181	54,95	373	115	54	1	265.817	115	
	CM2	150.714	118.627	55,06	373	72	240	370	1	258.566	164
	CM3	145.547	115.723	55,02	373	52	157	133	2	250.558	141
	CM4	150.568	123.409	55,03	373	50	167	91	1	262.832	125
	CM5	145.498	118.750	55,12	373	53	150	132	1	257.799	138
	Total CM	735.173	593.690	-	-	-	829	780	6	1.295.572	-
Total Bacteria	1.426.177	1.102.451	-	-	-	378.119	120.118	32	1.334.591	-	



	NS1	166.857	155.377	48,17	300	428	0	0	0	155.377	428
	NS2	165.375	149.417	48,82	300	456	0	0	0	149.417	456
	NS3	127.283	113.062	49,76	299	401	0	0	0	113.062	401
	NS4	177.939	167.576	49,25	299	350	0	0	0	167.576	350
	NS5	171.337	161.427	48,69	300	399	0	0	0	161.427	399
	Total NS	808.791	746.859	-	-	-	0	0	0	746.859	-
Fungi	CM1	169.767	159.663	50,19	304	195	0	0	0	159.663	195
	CM2	163.903	150.113	52,59	314	211	0	0	0	150.113	211
	CM3	171.346	151.934	50,1	302	243	0	0	0	151.934	243
	CM4	164.397	160.680	52,78	306	209	0	0	0	160.680	209
	CM5	166.663	148.867	51,2	303	325	0	0	0	148.867	325
	Total CM	836.076	771.257	-	-	-	0	0	0	771.257	-
	Total Fungi	1.644.867	1.518.116	-	-	-	0	0	0	1.518.116	-



Após a curadoria manual baseada no alinhamento das sequências centróides (fornecidas pela Empresa Novogene) com sequências depositadas nos bancos de dados SILVA (Archaea e Bacteria) e UNITE (Fungi), os resultados de cada grupo taxonômico foram alterados (Tab. 1).

Um total de 1.070 unidades taxonômicas operacionais foram identificadas baseadas no sequenciamento das regiões de 16S rRNA (Archaea e Bacteria) e ITS (Fungi).

### Análise da riqueza e diversidade

A cobertura da amostragem indicou que houve suficiência amostral para o cálculo dos estimadores (Tab. 2). As curvas de rarefação e extrapolação (Fig. 2A e B) também indicam que o esforço de amostragem foi suficiente para capturar a riqueza total de UTOs em Archaea, Bacteria e Fungi.

Tabela 2. UTOs observados e estimador de riqueza Chao1 por amostra e cobertura por tratamento (NS-segmento nodal, CM-meio de cultura) de Archaea, Bacteria e Fungi associados a *Dendroclamaus asper*.

	Amostra	UTOs	Chao1	Chao1-LCL	Chao1-UCL	Cobertura (%)
	NS1	4	4	4	5.444	
	NS2	3	3.929	3.071	15.096	
	NS3	2	2	2	2	
	NS4	3	3	3	4.493	
	NS5	1	1	1	2.549	
	NS					99,8
Archaea	CM1	2	2	2	2.168	
	CM2	5	6.979	5.179	26.921	
	CM3	8	8	8	8.574	
	CM4	1	1	1	2.549	
	CM5	7	7.999	7.09	18.053	
	CM					

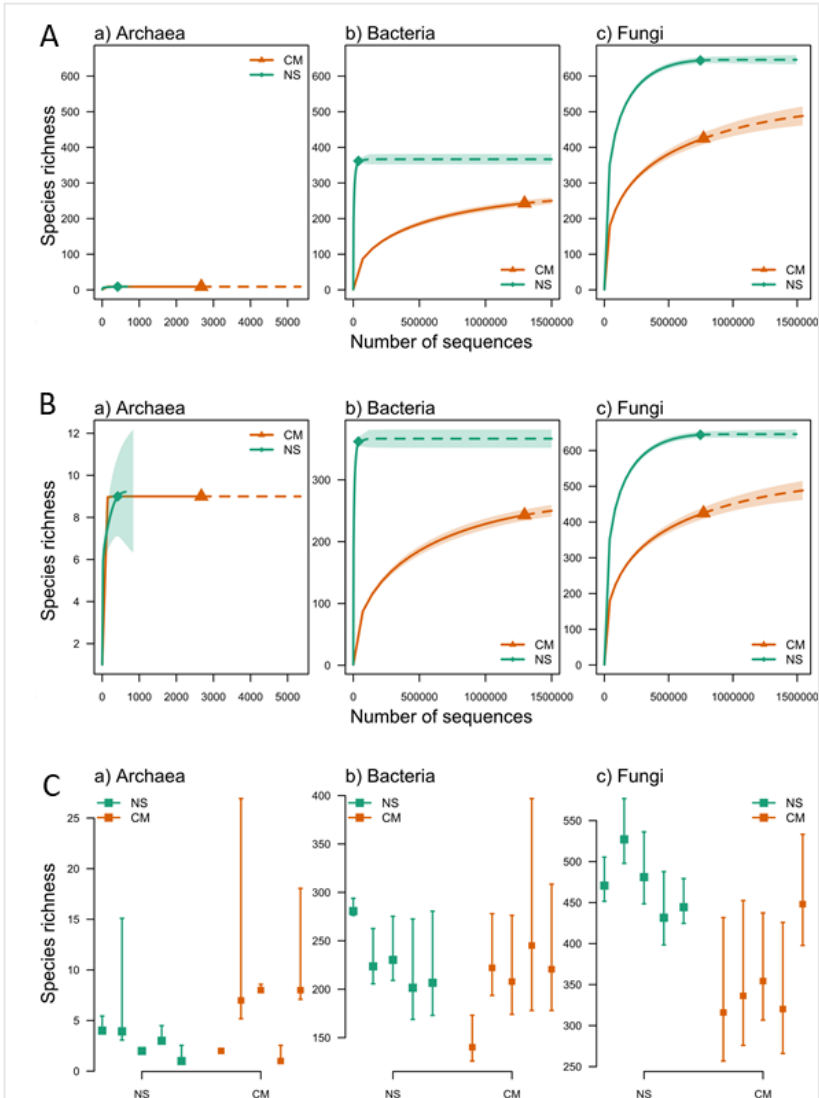
	NS1	274	280.722	276.272	293.886	
	NS2	190	223.615	205.55	262.665	
	NS3	190	230.327	209.063	275.312	
	NS4	141	201.492	168.828	272.499	
	NS5	145	206.623	172.996	280.644	
Bacteria	NS				100	
	CM1	115	140.13	125.864	173.132	
	CM2	164	222.074	193.587	277.989	
	CM3	141	207.881	174.053	276.329	
	CM4	125	245.05	178.012	396.86	
	CM5	138	220.617	178.035	308.491	
	CM				100	
Fungi	NS1	428	470.72	451.552	505.488	
	NS2	456	527.052	497.794	576.794	
	NS3	401	481.083	448.433	536.205	
	NS4	350	431.594	398.309	487.812	
	NS5	399	444.403	424.678	479.278	
	NS					100
	CM1	195	315.999	256.843	431.743	
	CM2	211	336.289	276.008	452.468	
	CM3	243	354.308	306.719	437.44	
	CM4	209	320.183	266.009	425.838	
	CM5	325	448.127	397.789	533.278	
	CM				100	

A riqueza entre tratamentos (NS e CM) foi comparada por meio da abundância das UTOs. As diferenças na riqueza entre Archaea, Bacteria e Fungi podem ser verificadas na figura 2A, onde Archaea mostrou-se o grupo com menor riqueza, tanto em segmentos nodais como em meio de cultura, o que pode ser explicado pelo pequeno número de UTOs identificados (12 UTOs). Fungi em segmentos nodais é o grupo com maior riqueza (644), seguido de Bacteria em segmentos nodais(362), Fungi em meio de cultura(425) e Bacteria em meio de cultura(243).

A riqueza dentro dos grupos taxonômicos pode ser avaliada na figura 2B. Em Archaea não houve diferença na riqueza de UTOs entre NS e CM. Em Bacteria e Fungi, NS apresentou maior riqueza quando comparado à CM.

O estimador Chao1, que representa o número total de UTOs presentes em cada amostra demonstrou que os tratamentos com maior número de UTOs apresentaram maiores índices de Chao1 (Tab.2). Tanto para NS como CM os maiores índices de riqueza foram observados em Fungi seguido de Bacteria e Archaea. Chao1 também demonstrou que houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre as amostras de mesmo tratamento e entre amostras de diferentes tratamentos provenientes da mesma planta, dentro dos grupos taxonômicos (Tab. 2; Fig. 2C). Archaea é o grupo com menor riqueza de UTOs, notadamente NS 5 que difere de NS1 ( $P < 0,05$ ), e CM1 e CM4 que diferem dos demais CM ( $P < 0,05$ ). Em Bacteria, NS1 apresentou maior riqueza em relação aos demais NS, enquanto CM1 apresentou menor riqueza em relação aos demais CM. Fungi, o grupo com maior riqueza de UTOs, também apresentou diferença entre amostras de NS, onde NS2 diferiu de NS4 e NS5 ( $P < 0,05$ ), mas não foi observada diferença entre as amostras de CM. Também foi possível detectar diferenças na riqueza entre amostras de segmentos nodais e meios de cultura da mesma planta. Apresentaram diferença ( $P < 0,05$ ) NS3/CM3 e NS5/CM5 em Archaea, onde a riqueza nas amostras de CM foi maior que nas amostras de NS. O mesmo foi verificado para as amostras NS4/CM4 e NS5/CM5 em Bacteria e NS5/CM5 em Fungi, ainda que estas não tenham apresentado diferença significativa ( $P < 0,05$ ).

Figura 2. Riqueza de UTOs de Archaea, Bacteria e Fungi associados a *Dendroclamaus asper*. A, B) Curvas de rarefação e extrapolação para a riqueza de OTUs; C) Riqueza de espécies de OTUs com base no estimador de Chao1. Pontos são a estimativa de cada amostra e linha indicam o limite superior e inferior do intervalo de confiança de 95% de cada estimativa.



A diversidade beta, entre os tratamentos NS e CM dentro dos grupos taxonômicos, mostrou diferença significativa na composição de UTOs para Archaea e Bacteria (Fig. 3A e Tab. 3). Para Fungi, houve diferença na composição, embora também tenha ocorrido diferença de dispersão multivariada (homogeneidade das dispersões), ou seja, diversidade beta diferente entre tratamentos, aparentemente com maior diversidade beta entre amostras dos CM, o que dificulta em apontar inequivocamente para diferenças na composição de UTOs entre tratamentos.

Figura 3. Diagramas de ordenação (PCoA) para diferenças na composição de UTOs de Archaea, Bacteria e Fungi associados a *Dendrocalamus asper*, entre amostras (NS-segmento nodal, CM-meio de cultura). A) com base na dissimilaridade de Jaccard; B) com base na dissimilaridade de Bray-Curtis, considerando a abundância das sequências.

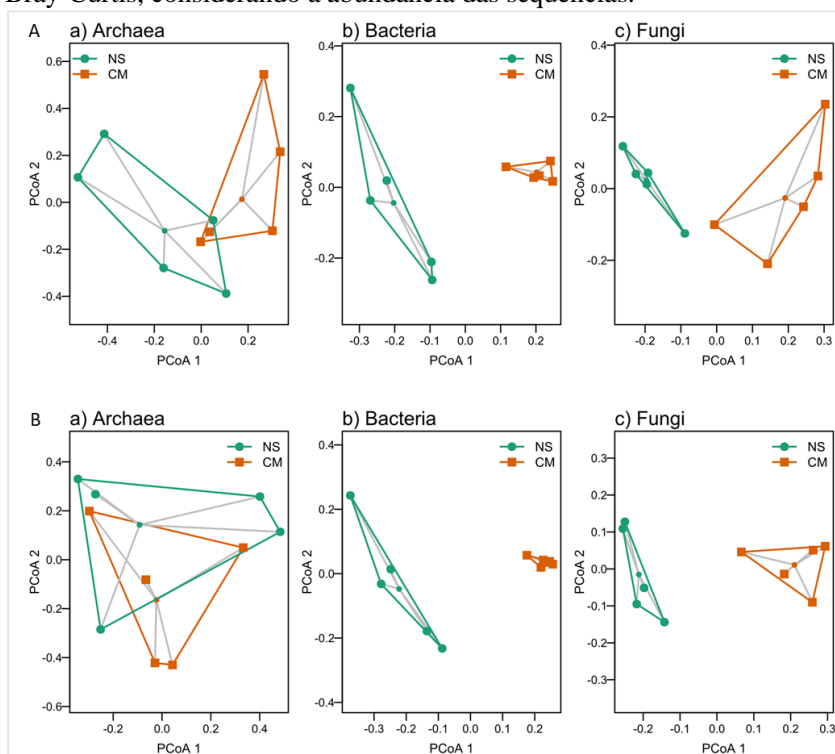


Tabela 3. Testes para homogeneidade de dispersão multivariada e análise de variância multivariada (Permanova) entre Planta e Meio de cultura para Archaea, Bacteria e Fungi. As análises foram realizadas com base na dissimilaridade de Jaccard e dados de presença-ausência de UTOs.

<b>Grupo taxonômico</b>	<b>Homogeneidade de dispersão</b>		<b>Permanova</b>	
Archaea	F 1, 8 = 2.944	P = 0.124	F 1, 8 = 1.914	P = 0.026
Bacteria	F 1, 8 = 1.212	P = 0.298	F 1, 8 = 3.326	P = 0.009
Fungi	F 1, 8 = 6.36	P = 0.018	F 1, 8 = 3.694	P = 0.006

Ao considerar também a abundância de sequências (transformadas com  $\log(x + 1)$ ), não houve diferença na composição e abundância de UTOs de Archaea. Para Fungi, houve diferença entre tratamentos NS e CM (Fig. 3B e Tab. 4). Para Bacteria houve diferença na dispersão multivariada (diversidade beta diferente entre tratamentos, aparentemente com maior diversidade beta entre amostras das Plantas), dificultando em apontar inequivocadamente para diferenças na composição e abundância de UTOs entre tratamentos.

Tabela 4. Testes para homogeneidade de dispersão multivariada e análise de variância multivariada (Permanova) entre Planta e Meio de cultura para Archaea, Bacteria e Fungi. As análises foram realizadas com base na dissimilaridade de Bray-Curtis e dados de abundância de UTOs transformadas logaritmicamente.

<b>Grupo taxonômico</b>	<b>Homogeneidade de dispersão</b>		<b>Permanova</b>	
Archaea	F 1, 8 = 0.269	P = 0.638	F 1, 8 = 1.308	P = 0.217
Bacteria	F 1, 8 = 8.459	P = 0.027	F 1, 8 = 8.677	P = 0.007
Fungi	F 1, 8 = 2.364	P = 0.152	F 1, 8 = 8.521	P = 0.008

Nas amostras de segmentos nodais e de meio de cultura foram encontrados UTOs exclusivos e compartilhados para todos os grupos. Em Archaea (Fig. 4A), seis UTOs (50%) foram compartilhados entre as amostras, três UTOs (25%) foram exclusivos dos segmentos nodais, e três

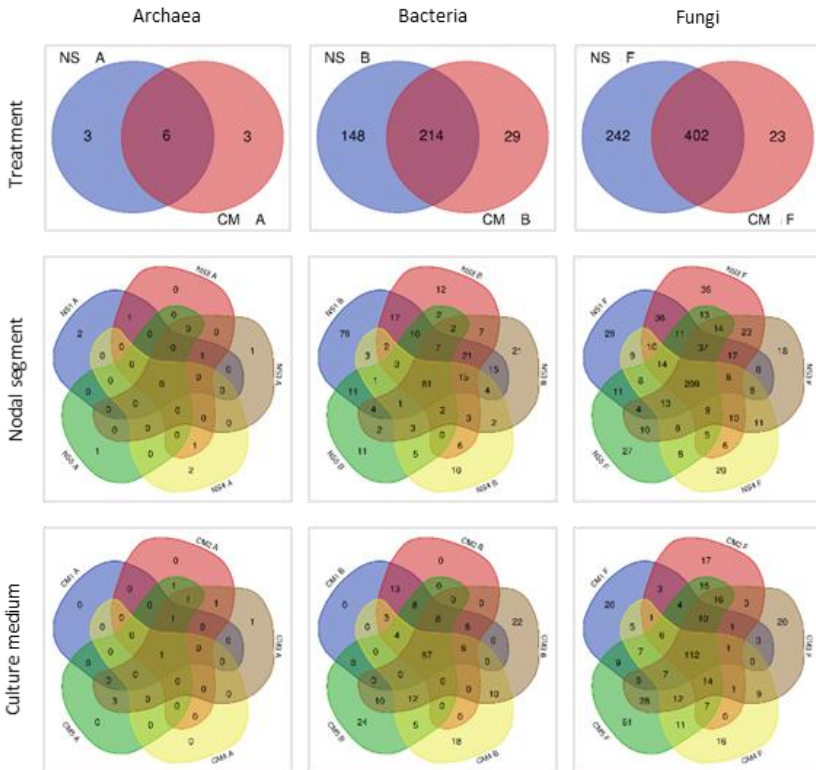


(25%) exclusivos do meio de cultura. Quando se compara o número de UTOs compartilhados e exclusivos entre as amostras do mesmo grupo, observa-se que NS1, NS3, NS4 e NS5 possuem UTOs exclusivos e CM3 é a única amostra com UTO exclusivo de Archaea. Ainda em NS, nenhum UTO é compartilhado entre todas as amostras.

Em Bacteria (Fig. 4B), foram encontrados 214 UTOs (54,7%) compartilhados, 148 (37,8%) exclusivos dos segmentos nodais, e 29 (7,4%) exclusivos do meio de cultura. Dentro de NS, 81 UTOs foram compartilhados entre todas as amostras e todas as amostras apresentaram UTOs exclusivos. Dentro de CM, 64 UTOs foram compartilhados entre todas as amostras e apenas CM3, CM4 e CM5 apresentaram UTOs exclusivos.

Em Fungi (Fig. 4C), 402 UTOs (60,3%) foram compartilhados entre as amostras, 242 (36,3%) exclusivos dos segmentos nodais, e 23 (3,4%) exclusivos do meio de cultura. Dentro de NS, 209 UTOs foram compartilhados entre todas as amostras e todas as amostras apresentaram UTOs exclusivos. Dentro de CM, 112 UTOs foram compartilhados entre todas as amostras e todas as amostras apresentaram UTOs exclusivos.

Figura 4. Diagramas de Venn demonstrando o número de UTOs de Archaea, Bacteria e Fungi em segmentos nodais (NS) de *Dendroclamaus asper* e no meio de cultura (CM).



Ao considerar que os UTOs compartilhados são uma parte dos UTOs de NS pode-se inferir que 66,7% dos UTOs de Archaea, 59,2% de Bacteria e 62,42% de Fungi, foram detectados no meio de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), sugerindo que a porcentagem de micro-organismos cultiváveis pode ser maior que 1%, mas o crescimento não é suficiente para identificação por meio de abordagens que não de metagenômica.

Verificou-se diferenças na riqueza e diversidade de UTOs de Archaea, Bacteria e Fungi em *Dendroclamaus asper*, por meio do sequenciamento de *amplicons* 16S rRNA e ITS em segmentos nodais e meios de cultura provenientes do cultivo *in vitro* de segmentos nodais.

Fungi foi o grupo com maior riqueza de UTOs, seguido de Bacteria e Archaea. Os fungos são uma das principais linhagens eucarióticas equivalentes em número de espécies aos animais, excedendo o número de plantas descritas (BLACKWELL, 2011). Compreendem aproximadamente 100 mil espécies descritas (incluindo sinonímias) mas a diversidade de fungos estimada é de um a mais de cinco milhões de espécies (BLACKWELL, 2011; HAWKSWORTH, 2012; TEDERSOO et al., 2014). Apesar de Bacteria e Archaea terem reconhecidamente maior diversidade genética (FRASER et al., 2009), esse trabalho identificou menor número de UTOs desses domínios em *Dendroclamaus asper* quando comparados à Fungi.

Também foram detectadas diferenças na riqueza de UTOs dentro dos grupos taxonômicos, onde segmentos nodais de Fungi e Bacteria apresentaram maior riqueza quando comparados aos meios de cultura. Por meio do estimador Chao1 verificou-se que houve diferença na riqueza entre amostras do mesmo tratamento, ou seja, diferença na composição da microbiota entre as cinco plantas amostradas. Essa diferença foi detectada em Archaea, Bacteria e Fungi, em amostras de segmentos nodais e amostras de meio de cultura, com exceção de Fungi em meio de cultura. A composição da microbiota é altamente variável e depende da espécie da planta, genótipo, seu estágio de desenvolvimento, e até mesmo entre plantas bastante similares como os transgênicos (BRESSAN et al., 2009; TURNER et al., 2013; CHAPARRO et al., 2014, BADRI et al., 2017; ANDREOTE e PEREIRA E SILVA, 2017). Ainda dentro de uma mesma planta vários nichos microbianos são encontrados e diferenças na sua composição podem ser detectadas (ANDREOTE e PEREIRA E SILVA, 2017), seja em um órgão ou tecido (HATA et al. 2002; RAGAZZI et al. 2003; KUMAR e HYDE 2004; PERSOH, 2013).

Com base na diversidade beta, foi possível detectar diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos NS e CM para todos os grupos taxonômicos. É amplamente reconhecido que os métodos baseados em cultura são relatados como responsáveis por apenas 1% dos microrganismos presentes em um ecossistema e o restante (99%) dos microrganismos não pode ser caracterizado usando as técnicas tradicionais de cultura (HUGENHOLTZ et al., 1998; HUGHES et al., 2001). As abordagens baseadas no cultivo favorecem o crescimento de apenas alguns membros da comunidade, enquanto uma grande parte da população é negligenciada (PETERS et al., 2000; FU et al., 2011).

A cultura *in vitro* depende de muitas variáveis que podem aumentar, diminuir ou impedir o desenvolvimento do micro-organismo.

Isso inclui organismos: a) para os quais os requisitos específicos de crescimento, como nutricional, temperatura, aeração, etc., não estão disponíveis; b) organismos de crescimento lento que não conseguem competir com aqueles de crescimento rápido ou de fisiologia competitiva; e, c) organismos que sofreram algum dano e não suportam as condições estressantes do cultivo *in vitro* (AMANN et al. 1995; VARTOUKIAN et al. 2010; VAZ-MOREIRA et al., 2011). Importante salientar que o meio de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962; ANEXO A) utilizado nesse estudo foi desenvolvido para maximizar o desenvolvimento *in vitro* de plantas, não de micro-organismos, mas mesmo assim sua composição permitiu o crescimento microbiano.

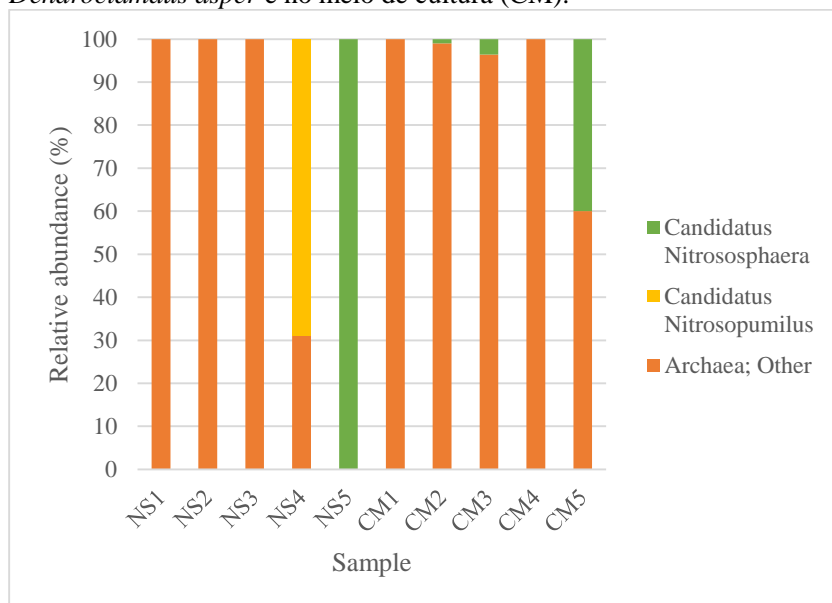
Os diagramas de Venn demonstraram que os tratamentos e suas amostras foram compostos por UTOs compartilhados e exclusivos. Isso foi verificado tanto entre amostras do mesmo tratamento (segmentos nodais de diferentes plantas, por exemplo) como entre amostras de diferentes tratamentos mas pertencentes à mesma planta. A exclusividade de UTOs, principalmente aqueles dos meios de cultura pode ser explicada pela alta diversidade de micro-organismos dentro uma mesma planta, inclusive no mesmo tipo de órgão. Nesse caso, ainda que tenha havido tentativa de homogeneizar a coleta dos segmentos nodais, aqueles destinados à extração de DNA foram distintos daqueles destinados ao meio de cultura. Donachie et al. (2007) analisaram sete estudos que utilizaram sequenciamento do 16S rRNA e técnicas de cultivo para as mesmas amostras e verificaram que todos os trabalhos encontraram diferenças no número de táxons identificados pelas duas abordagens. Inclusive, dois trabalhos identificaram mais táxons por meio da técnicas de cultivo do que sequenciamento 16S rRNA (EILERS et al., 2000; DONACHIE et al., 2004).

