



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Kelmer Martins da Cunha

**Caracterização taxonômica e dos grupos funcionais da microbiota dos solos
dos Campos de Cima da Serra Catarinense**

Florianópolis

2023

Kelmer Martins da Cunha

**Caracterização taxonômica e dos grupos funcionais da microbiota dos solos
dos Campos de Cima da Serra Catarinense**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Licenciatura em Ciências Biológicas do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador(a): Prof. Dr. Elisandro Ricardo Drechsler dos Santos

Florianópolis

2023

Cunha, Kelmer Martins

Caracterização taxonômica e dos grupos funcionais da
micobiota dos solos dos Campos de Cima da Serra
Catarinense / Kelmer Martins Cunha ; orientador, Elisandro
Ricardo Drechsler Santos, 2023.

45 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas,
Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. Diversidade de fungos. 3.
Ecologia de fungos. 4. Ecologia de comunidades. 5.
Metagenômica. I. Santos, Elisandro Ricardo Drechsler. II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em
Ciências Biológicas. III. Título.

Kelmer Martins da Cunha

Caracterização taxonômica e dos grupos funcionais da microbiota dos solos dos Campos de Cima da Serra Catarinense

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas e aprovado em sua forma final pelo Curso de Ciências Biológicas.

Florianópolis, 30 de Novembro de 2023.



Coordenação do Curso

Banca examinadora



Prof. Dr. Elisandro Ricardo Drechsler dos Santos
Orientador



Prof. Dr. Aristóteles Góes-Neto
Universidade Federal de Minas Gerais



Prof. Dr. Tássio Brito de Oliveira
Universidade Federal da Paraíba

Florianópolis, 2023

Este trabalho é dedicado àqueles que, em plena consciência, ousam trilhar o árduo e incrível caminho da ciência e do pensamento crítico.

AGRADECIMENTOS

Meus primeiros e principais agradecimentos são dedicados a responsável por uma parte importante dos fatores que tornaram possível minha formação. Obrigado a Silvana Martins, minha mãe, por todo o apoio incondicional e incentivo aos estudos. Em um ambiente onde todo esse suporte e amor parental não é óbvio, é impossível não ser grato por isso para o resto da minha vida. Agradeço também a Júlia Lell, minha namorada, por me acompanhar até aqui e me mostrar que as pessoas certas ao nosso lado são um fator tão importante quanto o caminho percorrido em si. Obrigado por tanto carinho em absolutamente todos os momentos.

Agradeço imensamente ao Elisandro Ricardo Drechsler-Santos, meu orientador, pela confiança, pelas imensuráveis oportunidades dadas, todo o tempo empenhado em me ensinar a fazer ciência, pensar criticamente e me tornar um pesquisador. E claro, pelas incontáveis parcerias e conversas até aqui. Agradeço também por me apresentar a tantos cientistas tão incríveis quanto ele, especialmente Genivaldo Alves-Silva, Diogo Henrique Rezende, Aristóteles Góes-Neto, entre outros, que também dispuseram de seu tempo com dedicação e atuaram criticamente na minha formação.

Agradeço ao Arcângelo Loss, Elisangela Benedet, Edilene Souza, Glen Jasper e Rafael Barbizan por todo o esforço, seja em campo ou em outras etapas do trabalho que realizamos em conjunto. Esse trabalho é fruto da contribuição de muitas pessoas extremamente competentes. Obrigado também a toda equipe do PELD-BISC que diretamente ou indiretamente auxiliou no desenvolvimento dessa pesquisa. Por fim, agradeço a equipe do MIND.Funga e MICOLAB por todos os trabalhos desenvolvidos juntos, pela convivência, conversas e momentos de socialização até aqui, que indissociavelmente também contribuíram de forma importante na minha formação.

Obrigado a todos por fazerem parte desta etapa da minha formação!

"...não podemos nos esquecer que nunca observamos a natureza em si, mas sim nada além da natureza exposta ao nosso método de questioná-la."

(Heisenberg, 1962)

RESUMO

Um dos principais componentes bióticos associado a áreas de campo, que desempenham importantes serviços ecossistêmicos, é a micobiota, um dos mais diversos grupos de organismos nos solos de ecossistemas naturais terrestres. Além de rica, a comunidade fúngica do solo é considerada mantenedora da saúde dos ecossistemas. Apesar disso, diversas formações de campo são negligenciadas no Brasil, como os Campos de Cima da Serra, que são formações associadas aos Campos Sulinos, no sul do Brasil. Por consequência, a micobiota do solo dessas formações ainda é totalmente desconhecida. Dessa maneira, o objetivo principal deste trabalho é caracterizar taxonomicamente e funcionalmente a micobiota do solo associado a áreas de Campos de Cima da Serra. Para isso, foram coletadas 36 amostras compostas de solo em áreas representativas da formação. As amostras foram submetidas a sequenciamento metagenômico *shotgun* livre de PCR, que pode enviesar a análise da micobiota recuperada. Ainda, as amostras de solo foram submetidas à caracterização físico-química para determinação de fatores edáficos. Foram geradas ao todo cerca de 150 mil sequências representantes da região ITS do rRNA ribossomal, que permitiram a identificação de 613 gêneros inseridos em 18 filos do reino Fungi. Destes, 245 gêneros estão presentes em todas as áreas amostradas, e portanto compõem a comunidade principal da micobiota dos Campos de Cima da Serra. Apesar das áreas amostradas apresentarem índices de diversidade alfa semelhantes, ordenações de escalonamento multidimensional não métrico apontam para comunidades distintas, sendo suas composições influenciadas principalmente pela área de coleta e teor de Mg em modelos de perMANOVA. Inesperadamente e em contraste com os padrões observados globalmente, a maioria dos fatores edáficos testados não influenciaram de maneira significativa a composição das comunidades recuperadas. As comunidades identificadas são dominadas por fungos saprotróficos, seguidos de simbiotróficos e patotróficos, apresentando homogeneidade na dominância destes grupos funcionais ao longo do espaço amostral, indicando redundância funcional da micobiota em escalas locais. Os resultados obtidos aqui revelam a grande diversidade de fungos associados aos solos dos Campos de Cima da Serra. Ainda, apontam para uma grande heterogeneidade em escala local na micobiota dessas áreas. Os dados gerados neste trabalho servem de base para a criação de estratégias de conservação e monitoramento dos Campos de Cima da Serra que possam levar em consideração a micobiota e os diferentes serviços ecossistêmicos que o grupo desempenha. Estudos futuros devem buscar entender quais outros fatores abióticos e bióticos podem influenciar a composição das comunidades fúngicas, assim como entender qual o papel ecossistêmico dos gêneros dominantes nesta formação. Trabalhos que foquem no entendimento do efeito das pressões historicamente aplicadas nos Campos de Cima da Serra também poderão avançar de maneira significativa no conhecimento necessário para a conservação desta formação e sua diversidade associada.

Palavras-chave: sequenciamento de alto rendimento; ecologia de fungos do solo; Funga

ABSTRACT

An essential biotic component associated with grasslands, areas that contribute with ecosystem services, is the mycobiota, one of the most diverse groups in terrestrial ecosystems' soils. Besides being rich, fungal communities are considered ecosystem health maintainers. Despite this, some Brazilian grassland formations are neglected, such as the Campos de Cima da Serra, a unique formation associated with the Campos Sulinos in Southern Brazil. As a consequence, the soil mycobiota of these areas is still largely unknown. As such, the main aim of this work is to taxonomically and functionally characterize the soil mycobiota of these areas. In total, 36 soil samples were collected in the Campos de Cima da Serra region, which were sequenced using shotgun metagenomics, avoiding potential biases introduced by PCR-dependent methods. Chemical analyses were conducted to measure edaphic variables. Around 150.000 ITS rRNA representative sequences were generated, identifying 613 genera belonging to the Fungi kingdom. Of those, 245 genera constitute the Campos de Cima da Serra core mycobiota. Despite the evenness found in alpha diversity among sampled areas, non-metric multidimensional scaling showed that the identified communities have different compositions, being influenced mainly by sampling area and Mg content. Unexpectedly, the identified communities' composition did not respond to most of the tested edaphic factors, a global pattern for soil mycobiota. The Campos de Cima da Serra mycobiota is dominated by saprotroph species, followed by simbiotrophs and pathotrophs, showing dominant homogeneity through the sampling space, which is an indicator of functional redundancy at the local scale. The results obtained point to a great fungal diversity associated with Campos de Cima da Serra areas, which was until now completely unknown. In addition, these data indicate an important soil mycobiota local scale heterogeneity in terms of composition. The data generated in this work establish a baseline for monitoring and conservation strategies that account for the mycobiota and the ecosystem services associated with the group. Future studies should focus on a broader and deeper sampling of the soil mycobiota, and which abiotic and biotic factors can also modulate fungal community compositions, as well as understand which services the core mycobiota can execute. Also, studies dedicated to understanding the impact of constant pressures in the Campos de Cima da Serra region, such as fire and grazing, could significantly advance the required knowledge to preserve this formation and its associated diversity.