#### Estrutura da comunidade microbiana

O sequenciamento Illumina MiSeq de segmentos nodais de *Dendroclamaus asper* e do meio de cultura onde segmentos foram inoculados e posterior curadoria manual das sequências geraram 1.070 UTOs, incluindo amostras dos segmentos nodais (NS) e do meio de cultura (CM), distribuídos em Archeae (12), Bacteria (391) e Fungi (667). Baseado na classificação taxonômica das sequências representativas a partir dos UTOs, a composição das comunidades foi apresentada ao nível de filo, classe e gênero.

Dentre 12 UTOs identificados como Archaea (APÊNDICE A), todos pertencem ao filo Thaumarchaeota e classe Nitrososphaeria, sendo três UTOs identificados ao nível de gênero, *Candidatus Nitrosopumilus* (1 UTO) correspondendo à 13, 78% (NS) e 0% (CM) da abundância relativa de sequências e *Candidatus Nitrososphaera* (2 UTOs) correspondendo a 20% (NS) e 8,93% (CM) da abundância relativa das sequências de Archaea. *Candidatus Nitrosopumilus* foi encontrado apenas em NS4 e *Candidatus Nitrososphaera* foi encontrado em NS5, CM2, CM3 e CM5 (Fig. 5).

Figura 5. Abundância relativa de Archaea em segmentos nodais (NS) de *Dendroclamaus asper* e no meio de cultura (CM).



Nesse trabalho foi possível detectar a presença de Archaea associado a *D. asper* e identificar o Filo Thaumarchaeota, o qual correspondeu à 0,1% das sequências e 1,12% do número de UTOs de micro-organismos, incluindo segmentos nodais e meio de cultura.

Thaumarchaeota é um filo altamente diversificado tradicionalmente presente em diferentes ecossistemas, como água marinhas, ambientes estuarinos, de água doce, geotérmicos e estações de tratamento de águas residuais, sendo o grupo mais amplamente

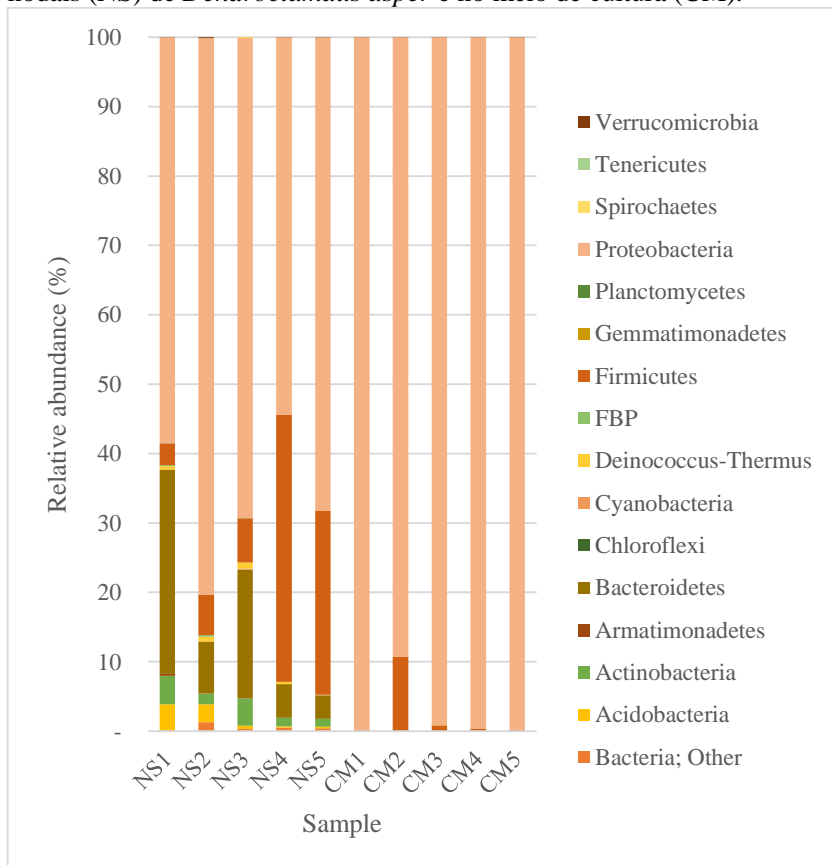
distribuído de Archaea conhecido até a data (PESTER et al., 2011; KEROU et al., 2016). Alguns representantes são capazes de oxidar amônia aerobicamente produzindo nitrito e assim tendo relevante participação no ciclo do Nitrogênio (YOU et al., 2009; HONG et al., 2013, AMBRÓSIO, 2016). Archaea também foi encontrado como endófitos de folhas e ramos de *Olea europaea* L. chegando a ocupar 51,7% da abundância relativa de sequências em determinada cultivar (MULLER et al., 2015). Outros estudos detectaram Archaea colonizando tecidos internos de folhas de *Phragmites australis* (MA et al., 2013), frutos de *Coffea arabica* (OLIVEIRA et al., 2013), raízes de *Oryza sativa* (SUN et al. 2008), raízes de *Zea mays* e *Glycine max* (MONTEIRO, 2016), indicando sua possível participação em processos contra fitopatógenos e manutenção de equilíbrio da microbiota (MULLER et al., 2015).

De maneira geral, o número de sequências de Archaea em CM (2.674) foi seis vezes maior que em NS (419) (Tab. 1) o que permite inferir que o meio de cultura teve efeito positivo no crescimento deste grupo. É relatado que a introdução e manutenção de Archaea em meio de cultura ainda é rara (STIEGLMEIER et al., 2014, AMBRÓSIO, 2016), por ser um grupo mesófilo, apresenta complexidade das comunidades encontradas e o conhecimento acerca do metabolismo é escasso, dificultando a elaboração de meios de cultura específicos (SIMON et al., 2014; AMBRÓSIO, 2016). Nesse trabalho, dois gêneros foram identificados, *Candidatus Nitrososphaera*, em segmentos nodais e meio de cultura, e *Candidatus Nitrosopumilus*, apenas em segmentos nodais. Ambos gêneros são quimiolitototróficos, usando amônia como fonte de energia e CO<sub>2</sub> como fonte de carbono (QUIN et al., 2015; KEROU et al., 2016;) e por isso são bastante sensíveis à composição do meio de cultura. Açúcares parecem não ter efeito sobre o metabolismo desses gêneros e aminoácidos possuem efeito negativo sobre o seu desenvolvimento (QUIN et al., 2015; KEROU et al., 2016). O meio de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962; ANEXO A) possui sacarose (87,6mM) em sua composição e sua formulação é direcionada ao metabolismo vegetal, o que pode explicar a ausência de *Candidatus Nitrosopumilus* no meio de cultura, além da diferença entre amostras utilizadas para extração de DNA. O maior número de sequências em CM foi verificado em UTOs identificados como Família Nitrososphaeraceae onde outros gêneros desta família podem ter se adaptado ao meio de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962).

Em Bacteria, 386 UTOs foram identificados e distribuídos em 15 filos e cinco UTOs não foram classificados nesse nível, totalizando 391 UTOs (APÊNDICE B). Dentre todas as amostras analisadas o filo mais abundante foi Proteobacteria (65,45% em NS e 97% em CM), seguido de Firmicutes (16,05% em NS e 2,4% em CM), Bacteroidetes (12,72% em NS e 0,007% em CM), Actinobacteria (2,39% em NS e 0,01% em CM) e Acidobacter (1,44% em NS e 0,005% em CM). Com abundância inferior à 1% foram identificados Armatimonadetes, Chloroflexi, Cyanobacteria, Deinococcus-Thermus, FBP, Gemmatimonadetes, Planctomycetes, Spirochaetes, Tenericutes, Verrucomicrobia (Fig. 6). Os filos Chloroflexi, Cyanobacteria e Spirochaetes foram encontrados apenas em amostras de segmentos nodais e o filo Gemmatimonadetes encontrado apenas em amostras do meio de cultura.

Akinsanya et al. (2015), estudando bactérias endofíticas de *Aloe vera* encontraram 147 UTOs em caule, sendo Proteobacteria, Firmicutes e Bacteroidetes os filos mais abundantes. Em folhas e ramos de *Olea eurapaea*, Müller et al. (2015), analisando a diversidade de Archaea e Bacteria endofíticas, encontraram 1.595 UTOs para os dois grupos, onde Proteobacteria também foi o filo mais abundante.

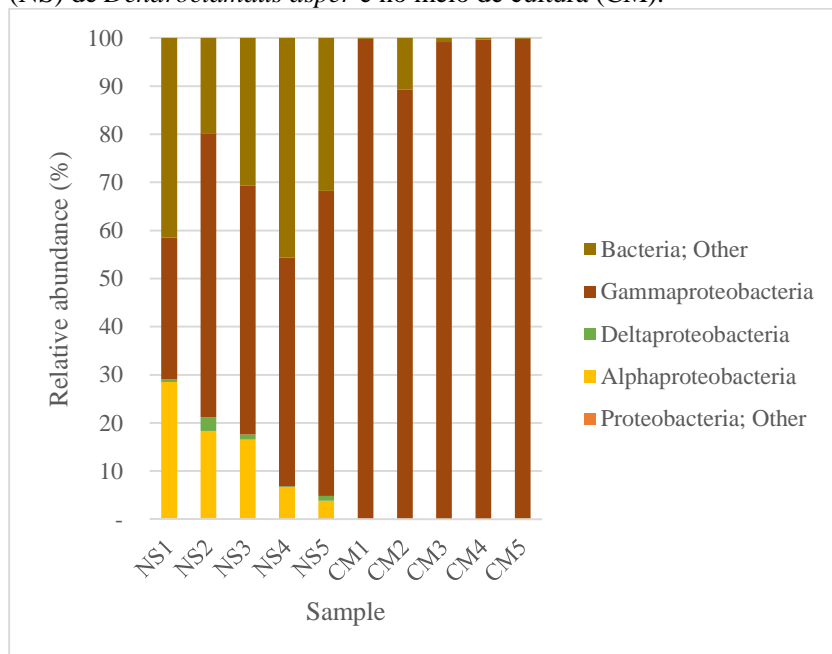
Figura 6. Abundância relativa de Bacteria, ao nível de filo, em segmentos nodais (NS) de *Dendroclamaus asper* e no meio de cultura (CM).



O meio de cultura parece ter favorecido o crescimento de Proteobacteria e/ou diminuído o crescimento dos demais filios, pois Proteobacteria foi responsável por 97% das sequências em CM. A análise ao nível de classe indicou que maior abundância relativa de Proteobacteria em CM foi relacionada ao aumento de Gammaproteobacteria em todas as amostras (Fig. 7). Ainda dentro de Proteobacteria, a classe Alphaproteobacteria foi responsável por 14,71% da abundância de sequências em NS (Fig. 7; APÊNDICE C).



Figura 7. Abundância relativa de Proteobacteria em segmentos nodais (NS) de *Dendroclamaus asper* e no meio de cultura (CM).



Diferentes métodos de identificação têm mostrado que o filo Proteobacteria, notadamente as classes Alphaproteobacteria e Gammaproteobacteria predominam nas partes aéreas de distintas espécies de plantas (WHIPPS et al., 2008; RASTOGGI et al., 2012; VORHOLT et al., 2012).

O alinhamento das sequências centróides com o banco de dados SILVA permitiu a identificação de 75 gêneros (APÊNDICE B), sendo *Pseudomonas*, *Pantoea* e *Staphilococcus* os mais abundantes. Verificou-se maior abundância relativa dos gêneros em NS do que em CM, com exceção de *Pantoea*, onde sua abundância foi quatro vezes maior em CM. Quatro UTOs foram identificados como *Pantoea*, e todos tiveram sua abundância aumentada em CM, onde dois UTOs foram responsáveis pelo efetivo aumento (165 vezes) do número de sequências.

A tabela 5 apresenta os gêneros de Bacteria com abundância média relativa acima de 1% em pelo menos um tratamento.

Tabela 5. Abundância relativa de Bacteria, ao nível de gênero, em segmentos nodais (NS) de *Dendroclamaus asper* e no meio de cultura (CM).

Gêneros	Abundância Relativa (%)	
	NS	CM
<i>Pseudomonas</i> (Proteobacteria; Gammaproteobacteria)	17,98 ± 4,28	0,4 ± 0,57
<i>Pantoea</i> (Proteobacteria; Gammaproteobacteria)	16,35 ± 7,34	67,29 ± 23,44
<i>Staphylococcus</i> (Firmicutis; Bacillis)	6,51 ± 12,87	0 ± 0
<i>Sphingomonas</i> (Proteobacteria; Alphaproteobacteria)	6,44 ± 3,48	0,03 ± 0,03
<i>Paenibacillus</i> (Firmicutis; Bacillis)	5,76 ± 2,39	2,2 ± 4,22
<i>Massilia</i> (Proteobacteria; Gammaproteobacteria)	5,26 ± 3,67	0,02 ± 0
<i>Methylobacterium</i> (Proteobacteria; Alphaproteobacteria)	3,46 ± 2,32	0,02 ± 0,02

*Pseudomonas* foi citado como um dos gêneros mais abundantes em *Aloe vera* (AKINSANYA et al., 2015) e *Olea europaea* (MULLER et al., 2015). Em bambu foram identificados *Pantoea* como contaminantes de meio de cultura de *Guadua angustifolia* (NADHA et al. (2012) e *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Massilia*, *Sphingomonas*, *Terrimonas*, *Aquicella*, *Methylophilus* como endófitos em vitroplantas de *Dendrocalamus giganteus* (COLETTA et al., 2011). Yuan et al. (2015) buscando caracterizar bactérias endofíticas cultivadas à partir de *Phyllostachys edulis*, encontraram 26 gêneros, sendo *Pseudomonas* um dos mais abundantes em toda a planta e *Pantoea* detectado apenas em folhas. Também em *P. edulis*, Han et al. (2009) identificaram *Pantoea* como bactéria endofítica de raízes. Ramírez et al., (2009) encontraram *Pseudomonas* como um dos principais contaminantes na fase de estabelecimento *in vitro* de *Guadua angustifolia*.

As bactérias associadas às partes aéreas de plantas representam uma simbiose generalizada e antiga que pode influenciar o desenvolvimento do hospedeiro de várias maneiras, incluindo a produção de nutrientes e hormônios promotores do crescimento (PARTIDA-MARTÍNEZ e HEIL, 2011; REED et al., 2010; KEMBEL et al., 2014) e proteção dos hospedeiros contra patógenos (INNEREBNER et al., 2011; BALINT-KURTI et al., 2010). As bactérias de tecidos superficiais têm o potencial de influenciar a biogeografia vegetal e a função dos ecossistemas através de sua influência no desempenho das plantas sob diferentes condições ambientais (FÜRNKRANZ et al., 2008; FRIESEN et al., 2011; KEMBEL et al., 2014). A produção de ácido indolacético é comum entre bactérias que colonizam tecidos internos e externos, já estudado em *Pseudomonas* (FETT et al., 1988; GLICKMANN et al., 1989) e *Pantoea* (BRANDL et al., 1998).

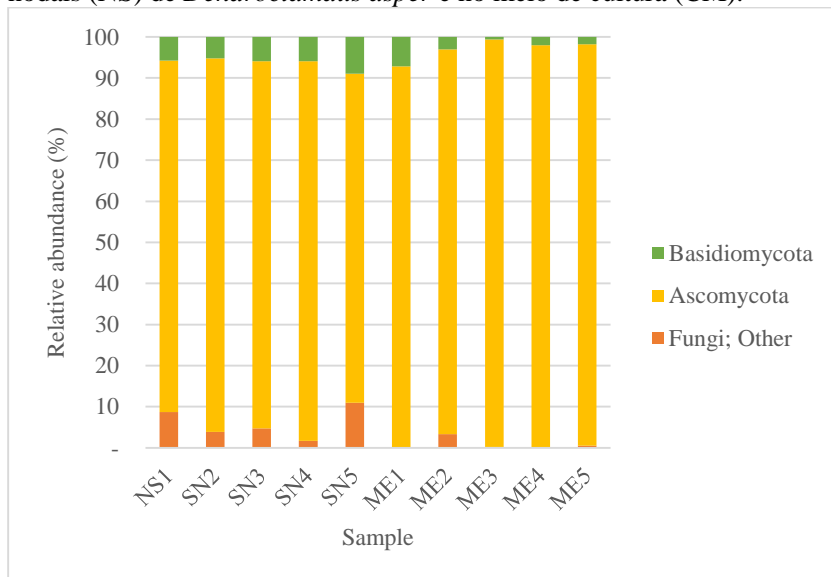
O gênero *Pseudomonas* é o mais numeroso dentre os gêneros catalogados de bactérias Gram-negativas (GOMILA et al., 2015) e foram isolados de diferentes nichos ecológicos dentro de uma planta (MERCADO-BLANCO e BAKKER, 2007). Tem capacidade de interagir e influenciar outras bactérias, fungos e organismos multicelulares em uma variedade de contextos biológicos (SITARAMAN, 2015). Espécies do gênero *Pseudomonas* também são reconhecidas por serem antagonistas de patógenos como o fungo *Rhizoctonia solani* (BAGNASCO, et al., 1998). O gênero *Pantoea* compreende bactérias gram-negativas isoladas dos mais variados ambientes como plantas, sementes, frutos, solo, água e humanos (urina, sangue). São encontradas na filosfera e em tecidos internos saudáveis de plantas e sementes. Na rizosfera de trigo e sorgo, foram detectadas cepas capazes de fixar nitrogênio (KLEEBERGER et al., 1983; GRIMONT e GRIMONT, 2015). Elas são capazes de crescer em meio de cultura de uso geral contendo agar, sem necessitar de nutrientes específicos. Apresentam resistência a ampicilina e cefalotina e susceptibilidade a carbenicilina, cefoxitina, cefuroxima, cefamandole e demais antibióticos aminoglicosilados (GRIMONT e GRIMONT, 2015). *Paenibacillus* foram encontrados em habitats divergentes, de regiões polares aos trópicos, ambientes aquáticos à desertos, humanos, animais e plantas. Produzem compostos antimicrobianos usados na medicina ou como pesticidas, além de enzimas que podem ser utilizadas na biorremediação (GRADY et al., 2016). Muitas espécies de *Paenibacillus* são promotoras de crescimento por produzirem auxinas, solubilização de fósforo, fixar nitrogênio atmosférico (DE SOUZA et al., 2014; WESELOWSKI et al., 2016), além de auxiliar no controle de

fitopatógenos (GRADY et al., 2016). Espécies de *Sphingomonas* estão envolvidas com proteção contra bactérias fitopatogênicas, atuando na diminuição do crescimento do patógeno (INNEREBNER et al., 2011; VOGEL et al., 2012). A síntese de citocinina também tem sido evidenciada em espécies de *Methylobacterium* onde aplicações foliares de *Methylobacterium* spp. aumentaram a produção de soja e, em troca, a secreção de citocinina, que está envolvida na divisão e expansão das células vegetais, pode desencadear a liberação de metanol da parede celular da planta e fornecer nutrientes para a bactéria (IKEDA et al., 2011). *Massilia* e *Staphylococcus* foram encontrados como endófitos de *Oriza sativa* (HAMEED et al., 2015) mas de maneira geral são reconhecidos como um gêneros patógenos humanos (LA SCOLA et al, 1998; DAN et al., 1984)

Em Fungi, 474 UTOs foram identificados ao nível de Filo, sendo 375 UTOs de Ascomycota, 99 UTOs de Basidiomycota e 193 UTOs não foram identificados nesse nível, totalizando 667 UTOs (APÊNDICE D). O Filo mais abundante foi Ascomycota (87,64% em NS e 96,22% em CM) seguido de Basidiomycota (6,35% em NS e 2,92% em CM) (Fig. 8).

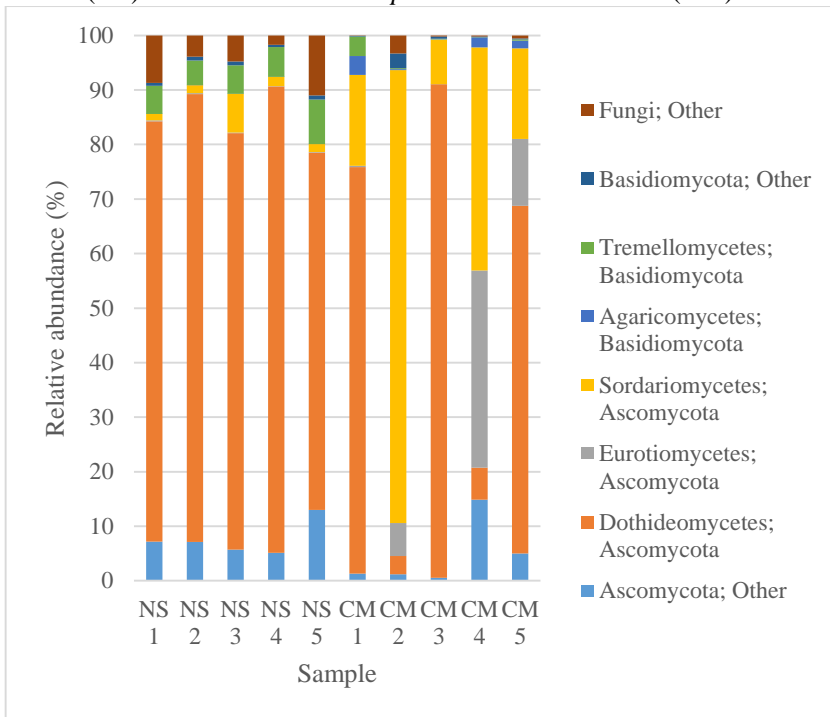
Segundo Hyde et al. (2002) mais de 1.100 espécies de fungos já foram descritas ou registradas a partir de bambus em todo o mundo. De maneira geral, fungos associados ao bambu são generalistas e apresentam maior diversidade em órgãos subterrâneos do que em partes aéreas. “Bambusicolous fungi” é o termo em inglês para “fungos vivendo no bambu” (HINO, 1938) e inclui todos os fungos que crescem em substrato de bambu, incluindo colmos, folhas, ramos, rizomas e raízes (HYDE, 2002; SHUKLA et al., 2016). Foram descritas mais de 1.100 espécies, compreendendo 630 Ascomycota, 150 Basidiomycota e 330 táxons anamórficos. Ascomycota é o filo com maior registro em bambu distribuído em 70 famílias e 228 gêneros. Basidiomycota representa 13% do total de fungos descritos ou registrados em bambu, distribuído em 42 famílias e 70 gêneros (SHUKLA et al., 2016).

Figura 8. Abundância relativa de Fungi, ao nível de filo, em segmentos nodais (NS) de *Dendroclamaus asper* e no meio de cultura (CM).



Dentro dos filos, as classes que mais contribuíram com a abundância relativa de sequências foram Dothideomycetes (Ascomycota) em NS e CM e, Tremellomycetes (Basidiomycota) em NS. Verificou-se aumento da abundância de sequências das classes Sordariomycetes (Ascomycota), Eurotiomycetes (Ascomycota) e Agaricomycetes (Basidiomycota) em CM (Fig. 9; APÊNDICE E).

Figura 9. Abundância relativa de Fungi, ao nível de classe, em segmentos nodais (NS) de *Dendroclamaus asper* e no meio de cultura (CM).



Vaz et al. (2014) avaliaram a comunidade endofítica de Fungi em duas espécies de Myrtaceae nativas da Floresta Atlântica (RS/Brasil) e identificaram cinco classes de Ascomycota e uma classe de Basidiomycota, onde Sordariomycetes e Dothideomycetes foram as mais abundantes. Ao nível de ordem, o mesmo estudo identificou 14 ordens compostas por 27 gêneros.

Buscando estudar a diversidade de fungos endofíticos em partes aéreas de *Phyllostachys* spp., Morakotkarn et al. (2007) isolaram 257

cepas, caracterizaram 71 e verificaram que a diversidade fúngica estava distribuída dentro de Ascomycota, principalmente Sordariomycetes e Dothideomycetes. Sordariomycetes é a classe com maior número espécies registradas em bambu (SHUKLA et al., 2016).

Para entender a dinâmica de crescimento ou inibição em meio de cultura de grupos representativos (com abundância média relativa acima de 1% em pelo menos um tratamento), os resultados foram apresentados ao nível de ordem (Tab. 6). Verificou-se que Capnodiales e Dothideales (Ascomycota) tiveram sua abundância de sequências reduzida em CM indicando que estes grupos não se adaptaram ao meio MS. No entanto, Diaporthales, Eurotiales, Hypocreales, e Pleosporales (Ascomycota) tiveram sua abundância de sequências aumentada em CM, indicando que o meio MS teve efeito positivo no crescimento desses grupos. Estas ordens somaram 58,71% das sequências em CM, notadamente Pleosporales. De maneira geral, na hierarquia dos grupos taxonômicos não foi possível identificar os táxons que mais contribuíram com abundância de sequências em CM abaixo de ordem.

Tabela 6. Abundância relativa de Fungi, ao nível de ordem, em segmentos nodais (NS) de *Dendroclamaus asper* e no meio de cultura (CM).

Ordens	Abundância Relativa (%)	
	NS	CM
Capnodiales (Ascomycota; Dothideomycetes)	12,73 ± 5,82	0,38 ± 0,51
Diaporthales (Ascomycota; Sordariomycetes)	0,05 ± 0,01	8,41 ± 15,95
Dothideales (Ascomycota; Dothideomycetes)	5,35 ± 4,52	3,84 ± 4,04
Eurotiales (Ascomycota; Eurotiomycetes)	0,05 ± 0,01	10,95 ± 14,95
Hypocreales (Ascomycota; Sordariomycetes)	0,05 ± 0,02	2,24 ± 2,42
Pleosporales (Ascomycota; Dothideomycetes)	33,86 ± 13,79	37,11 ± 33,81
Tremellales (Basidiomycota; Tremellomycetes)	5,71 ± 1,42	0,84 ± 1,53

Espécies de Pleosporales ocorrem em diversos habitats e podem ser epifíticos, endofíticos ou parasitas de ramos e folhas vivas, hiperparasitas de fungos e insetos, liquenizados ou saprófitas de plantas

mortas (RAMESH, 2003; KRUYIS et al., 2006; ZHANG et al., 2012). Dentro de Pleosporales, os gêneros *Alternaria* e *Epicoccum* são descritos como contaminantes comuns de cultivo *in vitro* de plantas (BUNN e TAN, 2002).

A ordem Eurotiales teve sua abundância aumentada em 219 vezes em CM, sendo todos os UTOs pertencentes à Trichocomaceae. Esta família possui dois dos gêneros mais representativos em contaminações de plantas micropropagadas, *Aspergillus* e *Penicillium*, os quais são transportados principalmente pelo ar (BUNN e TAN 2002).

Diaporthales teve sua abundância aumentada em 168 vezes em CM, sendo que a família Schizoparmaceae foi responsável por 6,99% da abundância de sequências. Diaporthales inclui diversos fungos fitopatogênicos e membros de Schizoparmaceae produzem doenças como podridão branca em raízes de videira causada por *Pilidiella diplodiella* (Speg.) Crous e van Niekerk (Sutton e Waterston 1966, como *Coniella diplodiella*) e manchas foliares e de frutos em morangueiro causadas por *P. castaneicola* (Ellis & Everh.) Arx (Maas 1998). São comuns em regiões de clima tropical embora também encontrados em áreas temperadas. (ROSSMAN et al., 2007).

Hypocreales apresentou aumento de 44 vezes em CM. Espécies dessa ordem podem ser sapróbias, entomopatogênicas, micoparasitas (ROSSMAN et al., 1999; CHAVERRI et al., 2006). Possuem importância econômica e ecológica por regularem populações de insetos e assim atuarem como agentes de biocontrole na agricultura. Como principal representante de Hypocreales com uso real e/ou potencial está o gênero *Trichoderma*, onde algumas linhagens são utilizadas no controle de patógenos e como indutores de resistência das plantas contra doenças (MACHADO et al., 2012). Hypocreales também possui representantes fitopatogênicos como *Fusarium oxysporum* e *Fusarium graminearum*, ambos responsáveis por grandes perdas em culturas como melão, banana, tomate, algodão e cereais (MICHIELSE e REP, 2009; DEAN et al., 2012). O gênero *Fusarium* também é considerado comum em contaminação de plantas *in vitro*, sendo disperso principalmente por ácaros (LEIFERT e WOODFORD, 1997; BUNN e TAN, 2002).

Foi possível identificar 18 gêneros por meio da região ITS2 (Quadro 2), mas todos os gêneros apresentaram abundância de sequências inferior à 1%, com exceção de *Peniophora* (Basidiomycota) que contribuiu com 3,4% de sequências em CM1 (APÊNDICE E). Entre os gêneros identificados, *Leptospora*, *Marthamyces*, *Taphrina* e *Dioszegia* não foram encontrados em amostras de CM.



Quadro 2. Gêneros de Fungi identificados em segmentos nodais de *Dendrocalamus asper* e no meio de cultura.

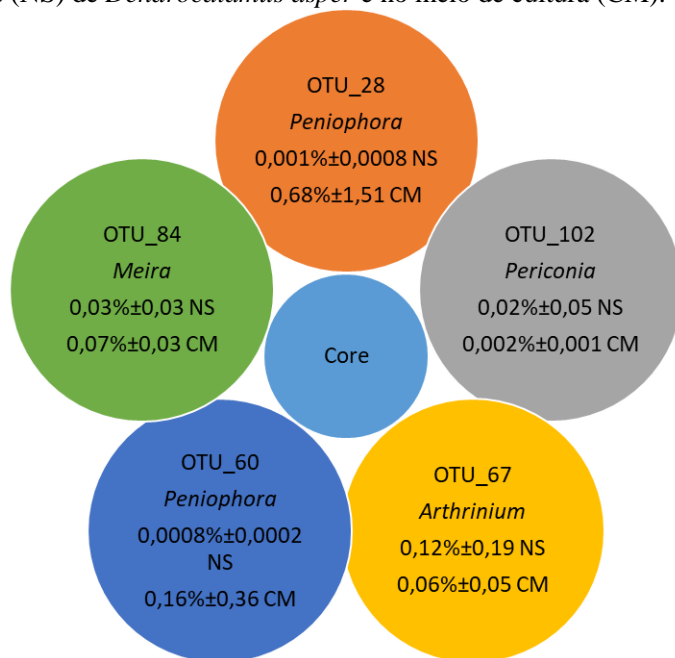
<b>Ascomycota</b>			
<b>Classes</b>	<b>Ordens</b>	<b>Famílias</b>	<b>Gêneros</b>
Sordariomycetes	Xylariales	Apiosporaceae	<i>Arthrinium</i>
	Diaporthales	Togniniaceae	<i>Phaeoacremonium</i>
	Coniochaetales	Coniochaetaceae	<i>Coniochaeta</i>
Dothideomycetes	Pleosporales	<i>Incerta sedis</i>	<i>Periconia</i>
		Teichosporaceae	<i>Teichospora</i>
	<i>Incertae sedis</i>	<i>Incertae sedis</i>	<i>Leptospora</i> *
Eurotiomycetes	Chaetothyriales	<i>Incertae sedis</i>	<i>Strelitziana</i>
Leotiomycetes	Rhytismatales	Rhytismataceae	<i>Lophodermium</i>
	Helotiales	Marthamycetaceae	<i>Marthamyces</i> *
Taphrinomycetes	Taphrinales	Taphrinaceae	<i>Taphrina</i> *
<b>Basidiomycota</b>			

<b>Classe</b>	<b>Ordem</b>	<b>Família</b>	<b>Gênero</b>
Agaricomycetes	Russulales	Peniophoraceae	<i>Peniophora</i>
Cystobasidiomycetes	Erythrobasidiales	<i>Incertae sedis</i>	<i>Bannoa</i>
	<i>Incertae sedis</i>	Symmetrosporaceae	<i>Symmetrospora</i>
Exobasidiomycetes	<i>Incertae sedis</i>	<i>Incertae sedis</i>	<i>Meira</i>
Pucciniomycetes	Septobasidiales	Septobasidiaceae	<i>Septobasidium</i>
Tremellomycetes	Tremellales	<i>Incertae sedis</i>	<i>Deroxomyces</i>
		Tremellaceae	<i>Dioszegia</i> *
		<i>Incertae sedis</i>	<i>Hannaella</i>

\*gêneros não identificados em amostras de meio de cultura

Dentro dos gêneros identificados cinco deles foram compartilhados por todas as amostras. Esse suposto *core* foi composto por *Arthrinium*, *Meira*, *Peniophora* (2 UTOS) e *Periconia* (Fig. 10).

Figura 10. Unidades Taxonômicas Operacionais (OTUs) e sua classificação taxonômica representando um suposto *core* em segmentos nodais (NS) de *Dendrocalamus asper* e no meio de cultura (CM).



Contrastando os gêneros de Fungi identificados nesse trabalho com os gêneros descritos por Dai et al. (2017) e Hyde et al. (2002) em colmos mortos de bambu, apenas dois gêneros foram comuns à todos os estudos: *Arthrinium* e *Phaeoacremonium*.

*Arthrinium* Kunze pertence à família Apioporaceae - Xylariales, Ascomycota (CROUS e GORENEWALD, 2013) – apresenta espécies fúngicas endofíticas de plantas, líquens e algas marinhas (RAMOS et al., 2010, He e ZHANG, 2012, SURYANARAYANAN, 2012), patógenas e saprófitas de uma grande variedade de substratos vegetais, inclusive de diferentes gêneros e espécies de bambu (MARTÍNEZ-CANO, et al.,

1992, AGUT e CALVO, 2004). *Arthrimum* é frequentemente registrado como um dos gêneros de fungos mais comuns em bambus (SAMUELS et al., 1981, MOHANAM, 1997, KIM et al., 2011, HYDE et al., 2001; MORAKOTKARN et al., 2007; CROUS e GORENEWALD, 2013). *Phaeoacremonium* pertence à família Togniniaceae – Diaporthales, Ascomycota (CROUS et al., 1996) – apresenta espécies fúngica comumente isoladas de caules e galhos de hospedeiros lenhosos doentes, humanos com micoses e ocasionalmente de solo (CROUS et al., 1996; MOSTERT et al., 2003, 2006; ESSAKHI et al., 2008; GRAHAM et al., 2009; GRAMAJE et al., 2015). Dai et al. (2017) isolaram *Phaeoacremonium* à partir de colmo morto de bambu.

Nesse trabalho não foram identificados gêneros conhecidamente patógenos de bambu, como *Linearistroma sp.*, *Shiraria sp.* e *Calonectria spp.*, os quais podem afetar o crescimento e desenvolvimento causando danos econômicos (TEWARI, 1993; MOHANAN, 2002; LI et al., 2009, DAI et al., 2017). O patógeno de folhas *Phyllachora sp.* também não foi identificado, apesar de ter sido registrado em diversos países do mundo incluindo Argentina (PARBERY, 1967; PEARCE et al., 2000). De maneira geral, fungos associados a bambu não são patógenos, mas é importante salientar que muitos registros ocorrem a partir de colmos mortos, e levantamentos feitos em brotos, raízes e inflorescências ainda são raros (DAI et al., 2017).

Acosta-Suárez et al. (2008) identificaram os gêneros *Asteromella*, *Bipolaris*, *Humicola*, *Alternaria*, *Botryotrichum*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Fusarium* e *Nigrospora* presentes em meio de cultura após a inoculação de segmentos nodais de diversas espécies de bambu, dentre elas *D. asper*. Na tentativa de identificar fungos contaminantes no estabelecimento de *Bambusa vulgaris* Schrad ex Wendl *in vitro*, Santos-Pérez e Santos-Pérez (2009) realizaram isolamento, cultura e identificaram, por meio da morfologia, *Alternaria* e *Fusarium*.

## Conclusões

O sequenciamento de nova geração utilizando plataforma Illumina MiSeq revelou, pela primeira vez, a comunidade microbiana associada à *Dendroclamaus asper*, incluindo Archaea, Bacteria e Fungi, tanto em segmentos nodais como nos meios de cultura onde segmentos nodais foram inoculados. Igualmente, pela primeira vez, foi registrada a presença de Archaea em bambu. O levantamento revelou grande diversidade da microbiota entre indivíduos da mesma espécie e, de maneira indireta por intermédio do meio de cultura, entre partes de um mesmo indivíduo. Verificou-se que aproximadamente 60% da microbiota (número de UTOs) de segmentos nodais de *Dendrocalamus asper* foi detectada em meio cultura, comprovando mais uma vez a potencialidade da metagenômica - *metabarcoding* para inventários de micro-organismos que não apresentam crescimento suficiente para identificação por meio de abordagens que não utilizam sequenciamento de nova geração. Em Archaea, a identificação do Filo Thaumarchaeota, reconhecido por possuir representantes fixadores de nitrogênio, revelou que este grupo pode ter uma relação simbiótica com bambu. Proteobacteria foi o filo mais abundante em Bacteria, assim como Ascomycota em Fungi. Os filios identificados em Bacteria e Fungi são concordantes com a literatura, mas as informações sobre sua abundância em meio de cultura trazem conhecimento que pode auxiliar o estabelecimento *in vitro* de bambu, principalmente na adoção de metodologias de assepsia específicas aos micro-organismos identificados. O levantamento bibliográfico dos efeitos positivos dos gêneros mais abundantes mostrou que a maioria pode atuar como promotores de crescimento, sejam endofíticos ou epifíticos.

## Referências Bibliográficas

ABARENKOV, K., NILSSON, R. H., LARSSON, K. H., ALEXANDER, I. J., EBERHARDT, U., ERLAND, S. (2010). The UNITE database for molecular identification of fungi - recent updates and future perspectives. *New Phytol.* 186, 281–285. doi: 10.1111/j.1469-8137.2009.03160.x.

ACOSTA-SUÁREZ M, ALVARADO-CAPÓ Y, CRUZ-MARTÍN M, ROQUE B, SÁNCHEZ-GARCÍA C, LEIVA-MORA M, FREIRE-SEJO M, GARCÍARAMÍREZ Y, PÉREZ Z, SALABARRÍA T, TEJEDA M, GONZÁLEZ M, HURTADO O (2008) Micobiota de plantas donadoras

y contaminantes fúngicos del establecimiento in vitro de especies de bambúes. *Biocología Vegetal* 8:57–61.

AGUT M, CALVO MA. (2004). In vitro conidial germination in *Arthrrium aureum* and *Arthrrium phaeospermum*. *Mycopathologia* 157: 363–367.

AKINSANYA, MA, GOH, JK, LIM, SP, TING, ASY. (2015). Metagenomics study of endophytic bacteria in *Aloe vera* using next-generation technology. *Geomics Data*, 6: (159-163) doi.org/10.1016/j.gdata.2015.09.004.

AMANN, RI, LUDWIG, W, SCHLEIFER, K-H (1995) Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol Rev* 59(1):143–169.

AMBRÓSIO, D.V. (2016). Cultivo e caracterização de membros do domínio *Archaea* a partir de sedimentos límnicos do Cerrado. Dissertação (Mestrado) Universidade de Brasília.

ANDERSON, M. J. (2006) Distance-based tests for homogeneity of multivariate dispersions. *Biometrics*, v. 62, n. 1, p. 245–253.

ANDERSON, M. J.; ELLINGSEN, K. E.; MCARDLE, B. H. (2006) Multivariate dispersion as a measure of beta diversity. *Ecology letters*, v. 9, n. 6, p. 683–693.

ANDREOTE, F.D., PEREIRA E SILVA, M.C. (2017). Microbial communities associated with plants: learning from nature to apply it in agriculture. *Current Opinion in Microbiology* 2017, 37:29– 34.

ARAÚJO, W.L. (Coord.) (2010). *Guia prático: isolamento e caracterização de microrganismos endofíticos*. Piracicaba: ESALQ/USP. 167 p.

BADRI, D.V., QUINTANA, N., EL-KASSIS, E.G., KIM, H.K., CHOI, Y.H., SUGIYAMA, A., VERPOORTE, R., MARTINOIA, E., MANTER, D.K., VIVANCO, J.M. (2017) An ABC transporter mutation alters root exudation of phytochemicals that provoke an overhaul of natural soil microbiota. *Plant Physiol.*, 4:2006-2017.

- BAGNASCO, P. et al. (1998) Fluorescent *Pseudomonas* spp. as biocontrol agents against forage legume root pathogenic fungi. *Soil Biol. Biochem.*, 30:1317-1322.
- BALINT-KURTI P, SIMMONS SJ, BLUM JE, BALLARÉ CL, STAPLETON AE (2010) Maize leaf epiphytic bacteria diversity patterns are genetically correlated with resistance to fungal pathogen infection. *Mol Plant Microbe Interact* 23(4):473–484.
- BANERJEE, M.; SAIKAT, G.; PRAMANIK, B.R. (2011) A two-step method for accelerated mass propagation of *Dendrocalamus asper* and their field evaluation. *Physiol. Mol. Biol. Plant.* 17:387–393.
- BECKERS, B., OP DE BEECK, M., WEYENS, N., BOERJAN, W., VANGRONVELD, J. (2017). Structural variability and niche differentiation in the rhizosphere and endosphere bacterial microbiome of field-grown poplar trees. *Microbiome* 5, 25. doi: 10.1186/s40168-017-0241-2.
- BLACKWELL M. (2011) The fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species? *Am J Bot.*, 98(3): 426–38
- BRANDL, M. T., S. E. LINDOW. (1998). Contribution of indole-3-acetic acid production to the epiphytic fitness of *Erwinia herbicola*. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:3256–3263
- BRESSAN M, RONCATO MA, BELLVERT F, COMTE G, HAICHAR FZ, ACHOUAK W, BERGE O. (2009) Exogenous glucosinolate produced by *Arabidopsis thaliana* has an impact on microbes in the rhizosphere and plant roots. *ISME J.*, 3:1243-1257.
- BUNN, E, TAN, E. 2002. (2002) Microbial contaminants in plant Tissue culture propagation. In: K. Sivasithamparam, K.W. Dixon & R.L. Barrett (eds) 2002. *Microorganisms in Plant Conservation and Biodiversity*. p. 307–335.
- BUSBY, P.E., SOMAN, C., WAGNER, M.R., FRIESEN, M.L., KREMER, J., BENNETT, A., MORSY, M., EISEN, J.A., LEACH, J.E., DANGL, J.L. (2017). Research priorities for harnessing plant

microbiomes in sustainable agriculture. *Plos Biology*.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2001793>

CAMACHO, C., COULOURIS, G., AVAGYAN, V., MA, N., PAPADOPOULOS, J., BEALER, K., MADDEN, T.L. (2008) BLAST+: architecture and applications. *BMC Bioinformatics* 10: 421.

CAVERRI, P., VÍLCHEZ, B. (2006). Hypocrealean (Hypocreales, Ascomycota) Fungal Diversity in Different Stages of Tropical Forest Succession in Costa Rica. *Biotropica*, 38 (4): 531-543.

CHAO, A. et al. (2014) Rarefaction and extrapolation with Hill numbers: a framework for sampling and estimation in species diversity studies. *Ecol. Monogr.*, v. 84, n. 1, p. 45–67.

CHAPARRO JM, BADRI DV, VIVANCO JM. (2014) Rhizosphere microbiome assemblage is affected by plant development. *ISME J.*, 8:790-803.

COLETTA, R.D., GOMES, J.E., TSAI, S.M., CALDAS, D.G.G. (2011). Análise comparativa entre endofíticos de bambu em biorreatores de imersão temporária e explantes cultivados *in vitro* através do sequenciamento do 16S Rrna. 19º Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP.

CROUS PW, GORENEWALD JZ. (2013). A phylogenetic re-evaluation of *Arthrinium*. *IMA Fungus* 4(1): 133-154.

CROUS, P.W.; GAMS, W.; WINGFIELD, M.J.; VAN WYK, P.S. (1996). *Phaeoacremonium* gen. nov. associated with wilt and decline diseases of woody hosts and human infections. *Mycologia*. 88:786-796.

DAI et al. (2017) Bambusicolous fungi. *Fungal Diversity* (2017) 82:1–105 doi 10.1007/s13225-016-0367-8.

DAN M, MARIEN GJ, GOLDSAND G (1984) Endocarditis caused by *Staphylococcus warneri* on a normal aortic valve following vasectomy. *Can Med Assoc J* 131:211–213

DE SOUZA R, MEYER J, SCHOENFELD R, DA COSTA PB, PASSAGLIA LMP. (2014) Characterization of plant growth-promoting



- bacteria associated with rice cropped in iron-stressed soils. *Ann Microbiol*, 65:951–64.
- DEAN, R., VAN KAN, J.A.L., PRETORIUS, Z.A., HAMMOND-KOSACK, K.E., DI PIETRO, A., SPANU, P.D., RUDD, J.J., DICKMAN, M., KAHMANN, R., ELLIS, J., FOSTER, G.D. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(4), 414–430.
- DEZHU, L.; STAPLETON, C.M.A. (2006). Bambuseae. In: Wu, Z.Y.; Raven, P.H. & Hong, D.Y. (eds.). *Flora of China* 22: 7-180.
- DJEMIEL, C., GREC, S., SIMON HAWKINS, S. (2017) Characterization of Bacterial and Fungal Community Dynamics by High-Throughput Sequencing (HTS) Metabarcoding during Flax Dew-Retting. *Frontiers in Microbiology*, 8, Article 2052.
- DONACHIE SP, HOU S, LEE K-S, RILEY CW, PIKINA A, BELISLE C. (2004). The Hawaiian Archipelago: a microbial diversity hotspot. *Microb Ecol* 48: 509–520.
- DONACHIE, S.P., FOSTER, J.S., BROWN, M.V. (2007) Culture clash: challenging the dogma of microbial diversity. *The ISME Journal* (2007) 1, 97–102.
- EILERS H, PERNTHALER J, GLOCKNER FO, AMANN R. (2000). Culturability and in situ abundance of pelagic bacteria from the North Sea. *Appl Environ Microbiol* 66: 3044–3051.
- ESSAKHI S, MUGNAI L, CROUS PW, GROENEWALD JZ, SURICO G (2008) Molecular and phenotypic characterisation of novel Phaeoacremonium species isolated from esca diseased grapevines. *Persoonia* 21:119–134.
- FETT, W. F., S. F. OSMAN, M. F. DUNN. (1987). Auxin production by plant-pathogenic pseudomonads and xanthomonads. *Appl. Environ. Microbiol.* 53:1839–1845.
- FRASER, C., ALM, E.J., POLZ, M.F., SPRATT, B.G., HANAGE, W.P. (2009). The Bacterial Species Challenge: Making Sense of Genetic and Ecological Diversity. *SCIENCE*, 323 6.

FRIESEN ML, et al. (2011) Microbially mediated plant functional traits. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 42:23–46.

FU, J., MUELLER, H., DE CASTRO JR, J.V., YU, C., CAVACO-PAULO, A., GUEBITZ, G.M., GIBSON, S., NYANHONGO, G.S. (2011) Changes in the bacterial community structure and diversity during bamboo retting. *Biotechnol. J.*, 6, 1262–1271.

FÜRNKRANZ M, et al. (2008) Nitrogen fixation by phyllosphere bacteria associated with higher plants and their colonizing epiphytes of a tropical lowland rainforest of Costa Rica. *ISME J* 2(5):561–570.

GEORGE, E. F.; KLERK, G.J.; HALL, M.A. (2008). Plant Propagation by Tissue Culture: Volume 1. The Background. 3rd Edition. Dordrecht: springer, 2008. ISBN 9781402050053 Disponível em: doi.org/10.1007/978-1-4020-5005-3.

GLICKMANN, E., L. GARDAN, S. JACQUET, S. HUSSAIN, M. ELASRI, A. PETIT, AND Y. DESSAUX. (1988). Auxin production is a common feature of most pathovars of *Pseudomonas syringae*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 11:156–162.

GOMILA, M., PEÑA, A., MULET, M. M., LALUCAT, J., AND GARCÍA-VALDÉS, E. (2015). Phylogenomics and systematics in *Pseudomonas*. *Front. Microbiol.* 6:214. doi: 10.3389/fmicb.2015.00214.

GRADY, E.N., MACDONALD, J., LIU, L., RICHMAN, A., YUAN, ZC. (2016) Current knowledge and perspectives of *Paenibacillus*: a review. *Microb Cell Fact*, 15:203 doi 10.1186/s12934-016-0603-7

GRAHAM AB, JOHNSTON PR, WEIR BS (2009) Three new Phaeoacremonium species on grapevines in New Zealand. *Australas Plant Pathol* 38(5): 505–513 .

GRAMAJE D, MOSTERT L, GROENEWALD JZ, CROUS PW (2015) Phaeoacremonium: from esca disease to phaeohyphomycosis. *Fungal Biol* 119:759–783.

GRECO, T.M., CROMBERG, M. (2011). *BAMBU cultura e manejo*. Editora Insular, Florianópolis, 184p.

GRIMONT, PAD, GRIMONT, F. (2015) *Pantoea*. *Bergey's Manual of*

- Systematics of Archaea and Bacteria*, doi: 10.1002/9781118960608.gbm01157. Trust.
- HAMEED, A., YEH, MW., HSIEH, YT. et al. (2015) Diversity and functional characterization of bacterial endophytes dwelling in various rice (*Oryza sativa* L.) tissues, and their seed-borne dissemination into rhizosphere under gnotobiotic P-stress. *Plant Soil* 394: 177. doi.org/10.1007/s11104-015-2506-5
- HAN, J., et al. (2009). Diversity of Culturable Bacteria Isolated from Root Domains of Moso Bamboo (*Phyllostachys edulis*). *Microb Ecol* (2009) 58:363–373 doi 10.1007/s00248-009-9491-2.
- HATA K, ATARI R, SONE K (2002) Isolation of endophytic fungi from leaves of *Pasania edulis* and their within-leaf distributions. *Mycoscience* 43:369–373.
- HAWKSWORTH DL (2012) Global species numbers of fungi: are tropical studies and molecular approaches contributing to a more robust estimate? *Biodivers Conserv* 21:2425–2433. doi:10.1007/s10531-012-0335-x.
- HE Y, ZHANG Z. (2012). Diversity of organism in the *Usnea longissima* lichen. *African Journal of Microbiology Research* 6: 4797–4804.
- HINO, A., (1938) Illustrations fungorum bambusicolorum. *Bulletin of the Miyazaki College of Agricultural Forestry*. 10: 55-64.
- HONG, Y.; YOUSHAO, W.; CHEN, F.; (2013) “Archaea dominate ammonia oxidizers in the permian water ecosystem of Midland basin”. *Microbes and Environments*, 28(3): 396-199.
- HSIEH, T. C.; MA, K. H.; CHAO, A. (2016) iNEXT: an R package for rarefaction and extrapolation of species diversity (Hill numbers). *Methods Ecol. Evol.*, v. 7, n. 12, p. 1451–1456.
- HUGENHOLTZ, P., GOEBEL, B. M., PACE, N. R. (1998) Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. *J. Bacteriol.*, 180, 4765–4774.

HUGHES, J. B., HELLMANN, J. J., RICKETTS, T. H., BOHANNAN, B. J.M. (2001) Counting the uncountable: statistical approaches to estimating microbial diversity. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 4399–4406.