Keywords: high throughput sequencing; soil fungal ecology; Funga.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 DESENVOLVIMENTO.....	12
2.1 MATERIAIS E MÉTODOS.....	12
2.1.1 Caracterização da área de amostragem e coleta de solos.....	12
2.1.2 Caracterização físico-química do solo.....	14
2.1.3 Extração, quantificação de DNA total e sequenciamento.....	14
2.1.4 Análise bioinformática das sequências geradas.....	15
2.1.5 Análises estatísticas.....	16
2.2 RESULTADOS.....	18
2.2.1 Sequências geradas representantes da microbiota dos Campos de Cima da Serra.....	18
2.2.2 Diversidade alfa da microbiota dos Campos de Cima da Serra a nível de gênero.	18
2.2.3 Composição da comunidade de gêneros da microbiota dos Campos de Cima da Serra.....	20
2.2.4 Composição taxonômica e grupos funcionais da microbiota dos Campos de Cima da Serra.....	24
2.3 DISCUSSÃO.....	28
2.3.1 Diversidade alfa e composição das comunidades associadas a microbiota do solo dos Campos de Cima da Serra Catarinense.....	28
2.3.2 Composição taxonômica da microbiota associada aos Campos de Cima da Serra.....	31
3 CONCLUSÃO.....	34
REFERÊNCIAS.....	36
APÊNDICE A – Variáveis edáficas utilizadas nos modelos de perMANOVA.....	45

1 INTRODUÇÃO

Áreas de campo são caracterizadas abrangentemente como formações dominadas por espécies de gramíneas e com presença escassa de árvores e arbustos (Buisson *et al.*, 2018; Parr *et al.*, 2014). Essas áreas apresentam distinta biodiversidade em diferentes ecorregiões, e ocupam cerca de 40% da superfície terrestre. Ainda, contribuem globalmente para a segurança alimentar e produção de *commodities* (Zhao *et al.*, 2020), além de estocar cerca de um terço do carbono global (White *et al.*, 2000). Ecossistemas de campo possuem um maior potencial na estocagem de carbono quando comparados com ecossistemas florestais (Bennett *et al.*, 2023; Dass *et al.*, 2018). Portanto, se conservados, podem atuar como agentes chave na mitigação dos impactos das mudanças globais (Yang *et al.*, 2019).

Essa capacidade de retenção de carbono está diretamente relacionada com a microbiota associada aos solos destes ecossistemas (Bai; Cotrufo, 2022), ambiente que apresenta concordância com os padrões globais de alta diversidade de espécies. O reino Fungi tem cerca de 2.5 milhões de espécies estimadas, porém somente cerca de 5% dessa diversidade é conhecida (Antonelli *et al.*, 2023; Niskanen *et al.*, 2023). Apesar disso, a microbiota está presente como um dos grupos mais diversos no solo (Anthony; Bender; van der Heijden, 2023), sendo fortemente modulado por fatores edáficos em amplas escalas (Tedersoo *et al.*, 2014). Essa alta diversidade está intrinsecamente associada a uma grande importância para a saúde dos ecossistemas, já que os fungos são considerados principais mantenedores do funcionamento ecossistêmico (Bardgett; van der Putten, 2014) e moduladores da produtividade, composição das comunidades e diversidade de espécies vegetais (Brundrett; Tedersoo, 2018; Chen *et al.*, 2016; Koziol; Bever, 2017). Ainda, as comunidades de fungos são especialmente importantes para os ecossistemas de campo, já que aceleram sua recuperação em cenários de distúrbio (Koziol; Bever, 2017).

Apesar de sua importância multifacetada, os ecossistemas de campo e, por consequência, sua microbiota, são constantemente esquecidos e negligenciados em esforços de conservação. Os campos são geralmente interpretados como áreas sob o efeito de distúrbios ou como vegetação em estágio inicial de sucessão (Bond; Parr, 2010; Overbeck *et al.*, 2007; Silveira *et al.*, 2020). Esses equívocos são verdadeiros para os Campos Sulinos no Brasil, e especialmente para os Campos de Cima da

Serra (CCS), que constituem um mosaico com as ameaçadas Floresta de Araucária, fragmentos de mata nebulosa e as zonas de turfeiras em áreas de altitude do Sul do Brasil, inseridos na Mata Atlântica (Behling; Pillar, 2007; Overbeck *et al.*, 2022). Como consequência disso, restam somente 46% das áreas de campo do Brasil (Overbeck *et al.*, 2022), e somente cerca de 0.5% dos Campos Sulinos está inserido em unidades de conservação (Overbeck *et al.*, 2007).

Essas formações únicas e pouco estudadas (Menezes *et al.*, 2022) foram mantidas desde o Holoceno médio até os dias atuais através da pastagem de grande herbívoros e a presença de fogo, sendo dependentes desses distúrbios (Jeske-Pieruschka *et al.*, 2010; Suhs; Giehl; Peroni, 2020). Portanto, mesmo que incluídas em unidades de conservação, as políticas ambientais brasileiras anti-distúrbio adicionam ainda mais fragilidade a estas formações (Mistry *et al.*, 2019). Em somente três décadas sem a aplicação desses distúrbios os CCS podem substancialmente serem convertidos naturalmente em florestas (Suhs; Giehl; Peroni, 2020). Dessa forma, a curto prazo também estão em risco a microbiota associada e os serviços ecossistêmicos desempenhados por estas áreas, assim como sua importância para a mitigação de impactos da crise climática global.

Entretanto, a adequação dos planos de conservação não é suficiente para a proteção plena dos CCS. É urgente o entendimento da microbiota associados a estes ecossistemas, especialmente sua composição taxonômica, homogeneidade e funcionalidade, já que as relações entre riqueza de espécies e funcionalidades são complexas e aparentemente independentes (Villéger; Mason; Mouillot, 2008). Avanços no conhecimento da microbiota associado aos CCS nessa direção poderão possibilitar a inclusão futura de serviços ecossistêmicos na delimitação de políticas ambientais, uma prática considerada um novo paradigma na conservação (Barron, 2023; Labouyrie *et al.*, 2023). Ainda, entender aspectos e padrões da biodiversidade, além de quantificá-la, é essencialmente o primeiro passo para perguntas fundamentais relacionadas à ecologia e conservação (Mouchet *et al.*, 2010; Purvis; Hector, 2000), dado que a falta de conhecimento é positivamente correlacionada com maiores riscos para a diversidade de espécies (Borgelt *et al.*, 2022; Cardoso *et al.*, 2011).

Enquanto a microbiota de algumas áreas de campo tem recebido crescente atenção a nível global (Fernandes *et al.*, 2022; Palumbo *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2023) e no Brasil, especialmente no Cerrado (Castro *et al.*, 2016; Coutinho *et al.*,

2015; Coutinho *et al.*, 2019; Figueiredo *et al.*, 2023; Monteiro *et al.*, 2023), poucos estudos foram conduzidos com a microbiota associada aos Campos Sulinos. Somente esforços recentes foram desprendidos para caracterizar as comunidades de fungos nessas formações, porém estes estão limitados às áreas de campo inseridas no Pampa (Andrade *et al.*, 2023). Apesar destas áreas estarem inseridas nos Campos Sulinos, elas apresentam grandes diferenças em sua biota quando comparadas aos CCS, sendo consideradas formações distintas (Overbeck *et al.*, 2022).

Considerando a importância indiscutível e variada dos CSS e a negligência imposta a estas áreas, existe uma urgente necessidade de compreender a microbiota associada a estas formações para a garantia da sua manutenção e de seus inestimáveis serviços ecossistêmicos. Até o presente, nenhum estudo com foco no entendimento de quais táxons compõem a microbiota associada aos CCSs e quais funções eles podem desempenhar nestes ecossistemas foi conduzido. O presente estudo teve como objetivo geral a caracterização taxonômica e funcional da microbiota do solo associado aos CCSs, a partir de sequenciamento de alto rendimento de amostras de solo de áreas preservadas e inseridas no Parque Nacional de São Joaquim, que está entre os parques com a maior porcentagem de áreas de CCS protegidas (Overbeck *et al.*, 2007). As seguintes perguntas fundamentais estabelecem os objetivos específicos deste trabalho: (1) O quão diverso é e qual é a composição da microbiota dos CCSs? (2) O quão homogêneo é a microbiota dos CCSs em escala local? (3) Quais fatores edáficos estão relacionados com a composição da comunidade de fungos nestas formações?

2 DESENVOLVIMENTO

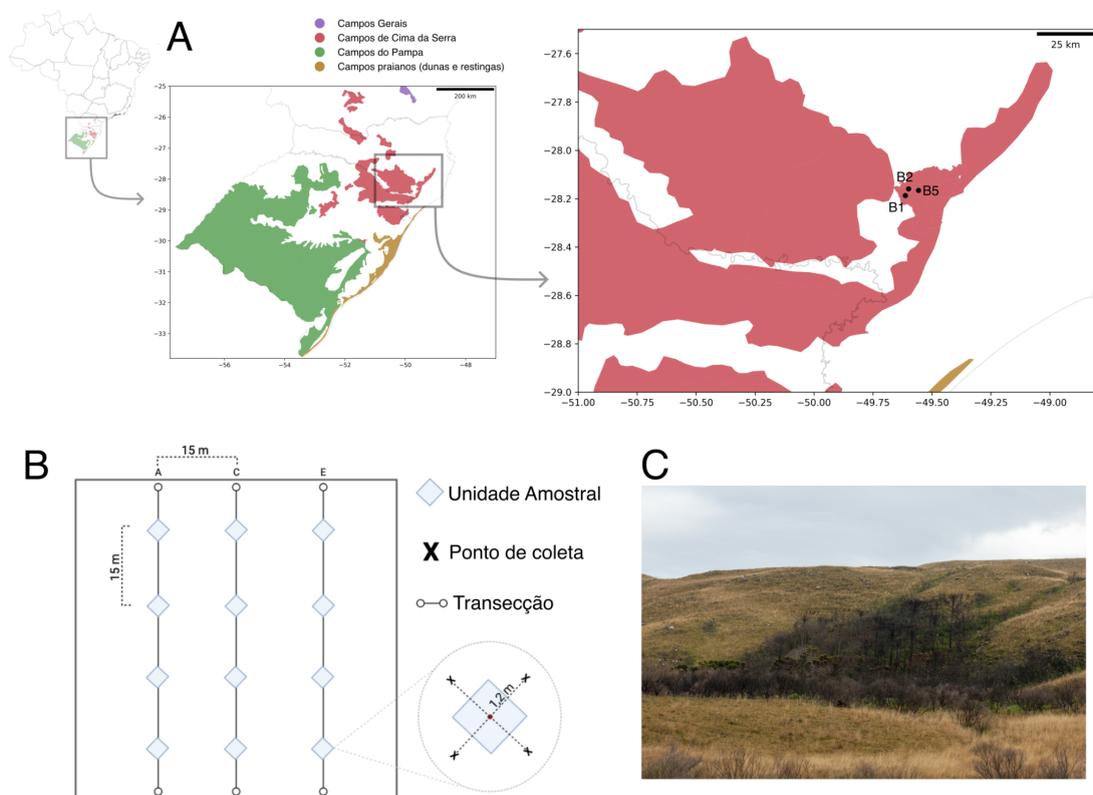
2.1 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1.1 Caracterização da área de amostragem e coleta de solos