HYDE KD, HO WH, MCKENZIE EHC, DALISAY T. (2001). Saprobic fungi on bamboo culms. *Fungal Diversity* 7: 35-48.

HYDE, K.D., ZHOU, D.Q., DALISAY, T. (2002) Bambusicolous fungi: A review. *Fungal Diversity*. 9: 1-14.

IHRMARK, K., BÖDEKER, I. T., CRUZ-MARTINEZ, K., FRIBERG, H., KUBARTOVA, A., SCHENCK, J. (2012). New primers to amplify the fungal ITS2 region—evaluation by 454-sequencing of artificial and natural communities. *FEMS Microbiol. Ecol.* 82, 666–677. doi: 10.1111/j.1574-6941.2012.01437.x

IKEDA, S. et al. (2011) Autoregulation of nodulation interferes with impacts of nitrogen fertilization levels on the leaf-associated bacterial community in soybeans. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 1973–1980.

INNEREBNER G, KNIEF C, VORHOLT JA (2011) Protection of *Arabidopsis thaliana* against leaf-pathogenic *Pseudomonas syringae* by *Sphingomonas* strains in a controlled model system. *Appl Environ Microbiol* 77(10):3202–3210.

JIMÉNEZ, V.M., GUEVARA, E. (2007). Micropropagation of bamboo species through axillary shoot proliferation. In (eds): Jain, M., Haggman, H. *Protocols for Micropropagation of Woody Trees and Fruits*, Springer, The Netherlands, 465-467.

KEMBEL, S.W., O'CONNOR, T.K., ARNOLD, H.K., HUBBELL, S.P., JOSEPH WRIGHT, S., GREEN, J.L. (2014) Relationships between phyllosphere bacterial communities and plant functional traits in a neotropical forest. *PNAS*, 111 (38): 13715–13720.

KEROU, M., ALVES, R.J.E., SCHLEPER, C. (2016) *Nitrososphaeria*. In: *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, doi: 10.1002/9781118960608.cbm00055.

KIM J-J, LEE S-S, RA J-B, LEE H, HUH N, KIM G-H. (2011). Fungi associated with bamboo and their decay capabilities. *Holsforschung* 65: 271-275.

KLEEBERGER, A., H. CASTORPH AND W. KLINGMÜLLER. 1983. The rhizosphere microflora of wheat and barley with special reference to gram-negative bacteria. *Arch. Microbiol.* 136: 306–311.

KRUYS Å, ERIKSSON OE, WEDIN M (2006) Phylogenetic relationships of coprophilous Pleosporales (Dothideomycetes, Ascomycota), and the classification of some bitunicate taxa of unknown position. *Mycol Res* 110:527–536.

KUMAR DSS, HYDE KD (2004) Biodiversity and tissue-recurrence of endophytic fungi in *Tripterygium wilfordii*. *Fungal Divers* 17:69–90.

LA SCOLA B, BIRTLES RJ, MALLET MN, RAOULT D (1998) *Massilia timonae* gen. nov., sp. nov., isolated from blood of an immunocompromised patient with cerebellar lesions. *J Clin Microbiol* 36:2847–2852

LEIFERT, C., WOODFORD, S. (1997) Laboratory contamination management: the requirement for microbiological assurance. In ‘*Pathogen and microbial contamination management in micropropagation.*’ (Ed AC Cassells) pp. 237–244. (Kluwer Academic Publishers: Dordrecht)

LI XM, GAO J, YUE YD (2009) Studies on systematics, biology and bioactive substance of *Shiraia bambusicola*. *For Res Beijing* 22: 279–284.

LONDE, L.N., SOUSA, C.S., VIEIRA, C.U., BONETTI, A.M., KERR, W.E. (2007). Efeito do benomyl e identificação de ftopatógenos em meio MS para controle da contaminação na micropropagação de *Anacardium humile* (Anacardiaceae). *Biosci. J.*, 23: 94-100.

MA, B., LV, X., WARREN, A., GONG, J. (2013). Shifts in diversity and community structure of endophytic bacteria and archaea across root, stem and leaf tissues in the common reed, *Phragmites australis*, along a salinity gradient in a marine tidal wetland of northern China. *Antonie van Leeuwenhoek* , 104:759–768 doi 10.1007/s10482-013-9984-3.

MACHADO, D.F.M., PARZIANELLO, F.R., DA SILVA, A.C.F., ANTONIOLLI, Z.I. (2012). Trichoderma no Brasil: o fungo e o bioagente. *Revista de Ciências agrárias*, 35 (1): 274-288.

MARTÍNEZ-CANO C, GREY WE, SANDS DC (1992) First report of *Arthrinium arundinis* causing kernel blight on barley. *Plant Disease* 76: 1077.

MCARDLE, B. H.; ANDERSON, M. J. (2001) Fitting multivariate models to community data: a comment on distance-based redundancy analysis. *Ecology*, v. 82, n. 1, p. 290–297.

MERCADO-BLANCO, J., BAKKER, P. A. H. M. (2007). Interactions between plants and beneficial *Pseudomonas* spp.: exploiting bacterial traits for crop protection. *Antonie Van Leeuwenhoek* 92, 367–389. doi: 10.1007/s10482-007-9167-1.

MICHIELSE, C.B., REP, M. (2009) Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. *Mol. Plant Pathol.* 10, 311–324.

MOHANAM C. (1997). Diseases of Bamboos in Asia. An illustrated manual. *International Network for Bamboo and Rattan - INBAR*. International Development Research Centre. 226p.

MOHANAN C (2002) *Diseases of bamboos in Asia: an illustrated manual*. International Network for Bamboo and Rattan.

MONTEIRO, LCP. (2016) Diversidade microbiana na rizosfera de plantas em competição Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Viçosa.

MORAKOTKARN D, KAWASAKI H, SEKI T. (2007). Molecular diversity of bamboo-associated fungi isolated from Japan. *FEMS Microbiol Lett* 266: 10-19.

MOREL, G., WETMORE, R. H. (1951). Tissue Culture of Monocotyledons. *American Journal of Botany*, 38(2), 138.

MOSTERT L, CROUS PW, GROENEWALD JZ, GAMS W, SUMMERBELL R (2003) Togninia (Calosphaeriales) is confirmed as teleomorph of *Phaeoacremonium* by means of morphology, sexual compatibility, and DNA phylogeny. *Mycologia* 95:646–659.

MOSTERT L, GROENEWALD JZ, SUMMERBELL RC, GAMS W, CROUS PW (2006) Taxonomy and pathology of *Togninia* (Diaporthales) and its *Phaeoacremonium anamorphs*. *Stud Mycol* 54:1–115

MUDOI, K.D., SAIKIA, S.P., BORTHAKUR, M. (2014). Effect of nodal positions, seasonal variations, shoot clump and growth regulators on micropropagation of commercially important bamboo, *Bambusa nutans* Wall. ex. Munro. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 13(19), pp. 1961-1972. doi: 10.5897/AJB2014.13659.

MUDOI, K.D., SAIKIA, S.P., GOSWAMI, A., GOGOI, A., BORA, D., BORTHAKUR, M. (2013). Micropropagation of important bamboos: A review. *African Journal of Biotechnology*, 12(20); 2770-2785.

MÜLLER, H., BERG, C., LANDA, B.B., 3, AUERBACH, A., MOISSE- EICHINGER, C., BERG, G. (2015). Plant genotype-specific archaeal and bacterial endophytes but similar *Bacillus* antagonists colonize Mediterranean olive trees. *Frontiers in microbiology*. doi: 10.3389/fmicb.2015.00138.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissues cultures. *Physiologia Plantarum*, v.15, p. 473-497.

NADHA, H.K., SALWAN·R., KASANA, R.C., ANAND, M., SOOD, A. (2012). Identification and elimination of bacterial contamination during *in vitro* propagation of *Guadua angustifolia* Kunth. *Phcog Mag*, 8:93-7. OKSANEN, J. et al. *vegan: Community Ecology Package*. Traducao. [s.l: s.n.].

OLIVEIRA, MNV, SANTOS, TMA, VALE, HMM, DELVAUX, JC, CORDERO, AP, FERREIRA, AB, MIGUEL, PSB, TÓTOLA, MR, COSTA, MD, MORAES, CA, BORGES, AC. (2013) Endophytic microbial diversity in coffee cherries of *Coffea arabica* from southeastern Brazil. *Can. J. Microbiol.* 59: 221–230 dx.doi.org/10.1139/cjm-2012-0674.

ORNELLAS, T.S., WERNER, D., HOLDERBAUM, D.F., SCHERER, R.F., GUERRA, M.P. (2017). Effects of Vitrofur, BAP and meta-

Topolin in the in vitro culture of *Dendrocalamus asper*. *Acta Hortic.* 1155. ISHS 2017. doi 10.17660/ActaHortic.2017.1155.41.

PARBERRY, D.G. (1967) - Studies on graminicolous species of *Phyllachora* Nke. in Fckl. V. A taxonomic monograph. *Australian Journal of Botany* 15: 271-375

PARTIDA-MARTÍNEZ, L.P., HEIL, M. (2011) The microbe-free plant: Fact or artifact? *Front Plant Sci* 2:100.

PEARCE, CA, REDDELL, P, HYDE, KD. (2000) A member of the *Phyllachora shiraiana* complex (Ascomycota) on *Bambusa arnhemica*: a new record for Australia. *Australasian Plant Pathology*, 29: 205-210.

PERŠOŠ, D. (2013) Factors shaping community structure of endophytic fungi—evidence from the Pinus-Viscum-system. *Fungal Diversity* doi 10.1007/s13225-013-0225-x.

PESTER M, SCHLEPER C, WAGNER M. (2011). The Thaumarchaeota: an emerging view of their phylogeny and ecophysiology. *Curr Opin Microbiol* 14: 300–306.

PETERS, S., KOSCHINSKY, S., SCHWIEGER, F., TEBBE, C. C. (2000) Succession of microbial communities during hot composting as detected by PCR-single-strand-conformation-polymorphism based genetic profiles of small-subunit rRNA genes. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66. 930– 936.

PRUESSE, E., QUAST, C., KNITTEL, K., FUCHS, B. M., LUDWIG, W., PEPLIES, J., (2007). SILVA: a comprehensive online resource for quality checked and aligned ribosomal RNA sequence data compatible with ARB. *Nucleic Acids Res.* 35, 7188–7196. doi: 10.1093/nar/gkm864.

QUIN et al. (2015) *Candidatus Nitrosopumilus*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, Online © 2015 doi: 10.1002/9781118960608.gbm01290.

R CORE TEAM. (2017) *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Traducao. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.



- RAGAZZI A, MORRICA S, CAPRETTI P, DELLAVALLE I, MANCINI F, TURCO E (2001) Endophytic fungi in *Quercus cerris*: isolation frequency in relation to phenological phase, tree health and the organ affected. *Phytopathol Mediterr* 40:165–171
- RAMESH CH (2003) Loculoascomycetes from India. In: Rao GP, Manoharachari C, Bhat DJ (eds) *Frontiers of fungal diversity in india*. International Book Distributing Company, Lucknow, pp 457–479
- RAMÍREZ LA, CASTAÑO SM, LÓPEZ R (2009) Identificación de bacterias que afectan el establecimiento in vitro de segmentos nodales de *Guadua angustifolia* Kunth. *Revista de Investigaciones Universidad del Quindío* 1:151–158.
- RAMOS HP, BRAUN GH, PUPO MT, SAID S. (2010). Antimicrobial activity from endophytic fungi *Arthrimum* state of *Apiospora montagnei* Sacc. and *Papulaspora immerse*. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 53: 629–632.
- RASTOGI, G. *et al.* (2012) Leaf microbiota in an agroecosystem: spatiotemporal variation in bacterial community composition on field-grown lettuce. *ISME J.* 6, 1812–1822
- REED SC, TOWNSEND AR, CLEVELAND CC, NEMERGUT DR. (2010) Microbial community shifts influence patterns in tropical forest nitrogen fixation. *Oecologia* 164 (2): 521–531.
- REVA, O.N., ZAETS, I.E., OVCHARENKO, L.P., KKUKHARENKO, O.E., SHPYLOVA, S.P., PODOLICH, O.V., E DE VERA, J.P., KOZYROVSKA, N.O. (2015). Metabarcoding of the kombucha microbial community grown in different microenvironments. *AMB Expr* (2015) 5:35. doi 10.1186/s13568-015-0124-5.
- ROSSMAN, A.Y., FARR, D.F., CASTLEBURY, L.A. (2007). A review of the phylogeny and biology of the Diaporthales. *Mycoscience*, 48:135–144.
- ROSSMAN, A.Y., SAMUELS, G. J., ROGERSON, C.T., LOWEN, R. (1999). Genera of Bionectriaceae, Hypocreaceae and Nectriaceae (Hypocreales, Ascomycetes). *Stud. Mycol.* 42: 1–248.

SAMUELS GJ, MCKENZIE EHC, BUCHANAN DE. (1981). Ascomycetes of New Zealand 3. Two new species of *Apiospora* and their *Arthrinium* anamorphs on bamboo. *New Zealand Journal of Botany* 19: 137-149.

SANTOS-PÉREZ, G., SANTOS-PÉREZ, U.I. (2009). Identificación y control químico de hongos contaminantes de culturas *in vitro* de bambú (*Guadua angustifolia*, *Bambusa oldhamii* y *Bambusa vulgaris*. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo Facultad De Agrobiología “Presidente Juárez”. (Tesis que como requisito parcial para obtener el título de ingeniero agrónomo con especialidades em parasitología y fitomejoramiento).

SCHLAEPPI, K., BULGARELLI, D. (2015). The Plant Microbiome at Work. *Molecular Plant-Microbe Interactions*: 28,(3): 212–217. doi.org/10.1094/MPMI-10-14-0334-FI.

SESSITSCH et al., (2012). Functional Characteristics of an Endophyte Community Colonizing Rice Roots as Revealed by Metagenomic Analysis. *MPMI* Vol. 25, No. 1, 2012, pp. 28–36. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-08-11-0204>.

SHUKLA, A., SINGH, A., TIWARI, D., AHIRWAR, B.K. (2016). Bambusicolous Fungi: A Reviewed Documentation. *Int. J. Pure App. Biosci.* 4 (2): 304-310, doi.org/10.18782/2320-7051.2268.

SINGH SR, DALAL S, SINGH R, DHAWAN AK, KALIA RK (2012b) Evaluation of genetic fidelity of *in vitro* raised plants of *Dendrocalamus asper* (Schult. & Schult. F.) Backer ex K. Heyne using DNA-based markers. *Acta Physiol Plant*, doi:10.1007/s11738-012-1084-x.

SINGH, S.R., DALAL, S., SINGH, R., DHAWAN, A.K., KALIA, R.K. (2012a). Seasonal influences on *in vitro* bud break in *Dendrocalamus hamiltonii* Arn. ex Munro nodal explants and effect of culture microenvironment on large scale shoot multiplication and plantlet regeneration. *Indian J Plant Physiol*, 17:9–21.

SITARAMAN, R. (2015) *Pseudomonas* spp. as models for plant-microbe interactions. *Frontiers in Plant Science*, 6: 787.

STIEGLMEIER, M.; KLINGL, A.; ALVES, R. J. E.; RITTMANN, S. K. R.; MELCHER, M.; LEISCH, N.; SCHLEPER, C. (2014).

*Nitrososphaera viennensis* gen. nov., sp. nov., an aerobic and mesophilic, ammonia-oxidizing archaeon from soil and a member of the archaeal phylum *Thaumarchaeota*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64:2738-2752.

STUART P DONACHIE, S.P., FOSTER, J.S., BROWN, M.V. (2007) Culture clash: challenging the dogma of microbial diversity. *The ISME Journal*, 1, 97–99; doi:10.1038/ismej.2007.22; published online 10 May 2007.

SUENAGA, H. (2012). Targeted metagenomics: a high-resolution metagenomics approach for specific gene clusters in complex microbial communities. *Environ. Microbiol.* 14, 13–22. doi: 10.1111/j.1462-2920.2011.02438.x.

SUN, L., QIU, F., ZHANG, X., DAI, X., DONG, X., SONG, W. (2008). Endophytic bacterial diversity in rice (*Oryza sativa* L.) roots estimated by 16S rDNA sequence analysis. *Microb. Ecol.* 55(3): 415–424. doi:10.1007/s00248-007-9287-1. PMID:17690836.

SURYANARAYANAN TS. (2012). Fungal endosymbionts of seaweeds. In: *Biology of Marine Fungi* (Raghukumar C, ed.): 53–70. Dordrecht: Springer.

TEDERSOO et al. (2014) Global diversity and geography of soil fungi. *SCIENCE*, 346: 6213.

TEWARI DN (1993) A monograph on bamboo. International book distributors.

THOMAS, P., SWARNA, G.K., ROY, P.K. & PATIL, P. (2008). Identification of culturable and originally non-culturable endophytic bacteria isolated from shoot tip cultures of banana cv. Grand Naine. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 93: 55-63.

TORSVIK, V.; DAAE, F.L.; SANDAA, R.A.; ØVREAS, L. (1998). Novel techniques for analyzing microbial diversity in natural and perturbed environments. *Journal of Biotechnology*, v.64, p.53-62.

TURNER, T.R., JAMES, E.K., POOLE, O.S. (2013). The plant microbiome. *Genome Biology*, 14:209.

VARTOUKIAN SR, PALMER RM, WADE WG (2010) Strategies for culture of “unculturable” bacteria. *FEMS Microbiol Lett* 309:1–7.

VAT et al. (2014) Fungal endophyte b-diversity associated with Myrtaceae species in an Andean Patagonian forest (Argentina) and an Atlantic forest (Brazil). *Fungal Ecology* 8 (2014) 28 – 36.

VAZ-MOREIRA, I., EGAS, C., NUNES, O.C., MANAIA, C.M. (2011). Culture-dependent and culture-independent diversity surveys target different bacteria: a case study in a freshwater sample. *Antonie van Leeuwenhoek*, 100:245–257 doi 10.1007/s10482-011-9583-0.

VOGEL, C., INNEREBNER, G., ZINGG, J., GUDER, J., VORHOLT, J. A. (2012) A forward genetic *in planta* screen for the identification of plant-protective traits of *Sphingomonas* sp. Fr1 against *Pseudomonas syringae* DC3000. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 5529–5535.

VORHOLT, J.A. (2012) Microbial life in the phyllosphere. *Nature Reviews, Microbiology*, 10

WARTON, D. I.; WRIGHT, S. T.; WANG, Y. (2012) Distance-based multivariate analyses confound location and dispersion effects. *Methods Ecol. Evol.*, v. 3, n. 1, p. 89–101.

WESELOWSKI B, NATHOO N, EASTMAN AW, MACDONALD J, YUAN ZC. (2016) Isolation, identification and characterization of *Paenibacillus polymyxa* CR1 with potentials for biopesticide, biofertilization, biomass degradation and biofuel production. *BMC Microbiol.*, 16:244.

WHIPPS, J. M., HAND, P., PINK, D., BENDING, G. D. (2008) Phyllosphere microbiology with special reference to diversity and plant genotype. *J. Appl. Microbiol.* 105, 1744–1755.

YOU, J.; DAS, A.; DOLAN, E. M.; HU, Z. (2009). Ammonia-oxidizing archaea involved in nitrogen removal. *Water research*, 43(7):1801-1807.  
YUAN, ZS, LIU, F.,ZHANG, GF. (2015) Isolation of culturable endophytic bacteria from moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) and 16S

rDNA diversity analysis. *Arch. Biol. Sci., Belgrade*, 67(3), 1001-1008, doi:10.2298/ABS141212063Y.

ZHANG et al. (2012) Pleosporales. *Fungal Diversity* 53:1–221, doi 10.1007/s13225-011-0117-x.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

A contaminação por micro-organismos no estabelecimento *in vitro* de bambus é um problema recorrente na maioria dos trabalhos que visam produção de mudas. O uso de diferentes agentes de assepsia aliados à época do ano pode permitir maiores índices de estabelecimento *in vitro* e tornar a cadeia produtiva do bambu menos dispendiosa. O sequenciamento de nova geração vem se tornando cada dia menos custoso e por isso permite que seja utilizado em grande número de estudos diferenciados, não apenas aqueles que visem inventários de comunidades. Novos protocolos de assepsia poderão ser desenvolvidos à partir do conhecimento gerado, principalmente examinando os melhores resultados obtidos no experimento de estabelecimento *in vitro* (Capítulo I) e utilizando as informações do inventário da microbiota (Capítulo II).

Os dados gerados com a metagenômica ainda podem ser analisados sob outras perspectivas como detalhamento dos táxons fitopatogênicos e/ou promotores de crescimento, táxons raros e táxons específicos de bambu, bem como suas relações filogenéticas e ecológicas. As etapas de agrupamento e identificação taxonômica ainda são desafiadoras e em trabalhos futuros pode-se testar diferentes valores percentuais para essas etapas e comparar os resultados outros bancos de dados abrangentes e confiáveis, buscando a identificação ao nível de espécie. Dentre 1.070 UTOs, grande número não foi identificado ao nível de filo (198 UTOs) e gênero (965) correspondendo à 90,2 % de gêneros que ainda poderão ser identificados, seja por ampliação dos bancos de dados ou descrição de novas espécies.

O conhecimento da microbiota associada ao bambu pode ser utilizado para determinar o papel funcional dos táxons sob a perspectiva da planta *in vivo* e da planta *in vitro*, sabendo-se que os micro-organismos são capazes de alterar seu metabolismo e sua relação com as plantas. Entender se os micro-organismos promotores de crescimento *in vivo* são também contaminantes *in vitro* e/ou podem continuar atuando como promotores de crescimento *in vitro* abrirá novos caminhos para o desenvolvimento de produtos biotecnológicos associados ao bambu.

## APÊNDICE A – ARCHAEA – ABUNDÂNCIA ABSOLUTA DE UTOS

Abundância absoluta de Archaea em amostras de segmentos nodais (NS) e meio de cultura (CM) de *Dendrocalamus asper*.

UTO S	NS 1	NS 2	NS 3	NS 4	NS 5	CM 1	CM 2	CM 3	CM 4	CM 5	Reino; Filo; Classe; Ordem; Família; Gênero
OTU_ 1	98	0	0	0	0	0	2	0	0	182	Archaea; Thaumarchaeota; Nitrososphaeria; Nitrososphaerales; Nitrososphaeraceae
OTU_ 2	0	0	0	0	0	5	43	336	1	1	Archaea; Thaumarchaeota; Nitrososphaeria; Nitrososphaerales; Nitrososphaeraceae
OTU_ 3	62	0	0	0	0	0	50	4	0	316	Archaea; Thaumarchaeota; Nitrososphaeria; Nitrososphaerales; Nitrososphaeraceae
OTU_ 4	0	0	0	0	1	0	0	3	0	336	Archaea; Thaumarchaeota; Nitrososphaeria; Nitrososphaerales; Nitrososphaeraceae; Candidatus Nitrososphaera
OTU_ 5	1	1	0	0	0	0	0	213	0	0	Archaea; Thaumarchaeota; Nitrososphaeria; Nitrososphaerales; Nitrososphaeraceae
OTU_ 6	0	1	0	1	0	0	0	625	0	2	Archaea; Thaumarchaeota; Nitrososphaeria; Nitrososphaerales; Nitrososphaeraceae
OTU_ 7	0	0	0	62	0	0	0	0	0	0	Archaea; Thaumarchaeota; Nitrososphaeria; Nitrosopumilales; Nitrosopumilaceae; Candidatus Nitrosopumilus
OTU_ 8	0	0	0	0	0	0	1	55	0	0	Archaea; Thaumarchaeota; Nitrososphaeria; Nitrososphaerales; Nitrososphaeraceae; Candidatus Nitrososphaera
OTU_ 9	0	0	30	0	0	0	0	0	0	0	Archaea; Thaumarchaeota; Nitrososphaeria; Nitrosopumilales; Nitrosopumilaceae
OTU_ 10	0	0	0	27	0	0	0	0	0	0	Archaea; Thaumarchaeota; Nitrososphaeria
OTU_ 11	22	12	10	0	0	131	1	87	0	2	Archaea; Thaumarchaeota; Nitrososphaeria; Nitrososphaerales; Nitrososphaeraceae
OTU_ 12	0	0	0	0	0	0	0	277	0	1	Archaea; Thaumarchaeota; Nitrososphaeria; Nitrososphaerales; Nitrososphaeraceae

Fonte: a autora

## APÊNDICE B – BACTERIA - ABUNDÂNCIA ABSOLUTA DE UTOS

Abundância absoluta de Bacteria em amostras de segmentos nodais (NS) e meio de cultura (CM) de *Dendrocalamus asper*.

UTOS	NS1	NS2	NS3	NS4	NS5	CM1	CM2	CM3	CM4	CM5	Reino; Filo; Classe; Ordem; Família; Gênero
OTU_1	237	744	265	945	1362	113260	102669	29547	119721	114448	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales; Enterobacteriaceae; Pantoea
OTU_2	36	51	24	270	302	119	6436	936	159	108	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Paenibacillaceae; Paenibacillus
OTU_3	12	21	6	168	144	36	3744	108	54	37	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Paenibacillaceae; Paenibacillus
OTU_4	0	0	1	2348	191	4	5	1	3	4	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Staphylococcaceae; Staphylococcus
OTU_5	2	5	6	71	65	12	740	23	30	15	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Bacillus
OTU_6	10	14	4	19	25	13	480	14	11	12	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Lachnospiraceae; Lachnoclostridium 5
OTU_7	12	27	8	18	23	18	126	77	27	17	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Paenibacillaceae; Paenibacillus
OTU_8	0	0	0	0	0	21	20	12	20	37	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales; Enterobacteriaceae;
OTU_9	54	77	15	11	27	7	20	22	17	10	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Pseudomonadales; Pseudomonadaceae; Pseudomonas
OTU_10	9	16	13	15	26	16	13	171	31	14	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Pseudomonadales; Pseudomonadaceae; Pseudomonas
OTU_11	0	0	0	0	284	0	0	1	0	0	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Lactobacillales; Streptococcaceae; Lactococcus
OTU_12	54	56	27	9	22	3	19	10	2	117	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae; Methylobacterium
OTU_13	52	59	25	9	20	0	1	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; ;
OTU_14	15	24	13	10	134	5	14	6	4	15	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Betaproteobacteriales; Burkholderiaceae; Massilia
OTU_15	17	95	4	7	6	6	8	5	5	8	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae; Sphingomonas
OTU_16	105	13	9	3	24	1	3	0	1	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; Hymenobacteraceae;



OTU_1 7	34	60	25	19	17	3	14	15	11	55	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae; Sphingomonas
OTU_1 8	12	38	14	6	7	2	7	7	1	3	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae; Methylobacterium
OTU_1 9	7	50	11	13	19	6	7	7	7	12	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae; Sphingomonas
OTU_2 0	58	84	7	11	10	6	9	5	6	5	Bacteria; Acidobacteria; Acidobacteriia; Acidobacteriales; Acidobacteriaceae (Subgroup 1);
OTU_2 1	0	0	0	0	147	0	0	0	0	0	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Bacillaceae; Bacillus
OTU_2 2	70	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; Spirosomaceae;
OTU_2 3	0	0	0	0	185	0	0	0	0	0	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Lactobacillales; Leuconostocaceae; Weissella
OTU_2 4	0	0	0	0	86	0	0	0	0	0	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Lactobacillales; Enterococcaceae; Enterococcus
OTU_2 5	7	32	8	8	11	2	9	0	10	7	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Betaproteobacteriales; Burkholderiaceae;
OTU_2 6	0	0	0	0	107	0	0	0	0	0	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Lactobacillales; Leuconostocaceae; Leuconostoc
OTU_2 7	14	24	14	7	3	0	8	2	3	6	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae;
OTU_2 8	11	1	7	5	7	15	5	1	5	5	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Microbacteriaceae; Curtobacterium
OTU_2 9	12	15	17	8	19	2	2	2	0	5	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Kineosporiales; Kineosporiaceae; Kineococcus
OTU_3 0	35	9	1	3	4	3	4	5	3	4	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Acetobacterales; Acetobacteraceae;
OTU_3 1	31	0	0	0	0	0	0	1	0	1	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Chitinophagales; Chitinophagaceae;
OTU_3 2	11	30	1	2	0	0	1	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; Spirosomaceae;
OTU_3 3	52	14	54	11	34	7	6	5	9	4	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Betaproteobacteriales; Burkholderiaceae; Massilia
OTU_3 4	35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; Spirosomaceae;

OTU_3 5	17	14	1	1	2	2	4	5	4	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Acetobacterales; Acetobacteraceae;
OTU_3 6	11	25	1	0	1	1	2	2	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae;
OTU_3 7	18	33	6	8	1	3	6	2	2	4	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae; Sphingomonas
OTU_3 8	6	10	0	0	5	1	1	2	0	1	Bacteria; Proteobacteria; Deltaproteobacteria; Myxococcales; P3OB-42;
OTU_3 9	18	4	2	1	1	0	4	0	5	0	Bacteria; Armatimonadetes; Fimbriimonadia; Fimbriimonadales; ;
OTU_4 0	12	13	2	2	0	3	2	2	0	2	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Pseudonocardiales; Pseudonocardiaceae; Actinomycetospora
OTU_4 1	12	13	17	5	6	0	0	1	0	1	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae; Methylobacterium
OTU_4 2	0	0	13	2	1	1	1	0	0	1	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Paenibacillaceae; Saccharibacillus
OTU_4 3	7	8	1	0	0	2	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; Spirosomaceae;
OTU_4 4	3	12	6	2	1	2	1	2	1	2	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Betaproteobacteriales; Burkholderiaceae; Variovorax
OTU_4 5	9	14	0	0	1	0	2	0	0	0	Bacteria; FBP
OTU_4 6	0	5	3	3	0	0	0	2	0	0	Bacteria; Deinococcus-Thermus; Deinococci; Deinococcales; Deinococcaceae;
OTU_4 7	4	1	1	1	4	0	2	1	1	2	Bacteria; Proteobacteria; Deltaproteobacteria; Myxococcales; P3OB-42;
OTU_4 8	7	6	0	0	1	1	2	0	1	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Acetobacterales; Acetobacteraceae; Roseomonas
OTU_4 9	0	0	19	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Deltaproteobacteria; Desulfuromonadales; Geobacteraceae; Geobacter
OTU_5 0	0	6	1	1	2	0	2	0	0	1	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Acetobacterales; Acetobacteraceae;
OTU_5 1	0	7	0	0	0	0	1	0	0	1	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Azospirillales; Inquilinaceae;
OTU_5 2	12	8	6	1	7	1	2	1	1	1	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Microbacteriaceae; Frigoribacterium

OTU_5 3	8	28	2	4	1	1	2	1	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae; Sphingomonas
OTU_5 4	8	1	10	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; Spirosomaceae;
OTU_5 5	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; ;
OTU_5 6	4	2	1	0	2	2	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Rhizobiaceae;
OTU_5 7	5	0	0	0	0	0	0	0	0	1	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Chitinophagales; Chitinophagaceae;
OTU_5 8	8	1	0	0	1	2	1	1	1	0	Bacteria; Acidobacteria; Acidobacteriia; Acidobacteriales; Acidobacteriaceae (Subgroup 1); Granulicella
OTU_5 9	3	1	0	0	1	1	4	0	0	2	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae;
OTU_6 0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; Hymenobacteraceae;
OTU_6 1	33	14	24	8	3	0	1	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; Hymenobacteraceae;
OTU_6 2	3	0	0	0	1	0	0	0	2	1	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Labraceae; Labrys
OTU_6 3	0	1	8	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Rhizobiaceae; Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium
OTU_6 4	0	0	0	7	1	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhodobacterales; Rhodobacteraceae; Paracoccus
OTU_6 5	6	8	5	5	2	0	0	0	1	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; Hymenobacteraceae;
OTU_6 6	0	2	3	1	0	0	1	1	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Rhizobiaceae;
OTU_6 7	2	4	0	0	2	0	1	0	1	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae; Methylosinus
OTU_6 8	8	4	1	0	0	0	1	1	1	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae; Sphingomonas
OTU_6 9	2	7	0	0	0	1	0	0	0	0	Bacteria; Acidobacteria; Acidobacteriia; Acidobacteriales; Acidobacteriaceae (Subgroup 1); Bryocella

OTU_7 0	0	1	0	0	1	2	0	0	0	1	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; ; ;
OTU_7 1	3	0	0	0	0	0	1	0	0	0	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Lactobacillales; Carnobacteriaceae;
OTU_7 2	6	1	0	1	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Sphingobacteriales; Sphingobacteriaceae; Mucilaginibacter
OTU_7 3	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Corynebacteriales; Corynebacteriaceae; Corynebacterium 1
OTU_7 4	0	0	0	2	10	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Pseudomonadales; Moraxellaceae; Acinetobacter
OTU_7 5	2	2	1	0	0	0	0	0	1	0	Bacteria; Planctomycetes; Planctomycetacia; Isosphaerales; Isosphaeraceae;
OTU_7 6	0	3	0	2	0	0	0	0	0	1	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Xanthomonadales; Xanthomonadaceae; Stenotrophomonas
OTU_7 7	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae; Sphingobium
OTU_7 8	2	0	0	0	1	2	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Flavobacteriales; Flavobacteriaceae; [Polaribacter] huanghezhanensis
OTU_7 9	0	0	0	0	5	0	0	0	0	1	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Lactobacillales; Streptococcaceae; Streptococcus
OTU_8 0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Acetobacterales; Acetobacteraceae;
OTU_8 1	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; ; ; ;
OTU_8 2	2	4	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Sphingobacteriales; Sphingobacteriaceae;
OTU_8 3	1	2	2	0	1	0	0	0	0	0	Bacteria; Cyanobacteria; Oxyphotobacteria; ; ;
OTU_8 4	3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	Bacteria; ; ; ;
OTU_8 5	6	1	0	0	0	0	3	0	0	0	Bacteria; Acidobacteria; Acidobacteriia; Acidobacteriales; Acidobacteriaceae (Subgroup 1); Granulicella
OTU_8 6	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; ;
OTU_8 7	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Propionibacteriales; Nocardioidaceae;

OTU_8 8	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Lactobacillales; Lactobacillaceae; Lactobacillus
OTU_8 9	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Thermoleophilia; Solirubrobacterales; Solirubrobacteraceae;
OTU_9 0	2	2	0	0	0	1	1	0	0	0	Bacteria; ; ; ;
OTU_9 1	0	0	0	1	2	9	66	3	6	5	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales; Enterobacteriaceae;
OTU_9 2	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Propionibacteriales; Nocardioideae; Nocardioideis
OTU_9 3	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Micromonosporales; Micromonosporaceae;
OTU_9 4	0	1	1	0	2	0	1	0	0	1	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Propionibacteriales; Nocardioideae;
OTU_9 5	1	2	0	0	0	0	0	1	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Acetobacterales; Acetobacteraceae;
OTU_9 6	8	13	2	0	0	0	3	0	0	2	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae;
OTU_9 7	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae;
OTU_9 8	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Frankiales; Frankiaceae; Jatrophihabitans
OTU_9 9	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Betaproteobacteriales; Neisseriaceae;
OTU_1 00	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae;
OTU_1 01	42	83	43	149	254	2353	2597	84154	2112	2431	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; ; ;
OTU_1 02	4	0	0	0	2	1	0	0	0	1	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Kineosporiales; Kineosporiaceae; Kineosporia
OTU_1 03	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae;
OTU_1 04	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae;
OTU_1 05	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Devosiaceae;
OTU_1 06	2	2	0	1	0	0	2	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Frankiales; Frankiaceae; Jatrophihabitans

OTU_1 07	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhodobacterales; Rhodobacteraceae; Nautella
OTU_1 08	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Paenibacillaceae;
OTU_1 09	13	7	1	1	3	2	5	3	3	1	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Betaproteobacteriales; Burkholderiaceae;
OTU_1 10	20	31	13	33	30	848	698	162	493	784	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales; Enterobacteriaceae; Pantoea
OTU_1 11	0	1	2	4	6	201	211	96	370	269	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales; Enterobacteriaceae;
OTU_1 12	1	0	0	0	0	0	0	2	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Caulobacterales; Caulobacteraceae;
OTU_1 13	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Kineosporiales; Kineosporiaceae; Quadrisphaera
OTU_1 14	2	2	0	0	0	0	1	0	1	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Acetobacteriales; Acetobacteraceae;
OTU_1 15	2	0	0	0	1	0	1	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Corynebacteriales; Corynebacteriaceae; Corynebacterium 1
OTU_1 16	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Beutenbergiaceae;
OTU_1 17	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Caulobacterales; Caulobacteraceae; Brevundimonas
OTU_1 18	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Chitinophagales; Chitinophagaceae; Flavitalea
OTU_1 19	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Planococcaceae; Kurthia
OTU_1 20	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae; Methylobacterium
OTU_1 21	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; ; ;
OTU_1 22	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Spirochaetes; Spirochaetia; Spirochaetales; Spirochaetaceae; Sphaerochaeta
OTU_1 23	366	276	768	388	201	84099	69406	39366	110092	88603	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales; Enterobacteriaceae; Pantoea
OTU_1 24	38	21	33	13	11	76	9451	655	89	68	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Paenibacillaceae; Paenibacillus
OTU_1 25	518	915	417	356	220	200	276	3230	169	218	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Pseudomonadales; Pseudomonadaceae; Pseudomonas

<b>OTU_1 26</b>	15	10	14	5	3	26	4998	47	37	35	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Paenibacillaceae; Paenibacillus
<b>OTU_1 27</b>	799	35	531	160	58	19	29	15	21	16	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Betaproteobacteriales; Burkholderiaceae; Massilia
<b>OTU_1 28</b>	186	209	216	147	37	116	416	174	135	100	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Paenibacillaceae; Paenibacillus
<b>OTU_1 29</b>	1407	37	76	70	26	0	3	0	1	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; Hymenobacteraceae;
<b>OTU_1 30</b>	939	70	90	26	32	12	31	21	22	19	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Pseudomonadales; Pseudomonadaceae; Pseudomonas
<b>OTU_1 31</b>	438	128	242	81	85	0	1	1	0	1	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; ;
<b>OTU_1 32</b>	2	2	1	2	0	7	683	10	10	9	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Bacillaceae; Bacillus
<b>OTU_1 33</b>	3	0	0	0	0	2	492	5	4	1	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Lachnospiraceae; Lachnoclostridium 5
<b>OTU_1 34</b>	490	69	80	28	10	0	38	5	3	13	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae; Methylobacterium
<b>OTU_1 35</b>	256	49	203	126	53	7	18	21	10	117	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae; Sphingomonas
<b>OTU_1 36</b>	294	45	368	64	6	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; Hymenobacteraceae;
<b>OTU_1 37</b>	129	72	74	11	4	0	2	2	1	1	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae; Methylobacterium
<b>OTU_1 38</b>	307	0	0	1	0	0	0	0	0	1	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; Spirosomaceae;
<b>OTU_1 39</b>	3	0	3	0	1	3	23	5	213	6	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; ;
<b>OTU_1 40</b>	126	47	110	51	3	1	2	1	4	1	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae;
<b>OTU_1 41</b>	260	59	16	2	1	1	3	1	0	1	Bacteria; Acidobacteria; Acidobacteriia; Acidobacteriales; Acidobacteriaceae (Subgroup 1);
<b>OTU_1 42</b>	121	42	83	31	8	2	4	2	3	5	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae; Sphingomonas
<b>OTU_1 43</b>	143	7	38	3	1	2	5	0	2	1	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Rhizobiaceae;

OTU_1 44	55	33	50	20	4	0	1	0	0	0	Bacteria; Deinococcus-Thermus; Deinococci; Deinococcales; Deinococcaceae;
OTU_1 45	159	0	2	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Chitinophagales; Chitinophagaceae;
OTU_1 46	30	30	81	2	15	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; Hymenobacteraceae;
OTU_1 47	110	21	81	48	13	33	8	4	4	3	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Microbacteriaceae; Curtobacterium
OTU_1 48	169	67	8	9	2	0	6	2	1	3	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae; Sphingomonas
OTU_1 49	96	14	2	0	0	0	0	0	1	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Acetobacterales; Acetobacteraceae;
OTU_1 50	103	27	30	13	4	0	0	0	0	1	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; Hymenobacteraceae;
OTU_1 51	99	0	1	0	1	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; Spirosomaceae;
OTU_1 52	64	8	22	3	3	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Frankiales; Geodermatophilaceae; Geodermatophilus
OTU_1 53	204	23	8	2	0	1	1	0	0	1	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae;
OTU_1 54	48	20	54	6	3	0	2	5	1	2	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Betaproteobacteriales; Burkholderiaceae;
OTU_1 55	80	0	0	0	1	0	1	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Devosiaceae; Devosia
OTU_1 56	458	86	71	44	8	7	7	3	2	1	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae; Sphingomonas
OTU_1 57	109	2	7	3	2	2	2	1	0	1	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Betaproteobacteriales; Burkholderiaceae;
OTU_1 58	8	42	2	11	31	0	0	2	1	1	Bacteria; Proteobacteria; Deltaproteobacteria; Myxococcales; P3OB-42;
OTU_1 59	44	6	53	40	4	0	1	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae; Methylobacterium
OTU_1 60	62	3	96	5	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; Spirosomaceae; Spirosoma
OTU_1 61	67	13	4	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; Spirosomaceae;



OTU_1 62	0	96	3	0	17	2	4	0	1	1	Bacteria; Proteobacteria; Deltaproteobacteria; Myxococcales; P3OB-42;
OTU_1 63	0	0	55	3	0	1	1	1	0	0	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Paenibacillaceae;
OTU_1 64	65	6	12	0	0	0	1	1	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Pseudonocardiales; Pseudonocardaceae; Actinomycetozoa
OTU_1 65	85	27	9	4	0	1	0	1	1	1	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae;
OTU_1 66	0	0	55	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; ; ;
OTU_1 67	13	1	2	37	0	3	5	2	6	0	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Pseudomonadales; Moraxellaceae; Acinetobacter
OTU_1 68	1	21	0	0	7	591	360	61	565	490	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales; Enterobacteriaceae; Pantoea
OTU_1 69	48	11	4	1	1	1	1	1	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae; Sphingomonas
OTU_1 70	38	0	1	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Acetobacterales; Acetobacteraceae;
OTU_1 71	42	10	6	2	0	0	0	0	0	1	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Acetobacterales; Acetobacteraceae;
OTU_1 72	38	1	3	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Chitinophagales; Chitinophagaceae; Flavitalea
OTU_1 73	16	1	33	20	6	2	0	1	1	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Kineosporiales; Kineosporiaceae; Kineococcus
OTU_1 74	36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; Hymenobacteraceae;
OTU_1 75	20	0	18	0	0	0	0	0	1	1	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Rhizobiaceae;
OTU_1 76	33	7	4	0	1	0	1	0	0	2	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; ;
OTU_1 77	66	1	0	0	0	0	1	0	0	0	Bacteria; Acidobacteria; Acidobacteriia; Acidobacteriales; Acidobacteriaceae (Subgroup 1); Granulicella
OTU_1 78	23	11	0	0	6	1	6	0	0	3	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae; Methylobacterium
OTU_1 79	49	7	10	15	2	1	0	0	1	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Acetobacterales; Acetobacteraceae;

OTU_1 80	6	0	1	4	13	3	1	0	0	0	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; ;
OTU_1 81	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Corynebacteriales; Corynebacteriaceae; Corynebacterium 1
OTU_1 82	41	3	2	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Sphingobacteriales; Sphingobacteriaceae;
OTU_1 83	26	1	1	0	0	1	1	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Acetobacterales; Acetobacteraceae;
OTU_1 84	23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Corynebacteriales; Corynebacteriaceae; Corynebacterium 1
OTU_1 85	24	4	3	0	0	0	0	1	0	1	Bacteria; Acidobacteria; Acidobacteriia; Acidobacteriales; Acidobacteriaceae (Subgroup 1);
OTU_1 86	20	11	0	1	1	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae;
OTU_1 87	28	0	3	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Chitinophagales; Chitinophagaceae;
OTU_1 88	31	22	31	16	26	330	456	86367	347	420	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; ; ;
OTU_1 89	1	0	0	0	0	1	1	0	0	20	Bacteria; Tenericutes; Mollicutes; Achleplasmatales; ;
OTU_1 90	0	0	24	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Deltaproteobacteria; Myxococcales; P3OB-42;
OTU_1 91	30	2	1	0	0	0	0	1	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae;
OTU_1 92	10	18	5	1	0	0	3	1	2	0	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Pseudomonadales; Moraxellaceae; Acinetobacter
OTU_1 93	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Caulobacterales; Caulobacteraceae;
OTU_1 94	33	9	14	1	2	1	1	1	1	0	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Betaproteobacteriales; Burkholderiaceae; Variovorax
OTU_1 95	14	0	2	0	0	0	1	0	3	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Labraceae; Labrys
OTU_1 96	11	0	6	5	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae; Sphingomonas
OTU_1 97	19	1	5	0	0	1	0	1	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Acetobacterales; Acetobacteraceae; Roseomonas

OTU_1 98	7	6	3	1	0	1	0	0	0	1	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Frankiales; Frankiaceae; Jatrophihabitans
OTU_1 99	1	0	16	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; ; ;
OTU_2 00	1	0	0	0	16	0	1	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; ; ; ;
OTU_2 01	26	2	3	1	0	0	1	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae; Methylobacterium
OTU_2 02	18	3	0	1	3	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Deltaproteobacteria; Myxococcales; P3OB-42;
OTU_2 03	0	14	0	0	0	0	0	0	1	1	Bacteria; Proteobacteria; Deltaproteobacteria; Myxococcales; P3OB-42;
OTU_2 04	12	1	0	0	0	0	1	0	0	1	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Lactobacillales; Carnobacteriaceae;
OTU_2 05	0	0	14	0	0	1	1	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; ; ;
OTU_2 06	64	4	3	1	1	0	2	0	0	1	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae; Methylocystis
OTU_2 07	6	0	0	0	0	3	6	2	3	5	Bacteria; Proteobacteria; Deltaproteobacteria; Desulfovibrionales; Desulfovibrionaceae;
OTU_2 08	3	4	4	3	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae;
OTU_2 09	14	0	1	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Chitinophagales; Chitinophagaceae;
OTU_2 10	4	19	10	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; Spirosomaceae;
OTU_2 11	0	0	0	0	0	4	6	1	3	4	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Ruminococcaceae;
OTU_2 12	6	4	12	0	0	0	0	0	1	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Rhizobiaceae; Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium
OTU_2 13	0	1	0	0	0	1	0	5	4	3	Bacteria; Proteobacteria; Deltaproteobacteria; Desulfovibrionales; Desulfovibrionaceae; Desulfovibrio
OTU_2 14	13	6	1	1	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; ;
OTU_2 15	11	3	0	0	0	1	0	0	0	0	Bacteria; FBP; ; ; ;

OTU_2 16	16	0	1	1	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Acidobacteria; Acidobacteriia; Acidobacteriales; Acidobacteriaceae (Subgroup 1); Edaphobacter
OTU_2 17	21	3	22	7	3	0	2	1	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Microbacteriaceae;
OTU_2 18	2	1	1	0	1	4	3	1	2	0	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Ruminococcaceae; Ruminococcaceae UCG-014
OTU_2 19	15	5	1	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae;
OTU_2 20	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Sphingobacteriales; Sphingobacteriaceae;
OTU_2 21	6	1	3	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Propionibacteriales; Nocardiodaceae;
OTU_2 22	3	0	0	1	4	0	0	0	0	3	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Corynebacteriales; Corynebacteriaceae; Corynebacterium 1
OTU_2 23	19	2	1	1	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Deltaproteobacteria; Oligoflexales; 0319-6G20;
OTU_2 24	0	0	15	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Coxiellales; Coxiellaceae;
OTU_2 25	16	5	4	9	1	0	1	4	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Betaproteobacteriales; Burkholderiaceae; Massilia
OTU_2 26	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Thermoleophila; Solirubrobacteriales; Solirubrobacteraceae;
OTU_2 27	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; ;
OTU_2 28	0	1	0	1	0	0	3	3	1	4	Bacteria; Verrucomicrobia; Verrucomicrobiae; Verrucomicrobiales; Akkermansiaceae; Akkermansia
OTU_2 29	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Acetobacteriales; Acetobacteraceae;
OTU_2 30	0	0	0	1	0	2	0	7	0	1	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Bacteroidales; Muribaculaceae;
OTU_2 31	0	0	12	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Diplorickettsiales; ;
OTU_2 32	0	0	8	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; ; ;
OTU_2 33	19	4	1	0	0	1	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae;

OTU_2 34	2	1	1	0	1	1	0	4	1	1	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Bacteroidales; Muribaculaceae;
OTU_2 35	5	0	0	0	0	0	2	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Acetobacterales; Acetobacteraceae;
OTU_2 36	0	0	0	0	4	0	1	3	1	8	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Pseudomonadales; Moraxellaceae; Psychrobacter
OTU_2 37	4	0	0	0	2	0	0	0	0	1	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Lactobacillales; Streptococcaceae; Streptococcus
OTU_2 38	0	0	6	0	1	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Deltaproteobacteria; Oligoflexales; 0319-6G20;
OTU_2 39	13	1	2	0	2	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Propionibacteriales; Nocardioideae; Marmoricola
OTU_2 40	119	18	25	39	6	2	2	2	3	1	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae; Sphingomonas
OTU_2 41	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Propionibacteriales; Nocardioideae; Nocardioides
OTU_2 42	12	0	6	0	1	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; Hymenobacteraceae;
OTU_2 43	0	0	1	0	0	0	1	5	0	1	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Bacteroidales; Muribaculaceae;
OTU_2 44	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae;
OTU_2 45	1	0	5	1	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Acidimicrobia; Microtrichales; ;
OTU_2 46	0	0	0	0	0	0	1	1	4	0	Bacteria; Gemmatimonadetes; S0134 terrestrial group; ;
OTU_2 47	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Family XI; Peptoniphilus
OTU_2 48	18	1	0	2	1	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae; Sphingomonas
OTU_2 49	1	8	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Verrucomicrobia; Verrucomicrobiae; Chthoniobacteriales; ;
OTU_2 50	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Armatimonadetes; Armatimonadia; Armatimonadales; ;
OTU_2 51	2	1	0	0	1	67	72	10	47	65	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales; Enterobacteriaceae;