As áreas de CCS amostradas estão inseridas no Parque Nacional de São Joaquim, na região Sul do Brasil, integrando parte das áreas associadas aos Campos Sulinos (Figura 1). O clima da região é classificado como temperado com inverno seco e verão chuvoso (*Cwb*, classificação de Koppen-Geiger). As coletas foram realizadas na época seca entre 25 e 27 de maio de 2022, com temperatura média de 10.3°C, máxima de 14°C e mínima de 8°C (INMET, 2022), com

precipitação média anual na região variando entre 1600 a 1900 mm. O desenho amostral empregado foi constituído de três blocos de amostragem com uma distância média de 4.3 km entre si e compostos por doze unidades amostrais (UA) dispostas em três transectos e separadas por 15 m de distância (Figura 1). A distância adotada entre UAs é condizente ou maior do que a adotada em outros estudos envolvendo a microbiota do solo (Grau *et al.*, 2019; Marí *et al.*, 2020; Rosa *et al.*, 2020). Um estudo envolvendo delineamentos de amostragem em blocos semelhantes com o empregado nesse trabalho encontrou autocorrelação espacial entre as amostras, porém a inclusão de amostras espacialmente autocorrelacionadas não afetou significativamente a interpretação dos dados gerados (Buscardo *et al.*, 2021).

Figura 1 – Áreas de amostragem nos Campos de Cima da Serra, formação integrante dos Campos Sulinos (a). As localizações dos blocos estão marcadas pelos pontos pretos e suas nomenclaturas estão indicadas na figura. Esquema de amostragem utilizado em cada uma das três áreas amostradas (b). Representação da fitofisionomia das áreas amostradas (c). A demarcação das diferentes formações dos Campos Sulinos foi baseada na delimitação de Overbeck *et al.* (2022), utilizando um *shapefile* das regiões de campos disponibilizado pelo IBGE (IBGE, 2023).



Cada amostra foi composta por quatro amostras simples coletadas nas arestas das UAs equidistantes a 1.2 m do centro das mesmas. Amostras de solo adjacentes foram coletadas em cada UA para realização de caracterização físico-química do solo. As coletas foram realizadas utilizando um trado cilíndrico de 2.54 cm de diâmetro inserido até uma profundidade de 10 cm. Pontos de coleta coincidentes com afloramentos rochosos ou solo raso foram realocados para área de solo adjacente mais próxima. Para evitar contaminações cruzadas e outras fontes de contaminação, foram utilizadas luvas descartáveis e todos os equipamentos utilizados foram esterilizados utilizando solução de hipoclorito de sódio 1% entre cada UA. Imediatamente após a coleta em saco plástico estéril, as amostras compostas foram armazenadas em caixas térmicas com temperaturas abaixo de 4°C. As amostras compostas foram homogeneizadas através de agitação rigorosa do seu conteúdo por 2-5 minutos, alíquotas foram retiradas em tubos Eppendorf de 2 mL e transferidas para freezer a -20°C até o processamento.

2.1.2 Caracterização físico-química do solo

As amostras de solos adjacentes às coletadas para sequenciamento foram secas ao ar, destorroadas, passadas em peneira com malha de 2 mm e submetidas à análises físicas e químicas para determinação de Argila, pH, Al³⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺, K⁺, H⁺, H⁺ + Al³⁺, P⁵⁺, S, T, V, Ca/Mg, Ca/K, Mg/K, seguindo a metodologia de Teixeira *et al.* (2017).

2.1.3 Extração, quantificação de DNA total e sequenciamento

Para cada amostra, 125-250 mg de solo foram submetidos a extração de DNA total utilizando o kit de extração ZymoBIOMICS DNA Miniprep Kit (Zymo Research, California, Estados Unidos), seguindo as recomendações do fabricante. As extrações de DNA total foram quantificadas utilizando 2 µL de solução em um espectrofotômetro de absorção NanoVue (GE Healthcare, Chicago, Estados Unidos). As amostras de DNA total de alta qualidade foram sequenciadas na plataforma de sequenciamento de alto rendimento Illumina HiSeq 2500 (Illumina, Califórnia, Estados Unidos), utilizando metodologia *pair-ended* com sequências de 150 pares de base.

2.1.4 Análise bioinformática das sequências geradas

Ao total, 32 amostras foram sequenciadas com sucesso e as sequências resultantes foram avaliadas quanto sua qualidade (*Phred score*) utilizando os softwares FastQC v0.12.0 (Andrews, 2010) e MultiQC v1.13 (Ewels *et al.*, 2016). Já que as sequências apresentaram alta qualidade (*Phred score* médio = 35.64, mínimo = 33.94 e máximo = 36.45), não foram aplicados filtros de qualidade para a remoção de sequências. Para realizar a extração de sequências provenientes da região Espaçadora Interna Transcrita (*Internal Transcribed Spacer - ITS*) do RNA ribossomal nuclear, considerada o *barcoding* universal de espécies de fungos (Schoch *et al.*, 2012), e posterior classificação taxonômica, o software SortMeRNA v4.3.6 (Kopylova; Noé; Touzet, 2012) foi utilizado para alinhar as sequências de todas as amostras contra a base de dados UCHIME v9.0 (Nilsson *et al.*, 2015), que contém sequências completas e taxonomicamente anotadas da região ITS de espécies de fungos.

Após o alinhamento e extração de sequências representantes da região ITS, estas passaram por filtros de qualidade através de scripts pessoais escritos em Python v3.9 (Van Rossum; Drake, 2009). Apesar do tamanho das sequências geradas serem condizentes com o tamanho mínimo utilizado em estudos relacionados a microbiota (Canini *et al.*, 2019; Figueiredo *et al.*, 2023; Klavina *et al.*, 2023; Ogaki *et al.*, 2021; Rosa *et al.*, 2021), estas são relativamente pequenas quando comparadas com o tamanho médio das sequências de referência da região ITS contidas na base de dados utilizada. Portanto, critérios adstringentes foram utilizados nos filtros de qualidade das sequências taxonomicamente anotadas, com o objetivo de evitar alinhamentos espúrios com as sequências de referência. Sequências com cobertura menor do que 90% no alinhamento com a sequência referência e probabilidade de alinhamento aleatório maior do que 0.05 foram descartadas. Ainda, sequências não classificadas como pertencentes ao reino Fungi foram também descartadas. Para as sequências que retornaram mais de um alinhamento possível, o alinhamento de maior qualidade foi selecionado com base nos parâmetros e limiares citados acima, em conjunto com a porcentagem de identidade em relação a sequência de referência, tamanho do alinhamento resultante e *bit-score* do alinhamento.

A confiança na classificação taxonômica e escolha do nível taxonômico associado a cada sequência foram determinados a partir da utilização de limiares

mínimos de porcentagem de identidade dos alinhamentos. Os limiares mínimos foram definidos como porcentagem de identidade maior ou igual a (\geq) 93% para gênero, \geq 91% para família, \geq 88% para ordem, \geq 85% para classe, \geq 80 para filo e \geq 70% para reino, seguindo padrões semelhantes de similaridade para a região ITS definidos por Vu *et al.*, (2018). Sequências com porcentagem de identidade menor do que 70% não foram consideradas em nenhum nível taxonômico. A identidade não foi realizada até o nível de espécie devido a dificuldade de delimitação de espécies em diversos grupos com base somente na região ITS (Hibbett, 2016). Os modos tróficos dos gêneros identificados foram definidos utilizando a base de dados FunGuild (Nguyen *et al.*, 2016), que anota a funcionalidade dos táxons a partir de dados de estudos fisiológicos e do conhecimento de especialistas. São definidos três grandes grupos com diferentes modos tróficos, sendo estes, simbiotróficos (táxons que realizam associações simbióticas com outros organismos), saprotróficos (táxons que possuem a capacidade de degradar matéria orgânica a partir de diferentes substratos) e patotróficos (táxons que reconhecidamente causam doenças em outros organismos).

Foram mantidos somente os gêneros com identidades prováveis e altamente prováveis. Gêneros que foram identificados como pertencentes a dois modos tróficos foram considerados para ambos modos.

2.1.5 Análises estatísticas

Todas as análises foram realizadas utilizando scripts escritos em R v4.2.2 (R Language, 2023). Tabelas de abundância relativas foram construídas a nível de ordem e gênero para cada uma das amostras através da multiplicação por 100 do quociente resultante da divisão do número total de sequências de um determinado táxon pelo total de sequências presentes na amostra e identificadas ao mesmo nível taxonômico. Como as amostras apresentaram diferentes números totais de sequências representantes da região ITS, a tabela de gêneros com números absolutos de sequências por táxon foi rarefeita utilizando 1000 iterações ao nível de amostra para a menor contagem de sequências ($N = 287$), utilizando a função *rrarefy* do pacote *vegan* v2.6.4 (Oksanen *et al.*, 2019). Para cada iteração, os valores resultantes foram armazenados e a média entre as 1000 iterações foi utilizada como

tabela final. Os índices de diversidade alfa Shannon e Simpson foram calculados a nível de amostras.

A comunidade principal de gêneros de fungos foi definida a partir da intersecção de gêneros entre as três áreas amostradas e visualizada utilizando um diagrama de Venn gerado com a função *venn.diagram* do pacote *VennDiagram* v1.7.3 (Chen; Boutros, 2011). A construção do diagrama de Venn foi realizada com os dados não rarefeitos, a fim de evitar a potencial exclusão de gêneros identificados em blocos com amostras de maior profundidade no sequenciamento. Análises de abundância diferencial para gêneros presentes em todos os blocos e com abundância relativa média maior ou igual a 5% em ao menos um dos blocos foram realizadas utilizando o teste de análise de variância não paramétrico Kruskal-Wallis (Kruskal; Wallis, 1952) seguido do teste *post-hoc* de comparações múltiplas de Dunn (Dunn, 1964), utilizando as funções *kruskal.test* do pacote *base stats* v4.2.2 e *dunnTest* do pacote *FSA* v0.9.5 (Ogle *et al.*, 2023), respectivamente. Os mesmos testes foram aplicados para os índices de diversidade alfa entre blocos.

Para a visualização das similaridades das comunidades de gêneros e modos tróficos entre amostras, ordenações multivariadas foram construídas utilizando Escalonamento Multidimensional Não Métrico com a medida de dissimilaridade de Bray-Curtis (Bray & Curtis, 1957), duas dimensões ($k = 2$) e um máximo de 500 iterações (*trymax* = 500), com base na tabela de gêneros rarefeita transformada utilizando a transformação de Hellinger (Legendre & Gallagher, 2001). A função *metaMDS* do pacote *vegan* v2.6.4 foi utilizada para a construção da ordenação. Para estimar o efeito dos locais de coleta e variáveis edáficas na variação da composição da comunidade de gêneros e dos diferentes modos tróficos, modelos baseados em análises de variância multivariadas com permutação (perMANOVA, Anderson, 2017) foram construídos utilizando matrizes de dissimilaridade de Bray-Curtis geradas a partir das tabelas de gênero e modos tróficos rarefeitas transformadas utilizando a transformação de Hellinger, com um total de 9999 permutações. Para evitar multicolinearidade nos modelos gerados, variáveis edáficas com alto fator de inflação de variância (VIF) foram excluídas até que todas as variáveis atingissem $VIF < 5$ entre si. Ainda, as variáveis edáficas foram normalizadas utilizando a função *decostand* com os parâmetros *method* = 'standardize' e *scale* = TRUE. Foram gerados dois tipos de modelos de perMANOVA, modelos testando as variáveis de maneira única e independente, e um modelo final incluindo todas as variáveis não

correlacionadas. Para todas as análises realizadas, um valor- $p < 0.05$ foi considerado como indicativo de significância estatística. O pacote dplyr v1.1.3 (Wickham, 2019) foi utilizado para o tratamento e manipulação de dados e as visualizações foram construídas utilizando o pacote ggplot2 v3.4.4 (Wickham, 2011).

2.2 RESULTADOS

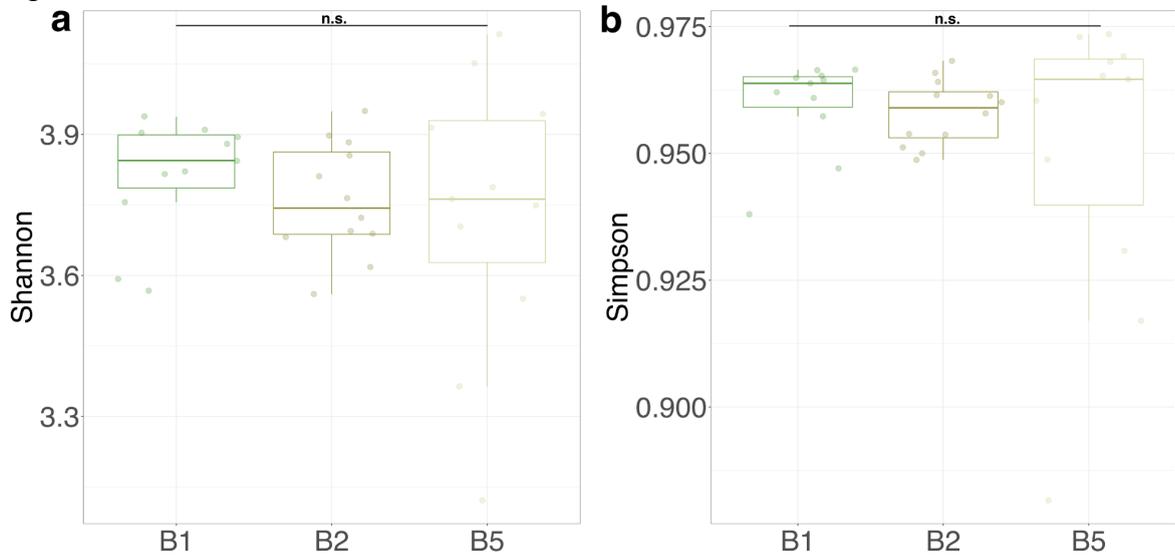
2.2.1 Sequências geradas representantes da micobiota dos Campos de Cima da Serra

Foram extraídas ao total 2.245.929 sequências representativas da região ITS no alinhamento com a base de dados referência. Destas, 149.570 foram retidas após a aplicação dos filtros de qualidade utilizados, sendo consideradas representantes do reino Fungi. Após a aplicação dos filtros de qualidade para a identidade, 87.3% das sequências foram recuperadas em até filo, 77.2% até classe, 69.6% até ordem, 49.7% até família e 39.2% até gênero.

2.2.2 Diversidade alfa da micobiota dos Campos de Cima da Serra a nível de gênero

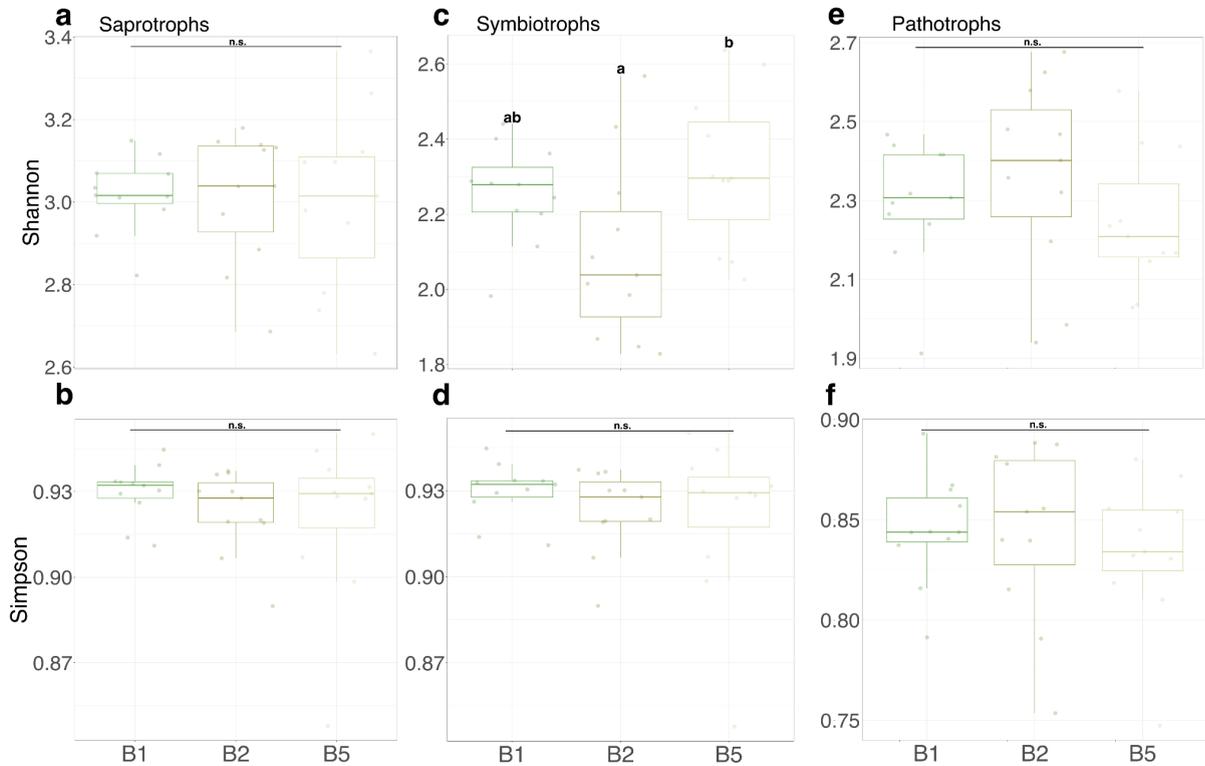
As áreas amostradas apresentaram índices de diversidade alfa de Shannon similares, sem diferenças estatísticas significantes entre blocos (Chi-quadrado = 1.01, $p = 0.60$, $df = 2$) (Figura 2a). O mesmo padrão de não significância estatística foi encontrado para o índice de Simpson (Chi-quadrado = 0.81, $p = 0.66$, $df = 2$). Apesar disso, o bloco B1 apresentou o maior valor médio do índice de Shannon, com uma média de 3.81 (desvio padrão = 0.12), seguido de B2 (média = 3.76, desvio padrão = 0.12) e B5 (média = 3.73, desvio padrão = 0.29). Para o índice de Simpson, a média dos bloco apresentaram pequenas diferenças (B1 = 0.959, B2 = 0.958, B5 = 0.95), e assim como para o índice de Shannon, a dispersão intra-bloco é maior em B5 (desvio padrão = 0.02) quando comparado com B1 (desvio padrão = 0.009) e B2 (desvio padrão = 0.006).

Figura 2 – Índices de Shannon (a) e Simpson (b) calculados com base nos gêneros detectados nas áreas amostradas de Campos de Cima da Serra. n.s. = não significativo.



Para os modos tróficos identificados, os índices de diversidade alfa apresentaram padrões similares aos encontrados para a comunidade geral de gêneros (Figura 3). Os valores dos índices de Shannon e Simpson são semelhantes entre blocos, e exceto para o índice de Shannon para simbiotróficos, não existem diferenças com significância estatística (Figura 3). O bloco B2 possui uma média do índice de Shannon de simbiotróficos menor em comparação com os blocos B1 e B5, sendo estatisticamente diferente do bloco B5 (Figura 3c). Os mesmos padrões de dispersão de valores intrabloco observados na comunidade total para os índices de diversidade alfa calculados são observáveis nos índices calculados para cada modo trófico identificado na comunidade.