OTU_2 52	8	1	1	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Frankiales; ;
OTU_2 53	7	0	0	0	1	0	0	0	0	0	Bacteria; Acidobacteria; Acidobacteriia; Acidobacteriales; Acidobacteriaceae (Subgroup 1);
OTU_2 54	0	0	6	0	0	0	0	0	1	0	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Lactobacillales; Lactobacillaceae; Lactobacillus
OTU_2 55	53	1	32	15	64	3	6	7	2	4	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Betaproteobacteriales; Burkholderiaceae; Massilia
OTU_2 56	1	0	0	0	0	0	4	0	0	2	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Lachnospiraceae;
OTU_2 57	2	0	0	0	0	0	0	1	1	2	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Clostridiales vadinBB60 group;
OTU_2 58	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Acidobacteria; Acidobacteriia; Acidobacteriales; Acidobacteriaceae (Subgroup 1);
OTU_2 59	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; Spirosomaceae;
OTU_2 60	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	Bacteria; Acidobacteria; Subgroup 6; ; ;
OTU_2 61	0	2	4	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Intrasporangiaceae; Lapillicoccus
OTU_2 62	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Corynebacteriales; Mycobacteriaceae; Mycobacterium
OTU_2 63	0	0	5	0	1	0	0	1	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Kineosporiales; Kineosporiaceae;
OTU_2 64	0	0	0	0	0	26	14	9	50	26	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales; Enterobacteriaceae;
OTU_2 65	10	0	0	0	0	0	1	0	0	0	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Lactobacillales; Carnobacteriaceae;
OTU_2 66	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; Spirosomaceae;
OTU_2 67	3	28	41	5	100	9	12	9	11	2	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Pseudomonadales; Pseudomonadaceae; Pseudomonas
OTU_2 68	4	3	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Deinococcus-Thermus; Deinococci; Deinococcales; Deinococcaceae;
OTU_2 69	6	0	1	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Propionibacteriales; Nocardioideaceae;
OTU_2 70	0	8	1	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Deltaproteobacteria; Myxococcales; P3OB-42;

OTU_2 71	0	2	0	1	0	68	32	17	137	65	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales; Enterobacteriaceae;
OTU_2 72	1	1	0	0	1	1	0	1	0	2	Bacteria; Firmicutes; Erysipelotrichia; Erysipelotrichales; ;
OTU_2 73	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Chitinophagales; Chitinophagaceae;
OTU_2 74	1	0	0	0	0	1	1	3	0	2	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Ruminococcaceae;
OTU_2 75	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Xanthobacteraceae; Rhodopseudomonas
OTU_2 76	8	2	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae;
OTU_2 77	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae; Bosea
OTU_2 78	1	4	23	61	257	7	17	13	17	7	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Pseudomonadales; Pseudomonadaceae; Pseudomonas
OTU_2 79	0	0	0	0	0	0	2	1	0	2	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Ruminococcaceae;
OTU_2 80	0	0	0	0	0	0	3	1	1	4	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Lachnospiraceae;
OTU_2 81	4	0	1	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; Spirosomaceae;
OTU_2 82	8	2	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Acidobacteria; Acidobacteriia; Acidobacteriales; Acidobacteriaceae (Subgroup 1);
OTU_2 83	5	0	0	0	0	0	0	1	0	1	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Sphingobacteriales; Sphingobacteriaceae; Sphingobacterium
OTU_2 84	0	5	1	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Xanthomonadales; Xanthomonadaceae; Stenotrophomonas
OTU_2 85	3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Armatimonadetes; Fimbriimonadia; Fimbriimonadales; ;
OTU_2 86	6	79	20	42	25	0	0	0	0	0	Bacteria; ; ; ;
OTU_2 87	0	0	0	0	0	0	0	5	1	0	Bacteria; Acidobacteria; Acidobacteriia; Acidobacteriales; ;
OTU_2 88	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae;
OTU_2 89	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; ; ; ;

OTU_2 90	0	0	0	0	0	0	2	1	2	1	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Ruminococcaceae;
OTU_2 91	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Sanguibacteraceae; Sanguibacter
OTU_2 92	16	0	3	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Frankiales; Frankiaceae; Jatrophihabitans
OTU_2 93	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Ruminococcaceae; Subdoligranulum
OTU_2 94	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Bacteroidales; Marinifilaceae;
OTU_2 95	5	15	77	113	19	2	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; Hymenobacteraceae;
OTU_2 96	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Deltaproteobacteria; Myxococcales; Phaselicytidaceae;
OTU_2 97	0	2	0	0	0	95	49	22	154	80	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales; Enterobacteriaceae;
OTU_2 98	0	0	0	0	0	0	1	2	0	1	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Bacteroidales; Rikenellaceae; Alistipes
OTU_2 99	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Bacteroidales; Marinilabiliaceae;
OTU_3 00	1	0	0	0	0	2	1	2	1	2	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Ruminococcaceae; Ruminiclostridium 9
OTU_3 01	9	0	1	0	1	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Sphingobacteriales; Sphingobacteriaceae;
OTU_3 02	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Cyanobacteria; Oxyphotobacteria; ;
OTU_3 03	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Sphingobacteriales; Sphingobacteriaceae; Pedobacter
OTU_3 04	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Armatimonadetes; Armatimonadia; Armatimonadales; ;
OTU_3 05	0	0	0	0	5	0	0	1	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Acetobacterales; Acetobacteraceae; Gluconacetobacter
OTU_3 06	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Lactobacillales; Lactobacillaceae; Lactobacillus
OTU_3 07	2	0	0	0	0	0	0	1	0	1	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Betaproteobacteriales; Burkholderiaceae;
OTU_3 08	0	0	0	0	0	1	3	4	1	3	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales; Enterobacteriaceae;



OTU_3 09	3	5	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae;
OTU_3 10	0	0	0	0	0	2	0	1	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Bacteroidales; Muribaculaceae;
OTU_3 11	0	0	0	0	0	0	0	3	3	0	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Steroidobacteriales; Steroidobacteraceae;
OTU_3 12	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae;
OTU_3 13	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Family XI;
OTU_3 14	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Thermoleophila; ; ;
OTU_3 15	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Betaproteobacteriales; Methylophilaceae; Methylophilus
OTU_3 16	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Pseudomonadales; Moraxellaceae;
OTU_3 17	2	0	0	0	0	0	0	0	0	4	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Lactobacillales; Enterococcaceae; Enterococcus
OTU_3 18	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae; Sphingobium
OTU_3 19	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; ; ;
OTU_3 20	3	0	0	0	0	0	0	1	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Sphingomonadales; Sphingomonadaceae;
OTU_3 21	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Bacteroidales; Muribaculaceae;
OTU_3 22	0	0	0	0	0	0	1	2	1	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Bacteroidales; Muribaculaceae;
OTU_3 23	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rickettsiales; ;
OTU_3 24	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Thermoleophila; Solirubrobacteriales; Solirubrobacteraceae;
OTU_3 25	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	Bacteria; Proteobacteria; Deltaproteobacteria; Myxococcales; Haliangiaceae;
OTU_3 26	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Propionibacteriales; Nocardioideae; Nocardioideis
OTU_3 27	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Family XIII;

OTU_3 28	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Bacteroidales; Muribaculaceae;
OTU_3 29	0	0	0	2	0	1	2	1	1	1	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Ruminococcaceae; [Eubacterium] coprostanoligenes group
OTU_3 30	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Caulobacterales; Caulobacteraceae;
OTU_3 31	3	1	2	1	0	238	163	72	354	246	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales; Enterobacteriaceae;
OTU_3 32	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Armatimonadetes; Fimbriimonadia; Fimbriimonadales; ;
OTU_3 33	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; ;
OTU_3 34	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Lachnospiraceae;
OTU_3 35	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Cyanobacteria; Oxyphotobacteria; ; ;
OTU_3 36	4	0	1	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Staphylococcaceae; Staphylococcus
OTU_3 37	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Paracaedibacterales; Paracaedibacteraceae; Candidatus Paracaedibacter
OTU_3 38	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Bacteroidales; ;
OTU_3 39	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales; ;
OTU_3 40	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Acetobacterales; Acetobacteraceae;
OTU_3 41	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Family XI;
OTU_3 42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Lachnospiraceae;
OTU_3 43	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; ; ;
OTU_3 44	0	0	0	2	0	0	1	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Pseudomonadales; Moraxellaceae; Enhydrobacter
OTU_3 45	0	1	2	1	0	2	3	0	1	1	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Ruminococcaceae; Oscillibacter

OTU_3 46	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Sphingobacteriales; Sphingobacteriaceae; Sphingobacterium
OTU_3 47	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Thermoleophila; Solirubrobacteriales; 67-14;
OTU_3 48	1	0	2	1	0	272	144	76	492	251	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales; Enterobacteriaceae;
OTU_3 49	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Deltaproteobacteria; Myxococcales; P3OB-42;
OTU_3 50	0	0	2	0	0	0	0	2	1	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Bacteroidales; Muribaculaceae;
OTU_3 51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	Bacteria; Verrucomicrobia; Verrucomicrobiae; Pedosphaerales; Pedosphaeraceae;
OTU_3 52	0	0	0	1	0	0	1	2	1	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Bacteroidales; Muribaculaceae;
OTU_3 53	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Lachnospiraceae;
OTU_3 54	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	Bacteria; Verrucomicrobia; Verrucomicrobiae; Chthoniobacteriales; Chthoniobacteraceae;
OTU_3 55	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Deltaproteobacteria; Myxococcales; ;
OTU_3 56	41	24	31	14	1	0	1	0	0	3	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae;
OTU_3 57	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	Bacteria; Verrucomicrobia; Verrucomicrobiae; Pedosphaerales; Pedosphaeraceae;
OTU_3 58	163	1020	293	101	709	62349	53124	4702	26329	48249	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales; Enterobacteriaceae;
OTU_3 59	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	Bacteria; Acidobacteria; Subgroup 17; ; ;
OTU_3 60	0	1	0	1	0	29	9	6	56	31	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales; Enterobacteriaceae;
OTU_3 61	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Kineosporiales; Kineosporiaceae; Quadrisphaera
OTU_3 62	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Kineosporiales; Kineosporiaceae; Kineosporia
OTU_3 63	0	0	2	1	1	0	0	1	0	1	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Bacteroidales; Muribaculaceae;
OTU_3 64	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	Bacteria; Firmicutes; Erysipelotrichia; Erysipelotrichales; Erysipelotrichaceae; Erysipelatoclostridium

OTU_3 65	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Staphylococcaceae; Salinicoccus
OTU_3 66	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Armatimonadetes; Armatimonadia; Armatimonadales; ;
OTU_3 67	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Microbacteriaceae;
OTU_3 68	0	0	2	0	0	0	0	0	1	1	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Devosiaceae; Devosia
OTU_3 69	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Acetobacterales; Acetobacteraceae;
OTU_3 70	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Bacteroidales; Muribaculaceae;
OTU_3 71	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Deltaproteobacteria; Oligoflexales; ;
OTU_3 72	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Acidobacteria; Acidobacteriia; Acidobacteriales; Acidobacteriaceae (Subgroup 1);
OTU_3 73	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Bacteroidales; Muribaculaceae;
OTU_3 74	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Bacteroidales; Muribaculaceae;
OTU_3 75	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Rhizobiaceae; Aquamicrobium
OTU_3 76	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Bacteroidales; Muribaculaceae;
OTU_3 77	7	0	0	0	1	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Acidimicrobiia; Microtrichales; ;
OTU_3 78	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; Hymenobacteraceae;
OTU_3 79	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Cytophagales; ;
OTU_3 80	0	1	0	0	0	16	17	5	18	19	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales; Enterobacteriaceae;
OTU_3 81	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Beijerinckiaceae;
OTU_3 82	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	Bacteria; Proteobacteria; Deltaproteobacteria; Myxococcales; P3OB-42;
OTU_3 83	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; ; ; ;

<b>OTU_3 84</b>	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Thermoleophilia; Solirubrobacterales; 67-14;
<b>OTU_3 85</b>	54	210	394	1411	366	35	62	70	200	39	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Pseudomonadales; Pseudomonadaceae; Pseudomonas
<b>OTU_3 86</b>	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Streptomycetales; Streptomycetaceae;
<b>OTU_3 87</b>	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Proteobacteria; ; ;
<b>OTU_3 88</b>	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Micrococcaceae; Micrococcus
<b>OTU_3 89</b>	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	Bacteria; Acidobacteria; Subgroup 17; ; ;
<b>OTU_3 90</b>	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	Bacteria; Chloroflexi; Chloroflexia; Kallotenuales; ;
<b>OTU_3 91</b>	3	0	0	0	0	0	0	0	0	2	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhodobacterales; Rhodobacteraceae; Paracoccus

Fonte: a autora

## APÊNDICE C – BACTERIA – ABUNDÂNCIA RELATIVA DE UTOS

Tabela 5. Abundância relativa de Bacteria ao nível de filo em amostras de segmentos nodais (NS) e meio de cultura (CM) de *Dendrocalamus asper*.

Filos	NS1	NS2	NS3	NS4	NS5	Média	Desv Pad.	CM1	CM2	CM3	CM4	CM5	Média	Desv Pad.
Não classificados	0,1300	1,3179	0,3229	0,5262	0,4010	0,5396	0,4582	0,0004	0,0004	-	0,0004	-	0,0002	0,0002
Acidobacteria	3,7446	2,5405	0,4682	0,1879	0,2406	1,4364	1,6181	0,0038	0,0066	0,0052	0,0076	0,0027	0,0052	0,0020
Actinobacteria	4,1264	1,5243	3,9070	1,2528	1,1550	2,3931	1,4903	0,0218	0,0116	0,0072	0,0046	0,0089	0,0108	0,0067
Armatimonadetes	0,2681	0,0635	0,0646	0,0125	0,0160	0,0849	0,1054	-	0,0015	-	0,0019	-	0,0007	0,0010
Bacteroidetes	29,4290	7,4627	18,5502	4,7858	3,3686	12,7193	11,0817	0,0045	0,0070	0,0144	0,0034	0,0050	0,0069	0,0044
Chloroflexi	-	-	-	0,0251	-	0,0050	0,0112	-	-	-	-	-	-	-
Cyanobacteria	0,0081	0,0318	0,1292	0,0125	0,0160	0,0395	0,0509	-	-	-	-	-	-	-
Deinococcus-Thermus	0,4792	0,6510	0,8557	0,2881	0,0642	0,4676	0,3079	-	0,0004	0,0008	-	-	0,0002	0,0004
FBP	0,1625	0,2699	-	-	0,0160	0,0897	0,1218	0,0004	0,0008	-	-	-	0,0002	0,0003
Firmicutes	3,1273	5,7796	6,3771	38,5242	26,4678	16,0552	15,6498	0,1700	10,6913	0,8270	0,2994	0,1726	2,4321	4,6250
Gemmatimonadetes	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0004	0,0004	0,0015	-	0,0005	0,0006
Planctomycetes	0,0162	0,0318	0,0161	-	-	0,0128	0,0133	-	-	-	0,0004	-	0,0001	0,0002
Proteobacteria	58,4924	80,1842	69,2606	54,3723	68,2066	66,1032	10,1020	99,7976	89,2786	99,1439	99,6804	99,8006	97,5402	4,6263
Spirochaetes	-	-	0,0484	-	-	0,0097	0,0217	-	-	-	-	-	-	-
Tenericutes	0,0081	-	-	-	-	0,0016	0,0036	0,0004	0,0004	-	-	0,0078	0,0017	0,0034
Verrucomicrobia	0,0081	0,1429	-	0,0125	0,0481	0,0423	0,0592	0,0011	0,0012	0,0012	0,0004	0,0023	0,0012	0,0007

Fonte: a autora

Tabela 6. Abundância relativa de Bacteria ao nível de classe em amostras de segmentos nodais (NS) e meio de cultura (CM) de *Dendrocalamus asper*.

Classes	NS1	NS2	NS3	NS4	NS5	Média	Desv. Pad.	CM1	CM2	CM3	CM4	CM5	Média	Desv. Pad.
Não classificados	0,3574	1,5878	0,3229	0,5262	0,6737	0,6936	0,5192	0,0008	0,0015	-	0,0004	-	0,0005	0,0006
Acidimicrobiia	0,0650	-	0,0807	0,0125	0,0160	0,0349	0,0356	-	-	-	-	-	-	-
Acidobacteriia	3,7446	2,5405	0,4682	0,1754	0,2085	1,4274	1,6265	0,0038	0,0066	0,0052	0,0030	0,0027	0,0043	0,0016
Actinobacteria	3,8827	1,4925	3,7940	1,2403	1,1389	2,3097	1,4017	0,0218	0,0116	0,0068	0,0046	0,0089	0,0107	0,0067
Alphaproteobacteria	28,4461	18,3233	16,5644	6,6399	3,5611	14,7070	9,9323	0,0248	0,0781	0,0443	0,0320	0,1462	0,0651	0,0498
Armatimonadia	0,0812	-	0,0161	-	-	0,0195	0,0352	-	-	-	-	-	-	-
Bacilli	2,8430	5,5097	6,2641	38,2360	26,0346	15,7775	15,5951	0,1588	10,3022	0,8134	0,2888	0,1579	2,3442	4,4569
Bacteroidia	29,4290	7,4627	18,5502	4,7858	3,3686	12,7193	11,0817	0,0045	0,0070	0,0144	0,0034	0,0050	0,0069	0,0044
Chloroflexia	-	-	-	0,0251	-	0,0050	0,0112	-	-	-	-	-	-	-
Clostridia	0,2762	0,2540	0,1130	0,2881	0,4171	0,2697	0,1083	0,0109	0,3883	0,0132	0,0107	0,0140	0,0874	0,1682
Deinococci	0,4792	0,6510	0,8557	0,2881	0,0642	0,4676	0,3079	-	0,0004	0,0008	-	-	0,0002	0,0004
Deltaproteobacteria	0,5199	2,8581	1,0171	0,1754	0,9785	1,1098	1,0372	0,0026	0,0050	0,0048	0,0049	0,0058	0,0046	0,0012
Erysipelotrichia	0,0081	0,0159	-	-	0,0160	0,0080	0,0080	0,0004	0,0008	0,0004	-	0,0008	0,0005	0,0003
Fimbriimonadia	0,1868	0,0635	0,0484	0,0125	0,0160	0,0655	0,0712	-	0,0015	-	0,0019	-	0,0007	0,0010
Gammaproteobacteria	29,4615	59,0029	51,6790	47,5570	63,4103	50,2221	13,1459	99,7701	89,1950	99,0948	99,6435	99,6486	97,4704	4,6335

Mollicutes	0,0081	-	-	-	-	0,0016	0,0036	0,0004	0,0004	-	-	0,0078	0,0017	0,0034
Oxyphotobacteria	0,0081	0,0318	0,1292	0,0125	0,0160	0,0395	0,0509	-	-	-	-	-	-	-
Planctomycetacia	0,0162	0,0318	0,0161	-	-	0,0128	0,0133	-	-	-	0,0004	-	0,0001	0,0002
S0134 terrestrial group	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0004	0,0004	0,0015	-	0,0005	0,0006
Spirochaetia	-	-	0,0484	-	-	0,0097	0,0217	-	-	-	-	-	-	-
Subgroup 17	-	-	-	0,0125	0,0321	0,0089	0,0140	-	-	-	0,0011	-	0,0002	0,0005
Subgroup 6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0034	-	0,0007	0,0015
Thermoleophilia	0,1787	0,0318	0,0323	-	-	0,0485	0,0745	-	-	0,0004	-	-	0,0001	0,0002
Verrucomicrobiae	0,0081	0,1429	-	0,0125	0,0481	0,0423	0,0592	0,0011	0,0012	0,0012	0,0004	0,0023	0,0012	0,0007

Fonte: a autora



## APÊNDICE D – FUNGI ABUNDÂNCIA ABSOLUTA DE UTOS

Abundância absoluta de Fungi em amostras de segmentos nodais (NS) e meio de cultura (CM) de *Dendrocalamus asper*.

UTOS	NS1	NS2	NS3	NS4	NS5	CM1	CM2	CM3	CM4	CM5	Reino; Filo; Classe; Ordem; Família; Gênero
OTU_1	4	3	1	1	0	7	0	9	0	18	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales
OTU_2	5203	1560	2801	3960	1211	34	32	45	20	181	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales
OTU_3	15998	11705	23374	26624	10801	145	120	151	176	352	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales; Mycosphaerellaceae
OTU_4	77	55	61	52	60	403	8862	58	54598	17633	Fungi; Ascomycota; Eurotiomycetes; Eurotiales; Trichocomaceae
OTU_5	39	34	30	29	36	57	58596	96	171	299	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes
OTU_6	46	40	37	29	45	62	52162	64	125	129	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Diaporthales; Schizoparmaceae
OTU_7	58	60	54	57	51	10472	4500	373	24389	1400	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes
OTU_8	14300	25365	8525	10978	4044	364	90	259	226	406	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes
OTU_9	2	1	6	7	7	1	1	2	0	4	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Dothideales
OTU_10	5697	3510	4187	8393	10982	209	82	98	66	231	Fungi; Basidiomycota; Tremellomycetes; Tremellales
OTU_11	6685	3420	4434	9038	14299	46	50	104	52	213	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes
OTU_12	433	1975	5817	12407	17897	55	65	97	62	260	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes
OTU_13	252	539	301	16578	11048	40	34	60	27	133	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales
OTU_14	35	44	28	36	18	78	348	11319	9142	7830	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes
OTU_15	43	34	45	40	38	52	37	19188	20	94	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes
OTU_16	3808	1208	2808	7112	4474	1186	80	174	153	6609	Fungi; Ascomycota

OTU _17	0	0	0	2	0	0	0	4	32	4	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes
OTU _18	150	137	405	105	14447	13	16	31	15	59	Fungi; Ascomycota
OTU _19	373	535	12916	1177	148	36	16	33	13	62	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes
OTU _20	1918	9451	1871	233	2188	62	43	64	33	194	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales
OTU _21	1365	1462	7113	2405	1789	24	58	52	92	141	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes
OTU _22	293	175	275	191	194	6809	2854	8605	6589	983	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes
OTU _23	31	216	58	23	16	9515	292	124	36	217	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes
OTU _24	201	283	2938	4436	1118	55	25	63	30	141	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes
OTU _25	16	16	38	14	16	10	55	32	8308	71	Fungi; Ascomycota
OTU _26	98	372	387	3039	3395	44	14	38	10	110	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; Didymellaceae
OTU _27	8	19	17	11	19	163	192	93	5769	4370	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Hypocreales
OTU _28	2	1	1	3	4	5392	3	48	12	8	Fungi; Basidiomycota; Agaricomycetes; Russulales; Peniophoraceae; Peniophora_18201
OTU _29	2	4	4	11	15	5034	2	2	3	8	Fungi; Basidiomycota; Tremellomycetes; Tremellales; Tremellaceae
OTU _30	22	16	24	16	19	15	4726	13	17	28	Fungi
OTU _31	1202	597	1032	507	3360	8	17	52	20	76	Fungi
OTU _32	1658	2691	480	118	295	9	7	18	11	48	Fungi; Ascomycota
OTU _33	805	1852	356	74	852	41	15	24	9	37	Fungi; Basidiomycota; Tremellomycetes; Tremellales
OTU _34	1520	1585	23	18	1138	8	13	17	14	35	Fungi
OTU _35	1770	387	624	643	341	14	123	20	11	65	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes

OTU _36	6	21	7	5	2	35	20	413	2950	69	Fungi; Ascomycota
OTU _37	1786	1519	73	31	35	9	9	15	7	46	Fungi; Ascomycota
OTU _38	2575	420	266	283	2271	1	5	37	6	98	Fungi
OTU _39	264	298	68	170	2602	10	14	16	9	34	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales
OTU _40	11	7	12	9	12	12	3526	9	4	14	Fungi; Basidiomycota
OTU _41	433	751	315	288	802	26	24	44	20	19	Fungi; Basidiomycota
OTU _42	12	13	14	14	15	4920	40	42	31	63	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Diaporthales; Valsaceae
OTU _43	14	154	15	6	2765	8	5	5	3	16	Fungi
OTU _44	10	12	9	9	10	175	3115	270	25	39	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Diaporthales
OTU _45	12	24	25	18	675	8	7	13	10	1924	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales
OTU _46	9	9	7	6	4	16	28	9	2445	25	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Hypocreales
OTU _47	1948	702	367	244	202	3	15	36	9	53	Fungi
OTU _48	526	1365	774	283	447	4	10	23	7	51	Fungi; Ascomycota
OTU _49	21	63	30	20	266	1894	10	19	15	29	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales; Mycosphaerellaceae
OTU _50	11	16	8	4	10	6	17	6	1806	69	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes
OTU _51	1802	13	16	12	19	10	30	20	20	71	Fungi
OTU _52	881	211	442	190	266	11	6	10	2	17	Fungi; Basidiomycota; Tremellomycetes; Tremellales; Tremellaceae
OTU _53	124	53	716	386	727	19	20	21	9	39	Fungi
OTU _54	2	0	4	1	2	6	94	47	801	2037	Fungi; Basidiomycota; Agaricomycetes; Polyporales