Figura 3 – Índices de Shannon e Simpson calculados para os gêneros saprotróficos (a, b), simbiotróficos (c, d) e patotróficos (e, f) detectados nas áreas amostradas de Campos de Cima da Serra. Diferenças estatísticas significantes entre as áreas amostradas estão indicadas por letras de acordo com teste *post-hoc* de Dunn. n.s. = não significativo.

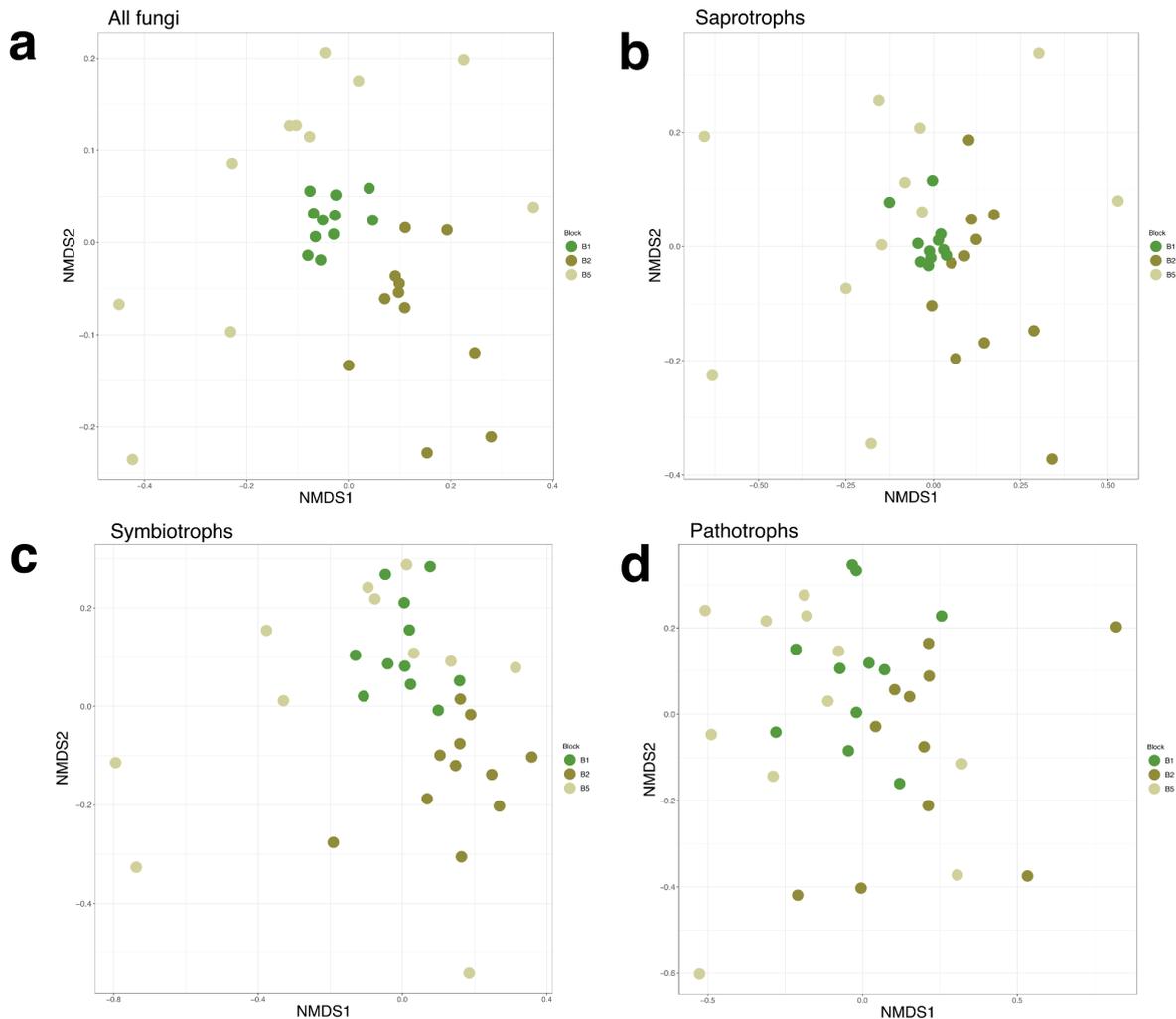


2.2.3 Composição da comunidade de gêneros da microbiota dos Campos de Cima da Serra

A comunidade total de gêneros detectados é estruturada de acordo com os blocos de origem, resultando em três comunidades claramente distintas e com diferentes dissimilaridades internas (Figura 4a), com a variável explicando 15.6% da variação observada (Tabela 1). Para os modos tróficos detectados a estruturação com base nos blocos amostrados também é visualmente evidente, porém menos clara do que na comunidade total (Figura 4b-d), com exceção dos gêneros saprotróficos (Figura 8b). Porém, os resultados da perMANOVA corroboram as ordenações, já que dentre as variáveis testadas, quando consideradas independentemente, a origem da amostra (bloco) é a variável que mais explica a composição das comunidades totais de gêneros e modos tróficos recuperados

(Tabela 1). O mesmo ocorre quando as variáveis são consideradas em conjunto no modelo final (Tabela 2).

Figura 4 – Ordenações construídas utilizando Escalonamento Multidimensional não Métrico e a medida de dissimilaridade de Bray-Curtis, duas dimensões ($k = 2$) e um máximo de 500 iterações ($trymax = 500$). Foram utilizadas matrizes rarefeitas e transformadas utilizando a transformação de Hellinger. Toda a comunidade de gêneros, stress = 0.143 (a). Gêneros saprotróficos, stress = 0.158 (b). Gêneros simbiotróficos, stress = 0.136 (c). Gêneros patotróficos, stress = 0.167 (d).



O bloco de origem explica de 12.1% até 17.9% da variação observada nos modos tróficos (Tabela 1 e 2). O teor de P foi a segunda variável que melhor explicou de maneira independente a composição observada da comunidade total, com 7% da variação atribuída. O teor de Al, Mg, porcentagem de matéria orgânica (M.O.) e CTC explicaram de maneira independente porcentagens similares da variação observada na comunidade total. O mesmo padrão de variáveis independentemente significantes foi observado para a comunidade de gêneros

saprotroóficos e patotroóficos, com exceção da porcentagem de matéria orgânica para o último caso. A composição da comunidade de gêneros simbiotroóficos teve como variáveis significantes somente a origem da amostra e o teor de P, explicando 17.9% e 9.5% da variação, respectivamente, com o teor de Al sendo marginalmente não significante. Dentre o restante das variáveis não correlacionadas e testadas em modelos independentes, somente a porcentagem de argila, o pH e teor de K não foram significativas para toda a comunidade de gêneros. O mesmo padrão de não significância se manteve para os modelos considerando os modos troóficos identificados. As variáveis edáficas utilizadas nos modelos de perMANOVA estão ilustradas no Apêndice A.

Tabela 1 – Variáveis não correlacionadas ($VIF < 5$) testadas de maneira independente com perMANOVA baseada em matrizes de dissimilaridade de Bray-Curtis dos gêneros e modos troóficos identificados, rarefeitas e transformadas utilizando a transformação de Hellinger, com um total de 9999 permutações. A variação explicada por cada modelo (R^2) está indicada em porcentagem. Variáveis com significância estão indicadas em negrito. * = marginalmente não significante.

	Comunidade total			Saprotroóficos			Simbiotroóficos			Patotroóficos		
	F	R ²	p	F	R ²	p	F	R ²	p	F	R ²	p
Bloco	2.79 1	15.69 2	0.001	2.07 7	12.15 7	0.00 1	3.281 17.949	17.949	0.001	2.30 0	13.296	0.001
% Argila	1.16 3	3.623	0.163	1.15 1	3.582	0.18 0	1.223	3.797	0.200	1.20 2	3.733	0.177
pH	1.07 3	3.347	0.289	1.113	3.467	0.22 8	0.942	2.951	0.484	1.15 6	3.597	0.214
P	2.33 5	7.007	0.001	1.58 2	4.855	0.00 7	3.257	9.509	0.001	1.83 6	5.593	0.006
K	0.85 8	2.693	0.739	0.74 0	2.334	0.94 0	0.645 7	2.040	0.898	0.82 9	2.605	0.732
M.O.	1.41 5	4.368	0.038	1.33 2	4.122	0.04 2	1.304	4.038	0.153	1.23 8	3.841	0.127
Al	1.69 4	5.182	0.006	1.84 6	5.621	0.00 1	1.503	4.624	0.078 *	1.47 1	4.531	0.039
Mg	1.58 3	4.860	0.022	1.67 4	5.125	0.01 6	1.339	4.143	0.144	1.63 9	5.024	0.032
CTC	1.48 5	4.573	0.021	1.37 7	4.255	0.03 0	1.458	4.494	0.088 *	1.39 2	4.300	0.063

Quando consideradas em conjunto no modelo final (Tabela 2), somente o bloco de origem e o teor de Mg são estatisticamente significativos para a comunidade total de gêneros, explicando 15.6% e 4.181% da variação observada, respectivamente (Tabela 2). O pH é marginalmente não significativo no modelo conjunto, com 3.458% da variação observada sendo explicada pela variável. O mesmo padrão é observado para os modos tróficos identificados, com exceção do teor de Mg para gêneros simbiotróficos, que explica 4.302% da variação observada de maneira marginalmente não significativa, o que contrasta com o modelo incluindo somente o teor de Mg, onde a variável não possui significância estatística (Tabela 1). De maneira geral, o bloco de origem e o teor de Mg explicam a mesma porcentagem da variação observada quando os modelos independentes são comparados com o modelo final (Tabela 1 e 2).