OTU _55	5	2	0	2	3710	1	2	0	3	2	Fungi
OTU _56	1702	314	137	14	49	4	5	16	8	29	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes
OTU _57	2078	738	711	60	42	12	25	21	11	50	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes
OTU _58	349	352	206	123	1859	2	5	11	2	39	Fungi
OTU _59	226	278	209	76	276	67	143	24	9	22	Fungi; Basidiomycota; Tremellomycetes; Tremellales
OTU _60	1	1	1	2	1	16	3	1	1200	4	Fungi; Basidiomycota; Agaricomycetes; Russulales; Peniophoraceae; Peniophora_18201
OTU _61	227	1111	19	16	13	3	26	17	4	41	Fungi; Ascomycota; Leotiomyces; Helotiales
OTU _62	315	912	751	183	269	10	9	12	13	38	Fungi; Ascomycota
OTU _63	881	126	127	13	31	5	7	7	7	22	Fungi;
OTU _64	5	2	2	1	1	8	1106	0	2	5	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes
OTU _65	5	6	17	5	1	52	668	103	227	1407	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Hypocreales; Nectriaceae
OTU _66	6	3	4	3	2	951	46	10	129	43	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Hypocreales; Hypocreaceae
OTU _67	7	19	505	10	212	23	71	193	166	39	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Xylariales; Apiosporaceae; Arthrinium_7214
OTU _68	80	128	113	262	185	267	1	4	4	9	Fungi; Basidiomycota; Tremellomycetes; Tremellales
OTU _69	3	1	4	2	5	787	16	7	7	12	Fungi; Ascomycota
OTU _70	52	800	12	9	15	3	0	9	0	9	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales
OTU _71	15	13	853	362	97	26	27	15	22	39	Fungi
OTU _72	43	402	128	5	132	0	1	8	0	18	Fungi; Basidiomycota; Tremellomycetes; Tremellales; Tremellaceae
OTU _73	2	1	2	1	1	2	728	1	0	5	Fungi; Ascomycota; Leotiomyces; Helotiales

OTU _74	3	4	4	3	6	1	242	6	3	549	Fungi; Ascomycota; Eurotiomycetes; Eurotiales; Trichocomaceae
OTU _75	10	7	374	47	187	6	3	7	3	21	Fungi
OTU _76	523	15	18	17	52	1	1	1	2	6	Fungi; Ascomycota
OTU _77	490	37	24	7	11	6	4	5	4	23	Fungi
OTU _78	166	182	99	34	107	1	5	3	47	16	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales; Mycosphaerellaceae;
OTU _79	4	0	3	5	2	9	10	4	538	7	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Diaporthales; Togniniaceae; Phaeoacremonium_27679
OTU _80	54	165	292	352	36	1	0	1	1	1	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales; Mycosphaerellaceae
OTU _81	114	475	378	17	18	1	11	6	1	12	Fungi; Ascomycota
OTU _82	8	11	8	6	8	19	2786	35	63	6697	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes
OTU _83	1	0	1	2	2	2	0	0	443	4	Fungi; Basidiomycota; Agaricomycetes; Polyporales; Phanerochaetaeaceae;
OTU _84	16	34	92	24	60	113	71	142	153	38	Fungi; Basidiomycota; Exobasidiomycetes; Incertae sedis; Incertae sedis; Meira_28755
OTU _85	444	42	62	60	82	1	0	4	2	8	Fungi; Ascomycota
OTU _86	272	66	78	97	112	0	4	10	5	22	Fungi; Ascomycota
OTU _87	1	0	2	2	0	3	36	324	22	137	Fungi; Basidiomycota; Microbotryomycetes; Sporidiobolales
OTU _88	6	23	36	147	138	0	0	1	0	2	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales
OTU _89	2	2	3	1	1	0	365	15	12	5	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes
OTU _90	0	0	0	0	1	2	2	1	307	7	Fungi; Ascomycota; Eurotiomycetes; Eurotiales; Trichocomaceae
OTU _91	1	11	4	2	2	2	286	3	11	0	Fungi; Ascomycota; Leotiomycetes; Helotiales
OTU _92	6	6	18	5	290	0	1	1	2	6	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes

OTU _93	2	3	2	2	1	10	310	14	1	2	Fungi; Basidiomycota
OTU _94	63	12	26	30	88	1	25	61	3	10	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes
OTU _95	131	96	62	29	46	1	0	1	0	4	Fungi; Basidiomycota; Tremellomycetes; Tremellales; Incertae sedis; Derxomyces_508468
OTU _96	5	6	216	3	4	0	0	2	1	6	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; Pleosporaceae
OTU _97	322	6	14	191	59	0	0	0	0	0	Fungi
OTU _98	7	6	235	7	5	2	1	2	0	4	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales
OTU _99	3	3	1	1	2	3	207	2	0	1	Fungi; Ascomycota
OTU _100	66	41	78	18	40	2	3	5	8	17	Fungi
OTU _101	88	80	108	193	59	3	1	8	7	20	Fungi
OTU _102	1	2	2	178	2	1	1	7	2	3	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; Incertae sedis; Periconia_9263
OTU _103	3	6	151	2	56	1	1	3	3	5	Fungi
OTU _104	2	4	0	2	1	1	8	2	150	187	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes
OTU _105	2	2	16	58	102	2	1	2	1	4	Fungi; Ascomycota
OTU _106	1	3	27	2	18	8	9	53	19	39	Fungi; Ascomycota
OTU _107	43045	10194	10934	27128	9134	232	103	241	143	637	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales
OTU _108	61	7	4	49	22	1	3	6	0	6	Fungi; Ascomycota; Incertae sedis; Incertae sedis; Pseudeurotiaceae
OTU _109	319	37	37	20	31	1	1	4	4	17	Fungi; Ascomycota
OTU _110	5	33	14	35	59	8	51	4	1	5	Fungi; Ascomycota
OTU _111	15	28	188	5	4	1	0	1	1	9	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales

OTU _112	36	121	28	17	86	0	0	0	3	3	Fungi
OTU _113	1	0	3	0	0	4	7	128	0	3	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes
OTU _114	25	20	138	43	29	1	8	2	3	6	Fungi; Basidiomycota
OTU _115	67	6	56	13	2	3	4	1	2	5	Fungi
OTU _116	0	165	6	0	2	1	0	2	0	3	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales
OTU _117	79	47	5	3	2	0	0	0	0	4	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes
OTU _118	11	38	4	6	4	0	141	2	1	5	Fungi; Ascomycota; Leotiomyces; Rhytismatales; Rhytismataceae; Lophodermium_2941
OTU _119	0	0	0	0	0	7	147	0	3	0	Fungi; Basidiomycota; Agaricomycetes; Russulales; Peniophoraceae; Peniophora_18201
OTU _120	108	42	5	0	9	1	0	3	1	5	Fungi; Basidiomycota; Pucciniomycetes; Septobasidiales; Septobasidiaceae
OTU _121	71	61	0	1	2	0	0	3	1	4	Fungi; Ascomycota; Eurotiomycetes
OTU _122	112	3	3	5	7	0	1	1	2	3	Fungi
OTU _123	62	7	4	10	38	0	0	0	0	1	Fungi; Basidiomycota; Tremellomycetes; Tremellales; Incertae sedis; Hannaella_508459
OTU _124	11	84	31	75	4	1	0	2	2	3	Fungi; Ascomycota
OTU _125	111	5	5	2	6	1	1	3	1	3	Fungi
OTU _126	109	10	3	2	1	0	0	4	1	3	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes
OTU _127	124	2	2	5	3	0	1	1	0	7	Fungi
OTU _128	22	20	47	139	112	0	0	2	0	5	Fungi; Basidiomycota
OTU _129	1	3	3	1	108	0	2	1	0	5	Fungi
OTU _130	1	0	2	1	1	8	1	1	16	115	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes

OTU _131	6	111	1	0	2	1	0	1	0	1	Fungi; Ascomycota
OTU _132	0	0	1	0	0	2	0	0	107	5	Fungi; Basidiomycota; Agaricomycetes; Polyporales
OTU _133	2	3	99	2	8	3	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales
OTU _134	24	20	23	12	27	1	0	0	0	1	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales
OTU _135	0	1	1	10	6	0	82	0	1	1	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes
OTU _136	0	93	3	0	5	0	5	3	1	3	Fungi
OTU _137	82	90	57	0	43	2	1	2	0	2	Fungi; Ascomycota
OTU _138	16	21	38	13	8	0	0	0	1	1	Fungi; Basidiomycota; Tremellomycetes; Tremellales
OTU _139	1	1	1	1	3	2	2	2	68	8	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes
OTU _140	57	12	12	24	123	2	1	2	0	4	Fungi
OTU _141	74	30	4	11	56	1	0	0	0	2	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales
OTU _142	25	1	48	18	2	0	0	0	0	8	Fungi
OTU _143	60	129	113	32	65	74	2	4	4	1	Fungi; Basidiomycota; Tremellomycetes; Tremellales
OTU _144	30	26	57	11	17	0	0	1	1	0	Fungi; Basidiomycota; Tremellomycetes; Tremellales
OTU _145	2	55	37	1	47	0	0	1	0	2	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales
OTU _146	0	0	3	3	0	2	13	1	65	3	Fungi
OTU _147	6	8	8	26	39	0	1	0	0	3	Fungi; Ascomycota
OTU _148	83	2	0	3	0	0	0	1	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes
OTU _149	3	76	2	3	5	1	2	0	0	9	Fungi



OTU _150	33	95	25	16	5	4	27	3	0	5	Fungi; Ascomycota
OTU _151	22	27	28	6	67	1	2	0	0	2	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes
OTU _152	1	0	0	1	100	0	0	0	0	3	Fungi
OTU _153	134	19	0	2	1	0	1	1	1	4	Fungi; Ascomycota
OTU _154	1	0	0	1	0	0	87	1	0	0	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Hypocreales; Nectriaceae
OTU _155	1	0	2	1	1	36	16	2	85	1	Fungi; Basidiomycota; Agaricomycetes
OTU _156	2	7	5	6	58	1	0	1	1	2	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes
OTU _157	0	1	0	2	1	1	10	82	34	3	Fungi; Basidiomycota; Microbotryomycetes; Sporidiobolales
OTU _158	55	24	4	2	1	0	1	2	0	2	Fungi
OTU _159	1	0	0	53	0	0	3	2	1	5	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Hypocreales
OTU _160	1	65	1	1	0	0	1	1	0	5	Fungi
OTU _161	3	8	42	6	56	3	1	1	3	8	Fungi; Basidiomycota; Tremellomycetes; Tremellales; Tremellaceae
OTU _162	35	20	65	14	27	0	1	1	1	8	Fungi
OTU _163	2	61	2	0	0	0	0	0	2	4	Fungi
OTU _164	47	1	2	0	6	0	0	0	0	1	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales; Mycosphaerellaceae
OTU _165	22	25	13	11	48	1	0	0	0	2	Fungi
OTU _166	7	9	0	44	10	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales
OTU _167	4	1	2	0	20	1	58	4	0	0	Fungi; Basidiomycota
OTU _168	39	14	0	2	2	0	1	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes

OTU _169	57	20	3	3	5	0	1	0	0	0	Fungi; Basidiomycota
OTU _170	5	41	3	0	2	0	1	2	0	6	Fungi; Basidiomycota
OTU _171	53	1	1	0	3	0	0	0	0	2	Fungi
OTU _172	5	49	2	4	1	0	0	1	0	2	Fungi
OTU _173	3	8	38	4	1	1	0	0	0	1	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes
OTU _174	28	11	7	4	5	0	1	1	0	1	Fungi
OTU _175	1	0	0	0	0	0	0	1	52	1	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes
OTU _176	0	4	2	2	45	0	0	0	1	2	Fungi; Basidiomycota; Tremellomycetes; Tremellales
OTU _177	3	12	6	5	7	0	7	4	0	2	Fungi
OTU _178	13	87	10	4	4	4	2	0	3	8	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Hypocreales
OTU _179	1	0	0	65	3	1	0	0	1	0	Fungi; Basidiomycota
OTU _180	0	16	4	16	26	0	0	1	0	1	Fungi; Basidiomycota
OTU _181	3	25	4	5	11	0	2	1	0	2	Fungi; Ascomycota; Eurotiomycetes; Chaetothyriales; Uncertainae sedis; Strelitziana_501009
OTU _182	57	19	4	3	15	0	0	1	1	3	Fungi; Ascomycota
OTU _183	89	25	3	1	2	0	2	1	0	7	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes
OTU _184	0	36	1	0	2	0	1	0	0	1	Fungi; Basidiomycota
OTU _185	52	7	1	0	3	0	2	0	3	4	Fungi; Ascomycota
OTU _186	2	38	1	1	5	0	1	0	0	1	Fungi
OTU _187	11	46	21	2	8	1	0	0	1	2	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes

OTU _188	0	0	0	0	0	0	1	44	2	0	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes
OTU _189	13	34	18	2	6	0	2	1	2	5	Fungi; Ascomycota; Eurotiomycetes; Chaetothyriales
OTU _190	1	52	6	0	1	0	1	1	0	0	Fungi
OTU _191	3	2	2	1	46	0	0	1	0	1	Fungi
OTU _192	0	0	34	2	1	0	1	0	0	1	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales
OTU _193	44	23	0	2	6	0	1	2	0	11	Fungi
OTU _194	18	2	34	20	2	0	2	0	0	1	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes
OTU _195	0	4	8	10	15	0	0	0	0	1	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes
OTU _196	27	1	0	34	4	1	0	0	3	0	Fungi; Ascomycota
OTU _197	28	0	4	32	3	0	0	1	0	4	Fungi; Ascomycota
OTU _198	8	28	2	3	5	0	2	1	0	10	Fungi
OTU _199	11	5	11	5	3	1	0	1	0	5	Fungi
OTU _200	1	29	0	1	0	0	1	1	0	2	Fungi
OTU _201	3	160	7	2	4	1	5	6	7	9	Fungi; Ascomycota; Lecanoromycetes
OTU _202	4	4	35	20	13	0	0	0	0	2	Fungi; Basidiomycota
OTU _203	11	1	8	3	7	0	0	0	1	7	Fungi
OTU _204	31	22	1	1	2	1	0	0	1	6	Fungi; Ascomycota
OTU _205	38	53	23	3	32	0	1	2	3	2	Fungi
OTU _206	0	0	0	5	28	2	0	0	0	2	Fungi; Basidiomycota

OTU _207	0	45	0	0	0	1	0	0	0	0	Fungi
OTU _208	0	2	0	0	30	0	0	0	0	1	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; Pleosporaceae
OTU _209	14	5	39	4	9	1	1	5	1	4	Fungi
OTU _210	0	0	44	0	1	1	0	0	1	1	Fungi
OTU _211	0	13	7	8	25	0	1	0	1	1	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales
OTU _212	682	385	368	217	151	6	5	11	4	28	Fungi
OTU _213	24	6	1	1	2	0	0	1	0	4	Fungi; Basidiomycota
OTU _214	28	3	1	0	3	0	0	0	0	1	Fungi
OTU _215	14	28	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales; Mycosphaerellaceae
OTU _216	26	2	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales
OTU _217	20	9	13	3	13	0	0	2	0	1	Fungi; Ascomycota;
OTU _218	9	11	12	9	2	0	0	1	0	1	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales
OTU _219	1	27	0	0	1	1	3	0	0	4	Fungi
OTU _220	39	11	3	1	1	0	0	1	1	1	Fungi; Ascomycota; Eurotiomycetes; Chaetothyriales; Herpotrichiellaceae
OTU _221	2	1	1	3	23	1	0	0	0	0	Fungi; Basidiomycota
OTU _222	11	4	8	0	2	0	0	1	1	2	Fungi; Basidiomycota;
OTU _223	61	10	1	1	2	0	0	2	0	2	Fungi; Ascomycota
OTU _224	9	1	4	2	15	0	0	0	0	1	Fungi; Basidiomycota
OTU _225	0	33	2	1	0	0	3	0	7	1	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes

OTU _226	2	25	5	2	10	61	0	0	1	38	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales
OTU _227	2	1	0	0	0	6	1	0	18	6	Fungi; Basidiomycota; Agaricomycetes; Polyporales
OTU _228	0	3	5	6	16	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Eurotiomycetes; Eurotiales; Trichocomaceae
OTU _229	1	6	38	12	8	2	1	1	1	4	Fungi
OTU _230	4	1	17	2	49	0	0	1	0	3	Fungi
OTU _231	6	4	4	1	27	0	0	0	0	0	Fungi
OTU _232	19084	50685	2534	6945	5713	106016	376	102081	387	77308	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales
OTU _233	7	21	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales
OTU _234	1	1	22	0	2	1	0	0	0	2	Fungi; Basidiomycota; Tremellomycetes; Tremellales; Tremellaceae
OTU _235	8	16	0	0	2	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota
OTU _236	1	1	13	4	16	0	0	0	1	0	Fungi; Basidiomycota
OTU _237	5	18	0	2	5	0	1	0	0	1	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales
OTU _238	0	0	1	0	0	0	4	23	11	7	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Hypocreales; Hypocreaceae
OTU _239	14	2	0	0	0	0	0	17	0	1	Fungi; Ascomycota
OTU _240	19	10	4	3	8	0	1	0	1	7	Fungi; Ascomycota
OTU _241	14	0	1	2	2	0	1	1	0	1	Fungi
OTU _242	18	0	1	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes
OTU _243	79	23	2	0	7	0	0	0	0	0	Fungi
OTU _244	1	0	1	0	18	0	1	0	0	1	Fungi

OTU _245	2	1	16	3	1	0	1	0	1	1	Fungi
OTU _246	18	1	1	0	2	0	1	1	0	1	Fungi; Basidiomycota; ; ;
OTU _247	21	0	10	0	2	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _248	8	15	1	0	0	0	0	1	2	0	Fungi; ; ; ;
OTU _249	17	2	0	0	3	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _250	7	0	6	6	19	0	0	1	0	3	Fungi; ; ; ;
OTU _251	87	31	1	2	2	0	0	2	1	3	Fungi; ; ; ;
OTU _252	7	4	3	1	7	1	0	3	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _253	356	144	875	2455	897	2123	593	13153	438	5828	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Dothideales; ;
OTU _254	2115	714	376	953	1128	9	7	18	11	47	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _255	25	5	51	2	3	0	0	2	0	8	Fungi; Basidiomycota; ; ; ;
OTU _256	13	4	0	1	0	0	0	1	0	1	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _257	3	2	1	24	15	0	0	1	0	0	Fungi; Basidiomycota; Tremellomycetes; Tremellales; Tremellaceae;
OTU _258	0	22	0	0	0	0	1	0	0	3	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU _259	2	17	0	0	0	1	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _260	12	18	16	8	11	11	92	16	11030	158	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU _261	18	4	0	1	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU _262	4	3	4	0	26	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU _263	103	53	155	107	230	1	2	2	1	7	Fungi; Ascomycota; ; ; ;

OTU _264	7	3	6	1	13	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _265	0	0	0	0	1	4	9	0	14	4	Fungi; Basidiomycota; Agaricomycetes; Polyporales; ;
OTU _266	1	22	0	1	0	1	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _267	3	6	2	13	8	1	0	1	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales; Mycosphaerellaceae;
OTU _268	16	1	3	4	3	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Incertae sedis; Incertae sedis; Leptospora_2803
OTU _269	0	0	1	16	0	0	0	1	0	0	Fungi; Basidiomycota; ; ; ;
OTU _270	71	46	22	30	106	0	3	4	1	11	Fungi; Ascomycota; Eurotiomycetes; ; ;
OTU _271	15	3	1	0	1	0	0	0	1	0	Fungi; ; ; ;
OTU _272	4	12	0	0	0	0	0	0	0	1	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU _273	21	2	2	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _274	1	1	8	2	3	0	1	0	0	3	Fungi; Basidiomycota; Cystobasidiomycetes; Cystobasidiales; Cystobasidiaceae;
OTU _275	0	1	0	0	0	0	0	2	14	0	Fungi; Basidiomycota; Microbotryomycetes; Sporidiobolales; ;
OTU _276	0	0	15	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Microthyriales; Micropeltidaceae;
OTU _277	17	1	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales; ;
OTU _278	0	0	0	0	0	0	17	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Hypocreales; Nectriaceae;
OTU _279	1	1	2	1	17	0	0	0	0	2	Fungi; Basidiomycota; Cystobasidiomycetes; Erythrobasidiales; Incertae sedis; Bannoa_28645
OTU _280	5	26	4	0	0	0	0	1	0	1	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _281	9	1	0	1	4	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales; ;
OTU _282	9	15	2	0	0	0	1	2	1	2	Fungi; Ascomycota; ; ; ;

OTU _283	0	14	0	0	0	1	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU _284	0	0	0	0	0	14	0	0	10	0	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Diaporthales; Togniniaceae; Phaeoacremonium_27679
OTU _285	1	1	0	0	10	0	0	0	2	0	Fungi; Ascomycota; ; ;
OTU _286	0	0	1	0	13	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _287	10	0	2	1	0	0	0	0	0	0	Fungi; Basidiomycota; Tremellomycetes; Tremellales; Cuniculitremaeae;
OTU _288	0	0	1	2	8	1	0	0	0	2	Fungi; Ascomycota; Eurotiomycetes; Eurotiales; Trichocomaceae;
OTU _289	1	7	1	0	6	0	0	1	1	0	Fungi; ; ; ;
OTU _290	7	11	4	0	1	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU _291	1	2	9	1	2	0	0	0	0	1	Fungi; ; ; ;
OTU _292	1	16	0	0	0	0	0	1	0	1	Fungi; Ascomycota; ; ;
OTU _293	0	10	1	1	0	0	0	1	0	2	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; ; ;
OTU _294	11	15	4	1	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _295	0	4	6	6	4	0	0	1	0	1	Fungi; Ascomycota; ; ;
OTU _296	9	5	0	0	7	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU _297	4	0	0	10	2	0	1	0	1	1	Fungi; Basidiomycota; ; ;
OTU _298	2	13	0	1	2	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _299	2	0	4	2	17	0	0	2	0	0	Fungi; Basidiomycota; Ustilaginomycetes; Ustilaginales; Ustilaginaceae;
OTU _300	10	1	1	0	2	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales; ;
OTU _301	6	7	7	0	4	0	0	0	1	3	Fungi; Ascomycota; ; ;



OTU_302	23	3	0	2	0	0	0	1	0	4	Fungi; Ascomycota; ; ;
OTU_303	23	7	1	0	3	0	0	1	0	1	Fungi; ; ; ;
OTU_304	6	2	2	0	2	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU_305	8	8	7	0	15	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Eurotiomycetes; Chaetothyriales; Herpotrichiellaceae;
OTU_306	2	1	6	0	3	0	0	0	0	0	Fungi; Basidiomycota; ; ; ;
OTU_307	0	1	0	0	9	0	0	0	0	1	Fungi; ; ; ;
OTU_308	5	8	2	5	3	0	1	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Leotiomycetes; Rhytismatales; Rhytismataceae;
OTU_309	3	0	2	2	7	0	0	0	0	1	Fungi; Ascomycota; Eurotiomycetes; Eurotiales; Trichocomaceae;
OTU_310	11	4	1	0	0	0	0	0	0	1	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU_311	4	5	0	0	0	0	0	1	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU_312	0	0	9	0	0	0	0	0	0	1	Fungi; ; ; ;
OTU_313	10	2	2	1	1	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU_314	7	0	11	1	1	0	0	0	1	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU_315	0	1	20	2	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU_316	0	0	0	0	9	0	1	0	0	1	Fungi; ; ; ;
OTU_317	0	3	4	0	3	0	0	1	0	1	Fungi; ; ; ;
OTU_318	1	12	3	0	4	1	1	0	0	1	Fungi; Ascomycota; Eurotiomycetes; Chaetothyriales; ;
OTU_319	1	4	1	0	0	9	0	0	1	0	Fungi; Basidiomycota; ; ; ;
OTU_320	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;

OTU_321	0	1	10	0	0	0	0	0	0	3	Fungi; Ascomycota; ; ;
OTU_322	1	7	1	0	0	0	0	1	2	1	Fungi; Ascomycota; ; ;
OTU_323	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales; Mycosphaerellaceae;
OTU_324	0	9	0	0	0	1	2	0	1	1	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU_325	7	12	1	2	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales; ;
OTU_326	0	0	0	0	8	0	0	0	0	1	Fungi; Ascomycota; Eurotiomycetes; Chaetothyriales; ;
OTU_327	0	0	2	3	13	0	0	1	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU_328	9	1	0	1	2	0	0	0	0	1	Fungi; Ascomycota; Eurotiomycetes; ; ;
OTU_329	7	0	1	0	0	0	0	0	0	1	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU_330	4	1	7	1	1	0	0	0	0	1	Fungi; Basidiomycota; Cystobasidiomycetes; Incertae sedis; Symmetrosporaceae; Symmetrospora_813117
OTU_331	5	10	3	0	5	0	0	1	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU_332	8	2	1	0	5	0	0	1	0	2	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU_333	12	10	5	1	10	0	1	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU_334	7	4	1	0	2	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU_335	0	1	0	9	1	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU_336	2	3	4	1	1	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU_337	1	1	9	4	0	0	0	0	0	0	Fungi; Basidiomycota; ; ; ;
OTU_338	2	2	2	2	4	0	0	1	1	1	Fungi; ; ; ;
OTU_339	8	6	1	0	1	0	0	0	1	2	Fungi; ; ; ;

OTU_340	6	11	2	0	0	0	1	0	0	1	Fungi; Ascomycota; Eurotiomycetes; ; ;
OTU_341	0	0	5	0	12	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU_342	9	0	0	1	0	0	0	1	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU_343	0	5	0	2	0	0	0	1	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU_344	9	3	5	0	1	0	0	0	0	1	Fungi; Basidiomycota; ; ; ;
OTU_345	9	5	1	0	4	0	0	0	0	2	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU_346	0	11	1	1	0	1	0	0	0	1	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU_347	1	0	12	0	0	0	1	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU_348	1	0	8	1	0	0	0	1	0	1	Fungi; ; ; ;
OTU_349	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	Fungi; Basidiomycota; Agaricomycetes; Russulales; Peniophoraceae; Peniophora_18201
OTU_350	9	1	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU_351	8	0	0	0	0	1	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU_352	7	3	7	1	9	1	0	1	1	3	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU_353	0	8	0	0	1	0	0	0	0	2	Fungi; ; ; ;
OTU_354	0	2	8	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU_355	0	9	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU_356	7	0	1	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU_357	0	4	0	4	0	0	0	1	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU_358	0	1	1	0	0	0	3	0	0	8	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Diaporthales; Diaporthaceae;