Tabela 2 – Variáveis não correlacionadas ($VIF < 5$) testadas em conjunto no modelo final de perMANOVA, adicionadas sequencialmente e com base baseada em matrizes de dissimilaridade de Bray-Curtis dos gêneros e modos tróficos identificados, rarefeitas e transformadas utilizando a transformação de Hellinger, com um total de 9999 permutações. A variação explicada por cada variável (R^2) está indicada em porcentagem. Variáveis com significância estão indicadas em negrito. * = marginalmente não significativa.

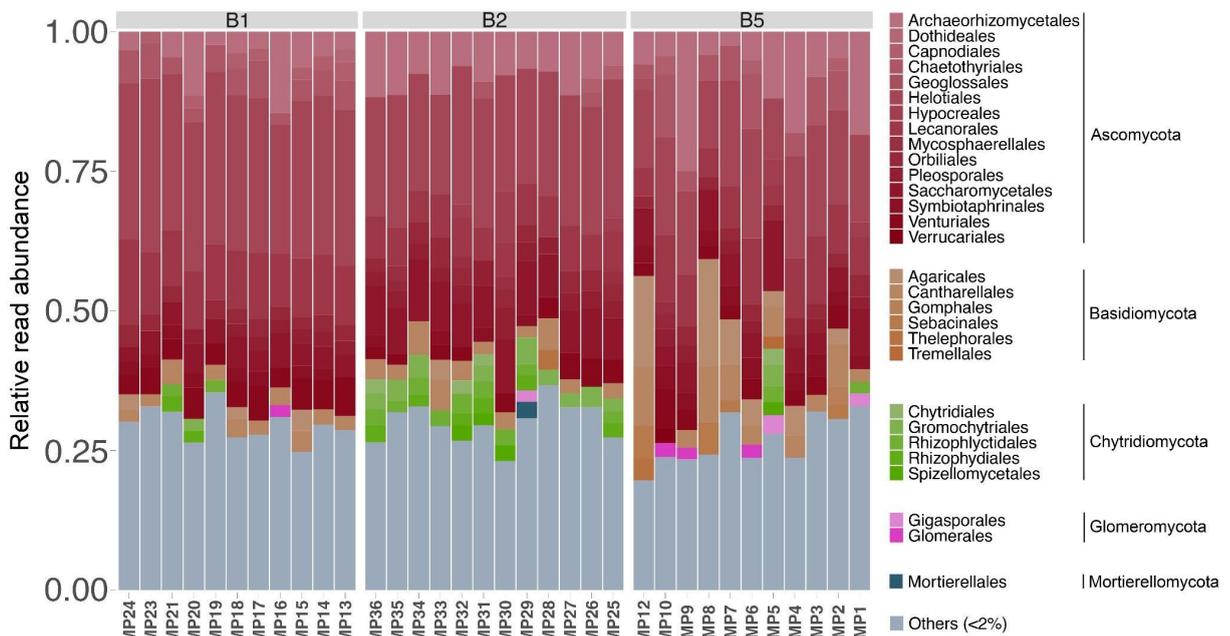
	Comunidade total			Saprotróficos			Simbiotróficos			Patotróficos		
	F	R ²	p	F	R ²	p	F	R ²	p	F	R ²	p
Bloco	2.85 4	15.69 2	0.001	2.009 8	12.15 7	0.00 1	3.40 4	17.94 9	0.001	2.370	13.296	0.001
% Argila	1.05 8	2.908	0.298	1.007	2.918	0.42 4	1.14 3	3.014	0.255	1.050	2.947	0.364
pH	1.25 8	3.458	0.093 *	1.113	3.224	0.23 3	1.411	3.720	0.109	1.285	3.606	0.113
P	0.94 0	2.584	0.551	0.848	2.457	0.81 3	1.23 4	3.254	0.191	0.811	2.275	0.807
K	0.93 1	2.559	0.564	0.887	2.572	0.69 6	0.94 7	2.497	0.484	0.840	2.358	0.730
M.O.	0.92 7	2.550	0.580	0.923	2.674	0.62 4	0.95 9	2.529	0.466	0.948	2.661	0.526
Al	1.13 2	3.112	0.196	1.166	3.378	0.16 3	1.06 9	2.820	0.337	1.141	3.202	0.230
Mg	1.52 1	4.181	0.032	1.590	4.605	0.03 0	1.63 2	4.302	0.068 *	1.732	4.859	0.01

CTC	Comunidade total			Saprotróficos			Simbiotróficos			Patotróficos		
	0.90 7	2.494	0.640	0.793	2.299	0.90 8	0.72 9	1.923	0.806	1.101	3.089	0.282

2.2.4 Composição taxonômica e grupos funcionais da micobiota dos Campos de Cima da Serra

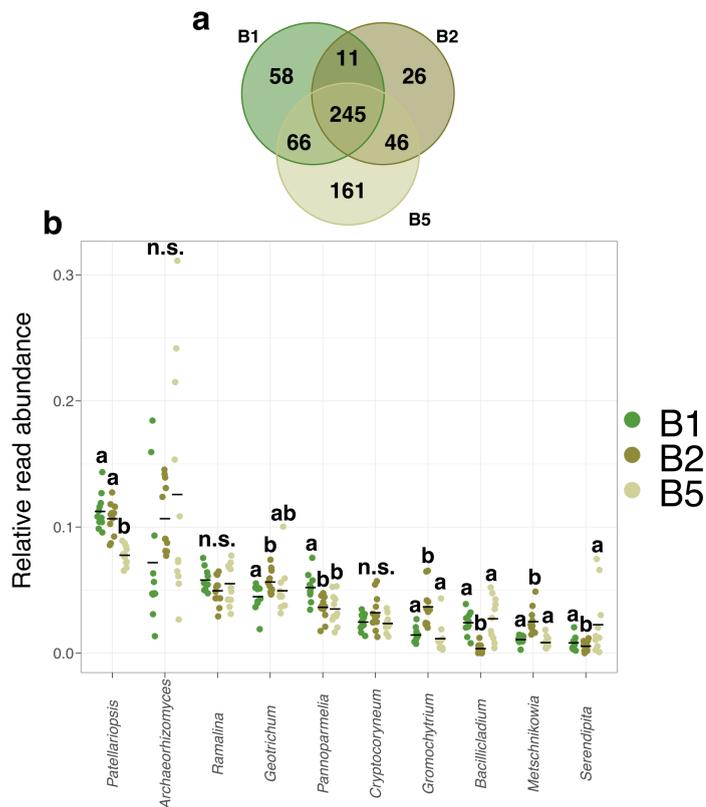
Apesar de terem sido detectados 18 filós ao total, Ascomycota é dominante nas áreas amostradas, seguido de Basidiomycota e Chytridiomycota, todos representados por ordens com abundâncias relativas maiores do que 2% (Figura 5). Glomeromycota e Mortierellomycota também possuem ordens representantes com abundância relativa acima de 2%, porém somente em amostras pontuais (Figura 5). Das 29 principais ordens detectadas, Helotiales (Ascomycota), Lecanorales (Ascomycota), Archaeorhizomycetales (Ascomycota), Agaricales (Basidiomycota) e Saccharomycetales (Ascomycota) apresentam as maiores abundâncias relativas médias entre as áreas amostradas, com 22.1%, 8.7%, 8.1%, 6.4% e 6.4% da porcentagem total das principais ordens, respectivamente. Dentre as ordens de Chytridiomycota, Gromochytriales apresenta a maior abundância relativa média entre as áreas, com 3.24%.

Figura 5 – Abundância relativa das ordens e seus respectivos filós detectadas nas áreas amostradas de Campos de Cima da Serra. Ordens com abundância relativa <2% estão agrupadas para melhor visualização (dados não rarefeitos).



Foram detectados 613 gêneros de fungos nas 32 amostras representantes dos solos dos CCS, sendo que 245 destes estão presentes em todas as áreas amostradas, constituindo a comunidade principal de gêneros dos CCS (Figura 6a. A lista completa de gêneros pode ser baixada em https://drive.google.com/file/d/1BUiStA-WiBbffVrFjapv4eHO2kO9BZDp/view?usp=share_link). O bloco B5 apresentou o maior número de gêneros exclusivos, assim como o maior número de gêneros compartilhados entre os demais blocos. Dentre a comunidade principal, a maior parte dos gêneros apresentam abundâncias relativas baixas (<5%), representando em média 69% do total da comunidade principal entre todas as amostras (Figura 7). Dez gêneros apresentaram abundâncias relativas maiores do que 5% em ao menos um dos blocos, sendo *Archaeorhizomyces* Rosling & T. James 2011 (Archaeorhizomycetales, Ascomycota), *Patellariopsis* Dennis 1964 (Helotiales, Ascomycota), *Ramalina* Ach. 1809 (Lecanorales, Ascomycota) e *Geotrichum* Link 1809 (Saccharomycetales, Ascomycota) os gêneros com maiores abundâncias relativas médias entre todas as amostras, representando 12.1%, 10.1%, 6.1% e 6% da comunidade principal, respectivamente.

Figura 6 – Diagrama de Venn da comunidade principal de gêneros detectados nos solos de áreas de Campos de Cima da Serra e gêneros exclusivos de cada área amostrada (dados não rarefeitos) (a). Gêneros presentes na comunidade principal com abundância relativa média maior do que 5% em ao menos uma das três áreas amostradas (dados rarefeitos) (b). Médias estão representadas pelas barras pretas. Diferenças estatísticas significantes entre as áreas amostradas estão indicadas por letras de acordo com teste *post-hoc* de Dunn. n.s. = não significativo.