OTU _359	7	6	12	4	10	0	1	0	0	2	Fungi; Basidiomycota; Tremellomycetes; Tremellales; ;
OTU _360	6	3	0	0	5	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Eurotiomycetes; ; ;
OTU _361	0	4	5	2	0	0	0	1	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU _362	2	0	0	0	6	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _363	0	0	8	0	0	0	2	1	0	1	Fungi; ; ; ;
OTU _364	4	2	0	0	0	0	0	0	0	1	Fungi; ; ; ;
OTU _365	3	0	1	8	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU _366	27	4	33	6	9	1	0	3	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _367	0	0	0	0	7	0	0	0	0	1	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU _368	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Hypocreales; Nectriaceae;
OTU _369	5	3	3	0	1	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU _370	0	2	2	0	1	0	0	0	1	0	Fungi; Ascomycota; Eurotiomycetes; ; ;
OTU _371	4	6	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU _372	0	5	0	0	0	1	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _373	7	3	0	1	0	0	0	0	1	0	Fungi; ; ; ;
OTU _374	0	1	6	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU _375	0	0	1	4	0	0	0	0	1	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _376	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Basidiomycota; ; ; ;
OTU _377	0	1	6	0	1	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;



OTU_397	2	0	1	1	1	0	0	0	0	1	Fungi; ; ; ;
OTU_398	5	0	0	0	3	0	0	0	0	1	Fungi; Ascomycota; ; ;
OTU_399	0	1	4	4	1	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Eurotiomycetes; ; ;
OTU_400	34	24	43	35	27	29	75	30	16684	67	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; ; ;
OTU_401	0	5	0	0	0	0	0	0	0	1	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU_402	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU_403	2	5	1	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU_404	2	4	1	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU_405	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU_406	1	3	0	0	0	0	0	0	1	0	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; ; ;
OTU_407	1	3	1	3	1	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU_408	0	0	4	0	0	2	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; Pleosporaceae;
OTU_409	3	3	0	1	0	0	0	1	0	1	Fungi; ; ; ;
OTU_410	1	5	0	1	5	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU_411	0	2	3	1	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; Incertae sedis; Periconia_9263
OTU_412	0	1	0	1	3	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU_413	0	0	0	4	1	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU_414	0	0	0	0	1	0	0	0	4	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU_415	0	0	0	4	0	0	0	1	0	0	Fungi; ; ; ;

OTU _416	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _417	0	2	2	1	0	0	0	0	0	1	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; Teichosporaceae; Teichospora_5360
OTU _418	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU _419	1	1	0	0	4	0	0	0	0	1	Fungi; Basidiomycota; ; ;
OTU _420	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Hypocreales; Nectriaceae;
OTU _421	0	5	0	2	0	1	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _422	1	0	0	0	3	0	1	0	0	1	Fungi; Ascomycota; Eurotiomycetes; ; ;
OTU _423	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales; Mycosphaerellaceae;
OTU _424	0	0	0	9	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Dothideales; ;
OTU _425	1	0	0	3	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _426	1	1	5	0	2	0	0	0	0	0	Fungi; Basidiomycota; ; ; ;
OTU _427	0	1	3	0	0	0	0	0	0	1	Fungi; ; ; ;
OTU _428	0	8	0	0	0	0	0	0	0	1	Fungi; ; ; ;
OTU _429	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Hypocreales; ;
OTU _430	0	0	4	0	2	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU _431	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU _432	3	3	0	0	0	0	0	0	1	0	Fungi; Basidiomycota; Pucciniomycetes; Septobasidiales; Septobasidiaceae; Septobasidium_16312
OTU _433	0	0	0	1	0	0	0	0	0	8	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Diaporthales; ;
OTU _434	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;

OTU _435	2	0	3	1	0	0	0	0	0	0	Fungi; Basidiomycota; ; ;
OTU _436	2	1	6	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ;
OTU _437	0	5	1	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU _438	1	0	0	4	2	0	0	0	0	0	Fungi; Basidiomycota; Tremellomycetes; Tremellales; Tremellaceae;
OTU _439	0	1	2	1	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _440	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU _441	2	0	1	0	1	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales; Mycosphaerellaceae;
OTU _442	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _443	0	1	0	0	0	0	4	0	0	0	Fungi; Basidiomycota; ; ;
OTU _444	0	1	1	0	3	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales; ;
OTU _445	0	0	6	3	0	1	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _446	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _447	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	Fungi; ; ; ;
OTU _448	0	0	0	1	0	0	5	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Coniochaetales; Coniochaetaceae; Coniochaeta_1209
OTU _449	12	38	3	8	7	0	0	0	0	2	Fungi; Ascomycota; ; ;
OTU _450	0	0	2	1	0	0	0	1	0	1	Fungi; ; ; ;
OTU _451	0	0	0	0	0	0	5	1	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ;
OTU _452	0	1	0	0	0	0	0	0	3	1	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Diaporthales; Diaporthaceae;
OTU _453	2	4	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;



OTU _454	0	4	0	0	1	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ;
OTU _455	0	0	0	0	0	0	0	2	6	0	Fungi; Ascomycota; Eurotiomycetes; Eurotiales; Trichocomaceae;
OTU _456	0	2	1	0	2	0	0	0	0	1	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _457	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _458	0	0	0	3	0	0	1	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _459	0	1	0	4	1	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _460	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Eurotiomycetes; Chaetothyriales; ;
OTU _461	7	11	5	7	5	5	15	8	10	1528	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Diaporthales; Diaporthaceae;
OTU _462	0	0	0	0	0	3	1	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Leotiomycetes; Helotiales; ;
OTU _463	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Basidiomycota; Tremellomycetes; Tremellales; Incertae sedis; Hannaella_508459
OTU _464	3	0	4	0	1	0	0	0	0	2	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; ; ;
OTU _465	1	2	3	1	3	0	1	0	0	0	Fungi; Basidiomycota; ; ; ;
OTU _466	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _467	2	2	1	0	2	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU _468	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; ; ;
OTU _469	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Hypocreales; Nectriaceae;
OTU _470	1	2	0	0	2	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _471	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _472	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Hypocreales; Cordycipitaceae;

OTU _473	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ;
OTU _474	1	8	0	0	0	0	0	0	0	1	Fungi; ; ; ;
OTU _475	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales; ;
OTU _476	6	0	0	1	1	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _477	2	1	0	1	1	0	0	0	0	1	Fungi; ; ; ;
OTU _478	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _479	0	0	0	0	0	3	1	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; ; ;
OTU _480	0	4	0	0	0	0	0	1	0	0	Fungi; Basidiomycota; ; ; ;
OTU _481	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _482	0	1	0	1	2	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales; Mycosphaerellaceae;
OTU _483	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU _484	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _485	0	5	0	0	0	0	0	0	1	0	Fungi; ; ; ;
OTU _486	0	3	3	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU _487	1	0	1	1	7	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _488	0	5	1	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU _489	0	0	0	1	3	0	0	0	1	0	Fungi; Basidiomycota; Ustilaginomycetes; Ustilaginales; Ustilaginaceae;
OTU _490	0	1	2	0	0	0	1	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _491	0	1	1	0	2	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;

OTU _492	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _493	3	6	2	0	1	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales; ;
OTU _494	0	0	0	5	2	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU _495	1631	1022	4548	12560	16693	742	185	885	281	5599	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Dothideales; ;
OTU _496	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _497	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _498	2	2	0	0	1	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _499	0	0	0	3	0	0	0	0	0	2	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU _500	0	0	1	0	0	3	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; ; ;
OTU _501	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU _502	3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _503	4	0	2	0	0	0	0	0	0	1	Fungi; ; ; ;
OTU _504	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1	Fungi; ; ; ;
OTU _505	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _506	0	0	0	0	0	15	0	0	0	0	Fungi; Basidiomycota; Agaricomycetes; ; ;
OTU _507	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU _508	5	1	2	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _509	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU _510	1	1	0	0	6	0	1	0	0	0	Fungi; ; ; ;

OTU_511	0	0	2	0	0	0	0	0	0	1	Fungi; Ascomycota; ; ;
OTU_512	0	0	0	0	4	0	0	1	0	0	Fungi; Basidiomycota; Ustilaginomycetes; Ustilaginales; Ustilaginaceae;
OTU_513	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU_514	3	0	0	1	1	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Taphrinomycetes; Taphrinales; Taphrinaceae; Taphrina_5354
OTU_515	5	0	0	1	0	0	0	1	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU_516	0	0	4	2	3	0	0	1	0	0	Fungi; Basidiomycota; ; ; ;
OTU_517	0	2	0	4	0	0	0	2	1	0	Fungi; ; ; ;
OTU_518	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU_519	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales; Mycosphaerellaceae;
OTU_520	0	3	1	0	2	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU_521	2	0	0	0	0	0	0	1	0	1	Fungi; ; ; ;
OTU_522	2	1	0	0	0	0	0	1	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU_523	1	7	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU_524	0	1	1	2	0	1	1	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU_525	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU_526	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU_527	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	Fungi; ; ; ;
OTU_528	0	0	0	0	0	0	0	1	4	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU_529	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;



OTU _549	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU _550	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU _551	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU _552	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU _553	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU _554	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _555	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU _556	0	2	1	0	1	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _557	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Xylariales; ;
OTU _558	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _559	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU _560	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _561	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _562	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _563	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _564	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _565	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _566	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _567	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;

OTU _568	0	1	4	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; ; ;
OTU _569	1	0	0	2	1	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Pezizomycetes; Pezizales; ;
OTU _570	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU _571	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _572	66	116	134	2617	520	36	22	54	236	76	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _573	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales; ;
OTU _574	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	Fungi; ; ; ;
OTU _575	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Xylariales; Xylariaceae;
OTU _576	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _577	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _578	0	0	2	1	0	0	0	0	0	1	Fungi; ; ; ;
OTU _579	1	2	0	1	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _580	0	0	7	0	1	0	0	1	1	0	Fungi; Basidiomycota; ; ; ;
OTU _581	1	0	0	0	1	2	0	0	0	0	Fungi; Basidiomycota; Agaricomycetes; Polyporales; Polyporaceae;
OTU _582	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _583	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	Fungi; Basidiomycota; Tremellomycetes; Tremellales; ;
OTU _584	0	3	0	0	0	1	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _585	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0	Fungi; Basidiomycota; Agaricomycetes; Russulales; Peniophoraceae;
OTU _586	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	Fungi; ; ; ;

OTU_587	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU_588	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU_589	3	0	0	0	4	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU_590	0	3	0	0	2	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU_591	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Basidiomycota; Ustilaginomycetes; Ustilaginales; Ustilaginaceae;
OTU_592	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU_593	0	1	0	0	2	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU_594	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Diaporthales; Valsaceae;
OTU_595	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU_596	480	453	20	12	12	3	8	8	5	12	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU_597	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU_598	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU_599	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU_600	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Basidiomycota; ; ; ;
OTU_601	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	Fungi; Basidiomycota; Pucciniomycetes; Septobasidiales; Septobasidiaceae;
OTU_602	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU_603	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU_604	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; Hypocreales; ;
OTU_605	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	Fungi; ; ; ;



OTU _606	1	3	1	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Basidiomycota; ; ; ;
OTU _607	0	1	1	0	2	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _608	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	Fungi; Ascomycota; Eurotiomycetes; Eurotiales; Trichocomaceae;
OTU _609	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU _610	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _611	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	Fungi; Basidiomycota; Agaricomycetes; Agaricales; ;
OTU _612	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Lecanoromycetes; ; ;
OTU _613	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	Fungi; Basidiomycota; ; ; ;
OTU _614	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU _615	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _616	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	Fungi; Basidiomycota; ; ; ;
OTU _617	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Pleosporales; ;
OTU _618	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _619	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Leotiomycetes; Helotiales; Marthamycetaceae; Marthamyces_28765
OTU _620	2	0	1	1	0	0	0	0	0	1	Fungi; ; ; ;
OTU _621	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _622	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _623	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU _624	1	2	1	0	1	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales; Mycosphaerellaceae;

OTU _625	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _626	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	Fungi; Basidiomycota; Exobasidiomycetes; Incertae sedis; Incertae sedis; Meira_28755
OTU _627	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ;
OTU _628	0	3	1	0	1	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _629	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ;
OTU _630	9	52	82	18	184	1	3	3	0	3	Fungi; Basidiomycota; Tremellomycetes; Tremellales; ;
OTU _631	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _632	4	0	0	0	1	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _633	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	Fungi; Basidiomycota; ; ;
OTU _634	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	Fungi; Basidiomycota; Tremellomycetes; Tremellales; Tremellaceae;
OTU _635	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _636	2	1	0	0	1	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ;
OTU _637	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _638	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _639	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _640	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1	Fungi; ; ; ;
OTU _641	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Sordariomycetes; ; ;
OTU _642	1	4	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _643	1	3	1	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Basidiomycota; Pucciniomycetes; Septobasidiales; Septobasidiaceae;

OTU _644	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _645	0	3	0	1	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _646	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _647	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _648	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales; ;
OTU _649	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _650	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU _651	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	Fungi; ; ; ;
OTU _652	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _653	0	0	2	0	0	0	0	1	0	0	Fungi; Basidiomycota; ; ; ;
OTU _654	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _655	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; ; ;
OTU _656	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; ; ; ;
OTU _657	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; ; ; ;
OTU _658	0	0	3	0	0	0	0	0	0	1	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes
OTU _659	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes
OTU _660	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi
OTU _661	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota
OTU _662	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1	Fungi; Ascomycota; Eurotiomycetes; Chaetothyriales

OTU _663	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota
OTU _664	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Dothideomycetes; Capnodiales
OTU _665	0	1	2	0	0	1	0	0	0	0	Fungi; Basidiomycota; Tremellomycetes
OTU _666	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota; Leotiomyces; Helotiales
OTU _667	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	Fungi; Ascomycota

Fonte: a autora

## APÊNDICE E – FUNGI – ABUNDÂNCIA RELATIVA DE UTOS

Tabela 7. Abundância relativa de Fungi ao nível de filo em amostras de segmentos nodais (NS) e meio de cultura (CM) de *Dendrocalamus asper*.

Filos	NS1	NS2	NS3	NS4	NS5	Média	Desv. pad.	CM1	CM2	CM3	CM4	CM5	Média	Desv. pad.
Não classificados	8,680 8	3,8978	4,7629	1,7240	10,9684	6,0068	3,7452	0,0946	3,2982	0,2104	0,1698	0,5508	0,8648	1,3715
Ascomycota	85,58 28	90,8799	89,3006	92,3909	80,0634	87,6435	4,9361	92,7691	93,6475	99,2140	97,8241	97,6321	96,2173	2,8310
Basidiomycota	5,736 4	5,2223	5,9366	5,8851	8,9681	6,3497	1,4908	7,1363	3,0544	0,5757	2,0061	1,8171	2,9179	2,5171

Fonte: a autora

Tabela 8. Abundância relativa de Fungi ao nível de classe em amostras de segmentos nodais (NS) e meio de cultura (CM) de *Dendrocalamus asper*.

Classes	NS1	NS2	NS3	NS4	NS5	Média	Desv. pad.	CM1	CM2	CM3	CM4	CM5	Média	Desv. pad.
Não classificados	16,0989	10,800 0	7,1878	24,648 9	11,032 0	13,953 5	6,7685	1,4581	6,3499	0,8078	15,042 1	5,5492	5,8414	5,6909
Agaricomycetes	0,0064	0,0020	0,0072	0,0074	0,0088	0,0064	0,0026	3,4466	0,1819	0,0610	1,7672	1,3898	1,3693	1,3780
Cystobasidiomycetes	0,0058	0,0027	0,0078	0,0155	0,0168	0,0097	0,0062	-	0,0007	-	-	0,0054	0,0012	0,0023
Dothideomycetes	77,0758	82,095 1	85,527 8	65,473 6	76,379 3	77,310 3	7,6068	74,499 4	3,3208	90,474 9	5,8887	63,774 4	47,591 6	40,385 4
Incertae sedis Pseudeurotiaceae	0,0393	0,0047	0,0292	0,0136	0,0035	0,0181	0,0157	0,0006	0,0020	0,0037	-	0,0040	0,0021	0,0018
Eurotiomycetes	0,2027	0,1921	0,0662	0,1642	0,1238	0,1498	0,0558	0,2555	6,0734	0,0504	36,149 2	12,243 1	10,954 4	14,946 8
Exobasidiomycetes	0,0103	0,0228	0,0143	0,0384	0,0814	0,0334	0,0289	0,0708	0,0473	0,0884	0,1007	0,0255	0,0665	0,0305
Lecanoromycetes	0,0019	0,1078	0,0012	0,0025	0,0062	0,0239	0,0469	0,0006	0,0040	0,0037	0,0046	0,0060	0,0038	0,0020

Leotiomycetes	0,1590	0,7824	0,0179	0,0161	0,0274	0,2006	0,3308	0,0063	0,7881	0,0143	0,0105	0,0343	0,1707	0,3453
Microbotryomycetes	0,0006	0,0013	0,0024	0,0006	0,0018	0,0014	0,0008	0,0025	0,0306	0,2539	0,0461	0,0940	0,0854	0,0999
Pezizomycetes	0,0006	-	0,0012	0,0006	-	0,0005	0,0005	-	-	-	-	-	-	-
Pucciniomycetes	0,0759	0,0375	-	0,0087	0,0062	0,0257	0,0316	0,0006	-	0,0019	0,0013	0,0040	0,0016	0,0015
Sordariomycetes	1,1250	1,4376	1,6631	1,4192	7,1023	2,5494	2,5523	16,682 6	83,029 5	8,1242	40,921 1	16,623 6	33,076 2	30,491 4
Taphrinomycetes	0,0019	-	0,0006	0,0006	-	0,0006	0,0008	-	-	-	-	-	-	-
Tremellomycetes	5,1925	4,5135	5,4715	8,1752	5,2060	5,7118	1,4219	3,5763	0,1719	0,1139	0,0678	0,2465	0,8353	1,5337
Ustilaginomycetes	0,0032	0,0007	0,0018	0,0149	0,0044	0,0050	0,0057	-	-	0,0019	0,0007	-	0,0005	0,0008

Fonte: a autora

Tabela 9. Abundância relativa de Fungi ao nível de ordem em amostras de segmentos nodais (NS) e meio de cultura (CM) de *Dendrocalamus asper*.

Ordens	NS1	NS2	NS3	NS4	NS5	Média	Desv. pad.	CM1	CM2	CM3	CM4	CM5	Média	Desv. pad.
Não classificados	37,3298	35,620 4	50,526 3	34,257 3	50,997 7	41,746 3	8,3035	18,862 2	54,073 3	26,207 4	54,601 3	18,693 9	34,487 6	18,373 3
Agaricales	-	-	-	0,0018	-	0,0004	0,0008	-	-	-	-	-	-	-
Capnodiales	10,5936	8,7306	21,134 4	16,164 6	7,0100	12,726 6	5,8247	1,2814	0,0913	0,1151	0,1580	0,2768	0,3845	0,5065
Chaetothyriales	0,0431	0,0622	0,0310	0,0048	0,0279	0,0338	0,0211	0,0006	0,0033	0,0019	0,0020	0,0074	0,0030	0,0026
Coniochaetales	-	-	-	0,0006	-	0,0001	0,0003	-	0,0033	-	-	-	0,0007	0,0015
Cystobasidiales	0,0006	0,0007	0,0071	0,0012	0,0019	0,0023	0,0027	-	0,0007	-	-	0,0020	0,0005	0,0009
Diaporthales	0,0508	0,0522	0,0610	0,0388	0,0477	0,0501	0,0080	3,2481	36,868 9	0,2415	0,4890	1,1984	8,4092	15,953 3
Dothideales	1,2801	0,7810	4,8018	8,9697	10,900 9	5,3467	4,5181	1,7950	0,5189	8,7379	0,4732	7,6787	3,8407	4,0395

Incertae sedis Leptospora	0,0103	0,0007	0,0027	0,0024	0,0019	0,0036	0,0038	-	-	-	-	-	-	-
Incertae sedis Meira	0,0103	0,0228	0,0814	0,0143	0,0384	0,0334	0,0289	0,0708	0,0473	0,0884	0,1007	0,0255	0,0665	0,0305
Incertae sedis Pseudeurotiaceae	0,0393	0,0047	0,0035	0,0292	0,0136	0,0181	0,0157	0,0006	0,0020	0,0037	-	0,0040	0,0021	0,0018
Incertae sedis Symmetrosporaceae	0,0045	0,0013	0,0080	0,0060	0,0031	0,0046	0,0026	-	-	-	-	0,0020	0,0004	0,0009
Erythrobasidiales	0,0006	0,0007	0,0018	0,0006	0,0105	0,0028	0,0043	-	-	-	-	0,0013	0,0003	0,0006
Eurotiales	0,0534	0,0415	0,0646	0,0394	0,0607	0,0519	0,0112	0,2549	6,0661	0,0442	36,145 3	12,222 3	10,946 6	14,946 5
Helotiales	0,1487	0,7516	0,0221	0,0113	0,0118	0,1891	0,3197	0,0063	0,6935	0,0131	0,0099	0,0309	0,1507	0,3036
Hypocreales	0,0302	0,0830	0,0495	0,0495	0,0211	0,0467	0,0238	0,7503	0,6988	0,1500	5,6531	3,9411	2,2387	2,4241
Microthyriales	-	-	0,0133	-	-	0,0027	0,0059	-	-	-	-	-	-	-
Patellariales	-	0,0033	0,0009	-	-	0,0008	0,0014	-	-	-	-	-	-	-
Pezizales	0,0006	-	-	0,0012	0,0006	0,0005	0,0005	-	-	-	-	-	-	-
Pleosporales	45,1090	49,245 4	17,514 3	34,913 7	22,509 2	33,858 3	13,787 5	66,721 8	0,4170	63,844 3	0,4291	54,149 7	37,112 4	33,814 9
Polyporales	0,0039	0,0007	0,0053	0,0018	0,0037	0,0031	0,0018	0,0138	0,0693	0,0293	0,9103	1,3811	0,4807	0,6297
Rhytismatales	0,0103	0,0308	0,0053	0,0066	0,0043	0,0115	0,0110	-	0,0946	0,0012	0,0007	0,0034	0,0200	0,0417
Russulales	0,0019	0,0013	0,0018	0,0030	0,0031	0,0022	0,0008	3,4009	0,1019	0,0305	0,8010	0,0081	0,8685	1,4533
Septobasidiales	0,0759	0,0375	0,0062	-	0,0087	0,0257	0,0316	0,0006	-	0,0019	0,0013	0,0040	0,0016	0,0015
Sporidiobolales	0,0006	0,0013	0,0018	0,0024	0,0006	0,0014	0,0008	0,0025	0,0306	0,2539	0,0461	0,0940	0,0854	0,0999
Taphrinales	0,0019	-	-	0,0006	0,0006	0,0006	0,0008	-	-	-	-	-	-	-
Tremellales	5,1925	4,5129	5,2042	5,4715	8,1752	5,7113	1,4222	3,5757	0,1719	0,1139	0,0678	0,2465	0,8351	1,5334
Ustilaginales	0,0032	0,0007	0,0044	0,0018	0,0149	0,0050	0,0057	-	-	0,0019	0,0007	-	0,0005	0,0008

Xylariales	0,0045	0,0127	0,4475	0,0060	0,1319	0,1205	0,1906	0,0144	0,0473	0,1201	0,1106	0,0289	0,0643	0,0482
------------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------

Fonte: a autora



### ANEXO A – MEIO MS

Formulação Salina MS (Murashige & Skoog, 1962)\*

Solução	Composto	Conc. Sol. Estoque (g.l <sup>-1</sup> )	Vol. usado ml.l <sup>-1</sup>	Conc. Final	
				mg.l <sup>-1</sup>	mM
Macronutrientes					
A	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	33	50 ml.l <sup>-1</sup>	1.650	20,6
	KNO <sub>3</sub>	38		1900	18,8
	CaCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O	8,8		440	3,0
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3,4		170	1,25
	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	7,4		370	1,5
Solução de Ferro					
B	Na <sub>2</sub> EDTA.2H <sub>2</sub> O	3,720	10 ml.l <sup>-1</sup>	37,3	0,1
	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	2,780		27,8	0,1
Micronutrientes			mg.L <sup>-1</sup> μM		
C	MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	3,380	5,0 ml.l <sup>-1</sup>	16,9	100,0
	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1,720		8,6	30,0
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1,240		6,2	100,0
	KI	0,166		0,83	5,0
	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,005		0,025	0,1
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,050		0,25	1,0
	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,005		0,025	0,1
Vitaminas				mg.L <sup>-1</sup> μM	
Vitaminas	Tiamina-HCl	0,02	5,0 ml.l <sup>-1</sup>	0,1	0,3
	Piridoxina-HCl	0,1		0,5	2,4
	Ác. Nicotínico	0,1		0,5	4,0
	Glicina	0,4		2,0	27
	Inositol	20		100	0,55
Fonte de Carbono				g.l <sup>-1</sup> mM	
Sacarose				30	87,6
pH		5,8			

\* Murashige, T.; Skoog, F A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, v.15, p.473-497, 1962.