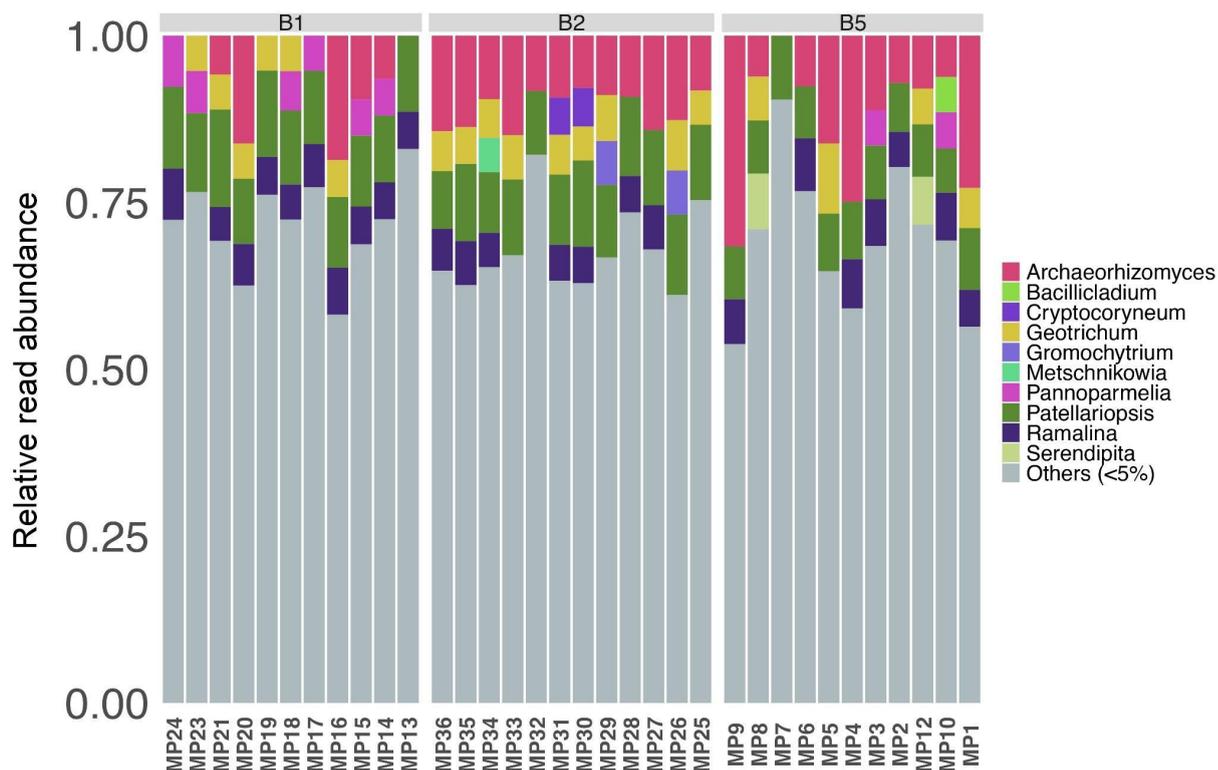


Dentre estes gêneros, *Archaeorhizomyces* apresentou diferenças marginalmente não significantes em sua abundância relativa entre blocos (Chi-quadrado = 5.75, $p = 0.056$, $df = 2$), enquanto que *Ramalina* (Chi-quadrado = 3.07, $p = 0.21$, $df = 2$) e *Cryptocoryneum* Fuckel 1870 (Pleosporales, Ascomycota) (Chi-quadrado = 3.19, $p = 0.20$, $df = 2$) não apresentaram diferenças (Figura 6b). *Patellariopsis* está presente em maior abundância nos blocos B1 e B2 quando comparado com B5 (Chi-quadrado = 20.89, $p < 0.001$, $df = 2$). Um padrão similar pode ser observado para *Pannoparmelia* (Mull. Arg.) Darb. 1912 (Lecanorales, Ascomycota), porém o gênero possui maior abundância relativa em B1 (Chi-quadrado = 11.92, $p < 0.01$, $df = 2$), e não apresenta diferenças entre B2 e B5 (Figura 6b).

Gromochytrium Karpov & Aleoshin, 2014 (Gromochytriales, Chytridiomycota) (Chi-quadrado = 19.11, $p < 0.001$, $df = 2$) e *Metschnikowia* T. Kamiński 1900 (Saccharomycetales, Ascomycota) (Chi-quadrado = 22.75, $p < 0.001$, $df = 2$) apresentam padrões similares de abundância relativa entre as áreas amostradas, com maiores valores em B2 e sem diferenças estatisticamente significantes entre B1 e B5. O padrão inverso é verdadeiro para o caso de *Bacillicladium* Hubka, Réblová & Thureborn 2016 (Chaetothyriales, Ascomycota) (Chi-quadrado = 20.02, $p < 0.001$, df

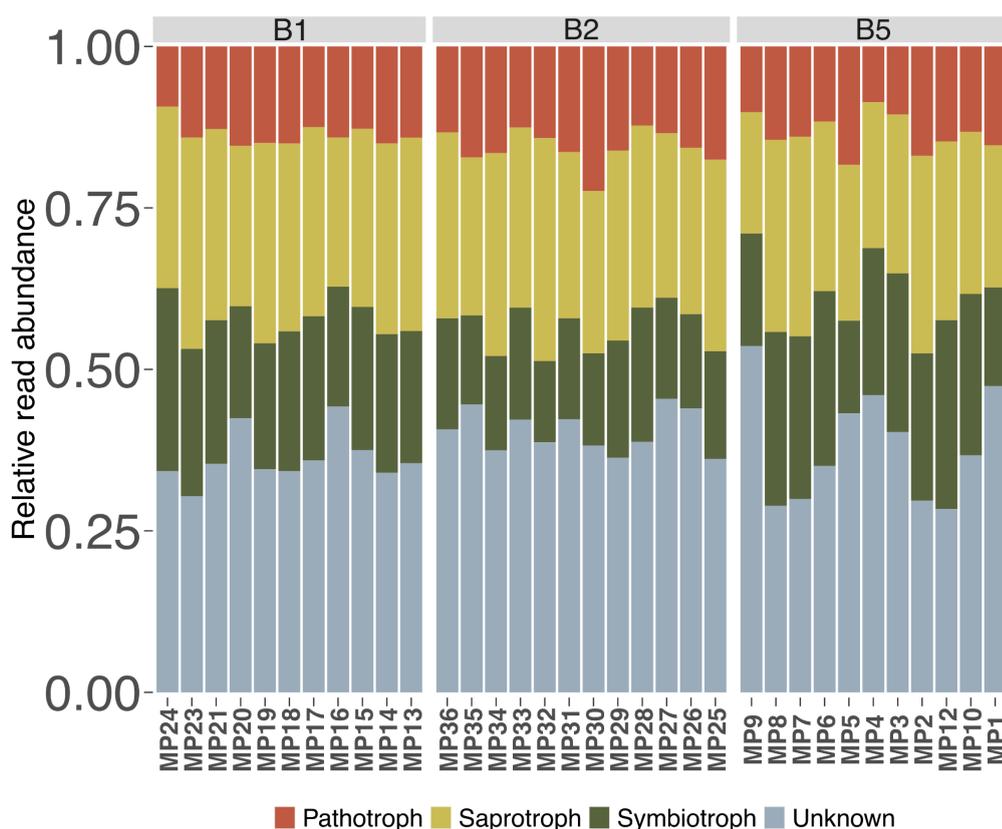
= 2) e *Serendipita* P. Roberts 1993 (Sebacinales, Basidiomycota) (Chi-quadrado = 6.81, $p < 0.05$, $df = 2$). *Geotrichum* (Chi-quadrado = 6.36, $p < 0.05$, $df = 2$) apresenta diferenças somente entre os blocos B1 e B2, sendo B5 semelhante aos dois outros blocos (Figura 6b).

Figura 7 – Abundância relativa dos gêneros da comunidade principal detectada nas áreas amostradas de Campos de Cima da Serra. Gêneros com abundância relativa <5% estão agrupados para melhor visualização (dados não rarefeitos).



Em termos de funcionalidade, a micobiota das áreas amostradas apresenta uma maior dominância de gêneros saprotróficos, com uma média de 27.5% do total da abundância relativa entre todas as amostras de todas as áreas. A abundância relativa média geral de gêneros simbiotróficos é de 20%, seguida de gêneros patotróficos, com 14.3%. Entre amostras e blocos, as abundâncias relativas dos modos tróficos detectados são semelhantes, com uma alta taxa de gêneros com modos tróficos desconhecidos (Figura 8).

Figura 8 – Abundância relativa dos modos tróficos detectados nas áreas amostradas de Campos de Cima da Serra (dados não rarefeitos).



2.3 DISCUSSÃO

2.3.1 Diversidade alfa e composição das comunidades associadas a micobiota do solo dos Campos de Cima da Serra Catarinense

O entendimento de quais e como as variáveis ambientais determinam a composição da comunidade de fungos é essencial para compreender como estas responderão a distúrbios em seu habitat (Looby; Treseder, 2018), visto que há consenso sobre a micobiota ser fortemente influenciado pelo ambiente (Tedersoo *et al.*, 2014; Tedersoo *et al.*, 2022). Neste estudo, as comunidades de gêneros detectadas nas diferentes áreas de CCS amostradas foram avaliadas quanto a sua similaridade, além de buscar entender quais variáveis ambientais podem explicar as diferenças entre suas composições. Apesar das áreas amostradas apresentarem homogeneidade nos índices de diversidade alfa calculados (Figuras 2 e 3), e nas abundâncias relativa dos modos tróficos identificados (Figura 8), a composição das comunidades totais de gêneros detectadas são claramente distintas (Figura 4), sendo explicadas principalmente pelas áreas de origem das amostras (Tabela 2).

As análises de abundâncias relativas diferenciais conduzidas para os gêneros mais abundantes também apontam para diferenças observadas entre as comunidades (Figura 6a). Considerando a distância entre as áreas de CCS amostradas (Figura 1), uma possível explicação para a dissimilaridade observada é uma estrutura local heterogênea da microbiota, que é observada em diferentes ecossistemas terrestres (Bittebiere *et al.*, 2019; Zinger *et al.*, 2018). Adicionalmente, a alta dissimilaridade entre as amostras da área B5 em relação às outras áreas amostradas (Figura 4) pode ser um indício da presença de microhabitats nos solos dos CCS, um fator importante na estruturação da microbiota em escala local (Yamauchi *et al.*, 2021). As diferentes composições das comunidades das áreas amostradas neste trabalho em escala local deixam claro a importância da conservação dos CCS de maneira ampla, já que, visto a grande extensão dessas áreas, componentes fortemente distintos da biodiversidade podem estar associados a microhabitats únicos ao longo dos CCS.

Ainda, a homogeneidade das abundâncias relativas dos modos tróficos encontrada entre as áreas (Figura 8) pode indicar para uma similaridade funcional (Eisenhauer; Maestre; Rillig, 2023) presente na microbiota dos CCS, padrão que é observado em comunidades de fungos do solo (Banerjee *et al.*, 2016) e aceito principalmente para escalas locais em modelos matemáticos sobre a distribuição de grupos funcionais (Loreau, 2004). Especialmente em áreas de campos, a similaridade funcional garante a manutenção dos serviços ecossistêmicos desempenhados pela microbiota (Wagg *et al.*, 2019). Adicionalmente, e de maneira condizente, as ordenações geradas para os modos tróficos detectados indicam para comunidades funcionais mais semelhantes quando comparadas com as ordenações das comunidades totais (Figura 4).

Portanto, estudos futuros focados na estrutura local e regional e na redundância dos diferentes grupos funcionais da microbiota dos CSS auxiliarão a entender quais destes grupos possuem menor redundância e são exclusivos de determinadas áreas dos CCS, permitindo a identificação de grupos prioritários nas ações de conservação (Walker, 1992). Um exemplo de um potencial grupo não redundante detectado neste trabalho é o gênero *Serendipita*, que foi identificado em abundâncias relativas significantes somente em duas amostras. O táxon faz parte da comunidade de gêneros simbiotróficos e desempenha um importante papel no crescimento e sobrevivência vegetal (Liu *et al.*, 2019; Mosaddeghi *et al.*, 2021) se

associando com espécies de orquídeas em outras regiões de campos no Brasil (Pereira *et al.*, 2023), e portanto sendo essencial na manutenção de parte da biodiversidade dos CCS.

Apesar da homogeneidade dos modos tróficos observada nas áreas de CCS amostradas, a comunidade saprotrófica detectada é principalmente composta por gêneros de madeira e de substrato indefinido. Potencialmente, o alto teor de matéria orgânica presente nos solos das áreas amostradas, variável que é correlacionada de maneira positiva com a ocorrência de fungos saprotróficos nos solos de ecossistemas de altitude (Mayer *et al.*, 2021) e outros ecossistemas terrestres (Kyaschenko *et al.*, 2017) pode influenciar esse padrão observado. Uma possível explicação alternativa para a dominância de saprotróficos de madeira é a influência dos fragmentos florestais ao redor dos campos, onde esporos de espécies do grupo funcional podem chegar até as áreas de CCS, visto a possibilidade de detecção dos mesmos através de DNA ambiental (Tordoni *et al.*, 2021). Outro aspecto importante dos modos tróficos detectados é a dominância de patógenos de animais e plantas dentre os gêneros patotróficos encontrados neste trabalho. Apesar de apresentar a menor abundância relativa dentre os modos tróficos detectados, é esperado que a abundância de espécies patogênicas aumente em ecossistemas de campo nas regiões tropicais (Oliveira *et al.*, 2020) com os cenários de aumento de temperatura previstos (Brown; Caldeira, 2017). Portanto, a presença desses grupos em abundâncias relativas significativas nos solos dos CCS devem ser monitoradas, evitando com que as formações se tornem fontes de doenças emergentes.

Quando consideradas em conjunto no modelo de perMANOVA (Tabela 2), a maior parte das variáveis edáficas medidas e testadas neste trabalho não apresentaram efeitos na modulação das comunidades de gêneros detectadas. Somente o teor de Mg se mostrou relevante, sendo significativo na modulação da composição das comunidades totais de gêneros e dos modos tróficos identificados, com exceção da comunidade de simbiotróficos, onde a variável é marginalmente não significativa. O pH se mostrou marginalmente não significativo para as comunidades totais e não significativo para a composição de todos os modos tróficos, contrastando com os padrões globais observados nos solos (Bahram *et al.*, 2018; Tedersoo *et al.*, 2014; Tedersoo *et al.*, 2022) e em áreas de campos (Ochoa-Hueso *et al.*, 2018; Luo *et al.*, 2023). Dessa forma, esses resultados indicam que potencialmente a composição das comunidades dos CCS podem ser

majoritariamente estruturadas por outras variáveis edáficas não incluídas neste trabalho, como o teor de C, N e P que são constantemente recuperados como importantes estruturadores da composição das comunidades de fungos nos solos de campos, assim como a vegetação (Klabi *et al.*, 2015). Portanto, apesar dos avanços feitos aqui, estudos futuros devem considerar os fatos citados para avançar no entendimento das variáveis que estruturam as comunidades da microbiota dos CCS.

2.3.2 Composição taxonômica da microbiota associada aos Campos de Cima da Serra

A grande biodiversidade resguardada nos Campos Sulinos na região Sul do Brasil é única, e apesar disso, se encontra em risco pelo negligenciamento imposto sobre estas áreas (Overbeck *et al.*, 2022; Overbeck *et al.*, 2007). Além disso, para algumas formações inseridas na área, como os Campos de Cima da Serra, pouco se conhece sobre a diversidade fúngica associada. O conhecimento acerca da biodiversidade é essencialmente o primeiro passo para sua conservação, apesar de não parecerem medidas diretamente utilizáveis em um primeiro momento (Purvis; Hector, 2000). Porém, de forma indispensável, conhecer a biodiversidade localmente permite o entendimento de padrões em ampla escala (Baldrian *et al.*, 2022), ultimamente resultando em informações cruciais para tomadas de decisões assertivas quanto à conservação. A falta de esforços para o conhecimento da biodiversidade pode levar à exclusão completa de grupos em trabalhos holísticos sobre a biodiversidade, como é o caso dos fungos em alguns estudos, especialmente nos conduzidos em ambientes de altitude (Antonelli *et al.*, 2018). Essa lacuna no conhecimento sobre a biodiversidade é urgente e contrastante com a importância do grupo para os ecossistemas naturais (Bargett; van der Putten, 2014).

Neste trabalho a comunidade principal de gêneros pertencente a microbiota dos Campos de Cima da Serra foi identificada, caracterizada taxonomicamente e funcionalmente, utilizando metodologias livres de amplificação via PCR, o que pode introduzir diversos vieses na detecção da microbiota (Nilsson *et al.*, 2019; Pan *et al.*, 2014). Foram identificados 18 filos pertencentes ao reino Fungi e 245 gêneros pertencentes à comunidade principal da microbiota dos CCS (5 e 7), indicando uma alta diversidade associada a formação e ressaltando a urgência de sua conservação (Menezes *et al.*, 2022). Interessantemente, apesar da dominância dos filos

Ascomycota e Basidiomycota na microbiota dos CCS estar de acordo com os padrões observados globalmente e em outras regiões de campos no Brasil (Andrade *et al.*, 2023; Castro *et al.*, 2016; Tedersoo *et al.*, 2022), o filo Chytridiomycota apresenta maior abundância relativa nos CCS.

Chytridiomycota é tradicionalmente recuperado e estudado a partir de ambientes aquáticos, porém o grupo apresenta diversos representantes que possuem adaptações para ocorrerem em solos, estando presente em diversos ambientes terrestres (Hanrahan-Tan; Lilje; Henderson, 2023), e potencialmente contribuindo para a ciclagem de nutrientes nos solos (Hanrahan-Tan *et al.*, 2022). Dentre os principais gêneros identificados neste trabalho (6 e 7), *Gromochytrium* (Chytridiomycota) é monoespecífico, sendo representado por uma espécie parasita de alga em ambientes aquáticos (Karpov *et al.*, 2014). Apesar disso, sequências do gênero foram recuperadas em outros trabalhos exclusivo de solo (Tkacz *et al.*, 2020), e considerando a ubiquidade de algas nesse ambiente (Jassey *et al.*, 2022), as sequências recuperadas aqui podem representar novas espécies de *Gromochytrium*, ressaltando a importante contribuição do presente estudo para o entendimento da microbiota dos CCS, ressaltando a presença de grupos pouco estudados e gerando base para futuros estudos com estes.

Ainda, a microbiota detectada nas áreas de CCS é composto principalmente por ordens e gêneros inseridos em Ascomycota (5 e 7), visto a dominância do filo. Grupos liquenizados contribuem de maneira importante para a porcentagem de gêneros simbiotróficos da formação, já que Lecanorales está entre as ordens mais abundantes. A ordem é principalmente representada por *Ramalina* e *Pannoparmelia*, gêneros que não são encontrados em outras áreas dos Campos Sulinos, como os campos do Pampa (Andrade *et al.*, 2023), ou em outras regiões de campo no Brasil, como no Cerrado (Figueiredo *et al.*, 2023; Monteiro *et al.*, 2023), estando associadas aos afloramentos rochosos presentes nos campos. Apesar de amplamente distribuído no Brasil (Gumboski; Sionara; Silveira, 2014; Kashiwadani; Kalb, 1993), novas espécies de *Ramalina* continuam sendo descritas, especialmente para a região dos CCS (Gumboski *et al.*, 2018). Além disso, a cobertura de espécies do gênero pode apresentar correlação com a qualidade de habitat para ecossistemas terrestres (Cera *et al.*, 2022). Visto que a abundância relativa e detecção de *Ramalina* é homogênea nas áreas de CCS amostradas, e estas são consideradas pristinas (Jeske-Pieruschka *et al.*, 2010; Suhs; Giehl; Peroni, 2020; Overbeck *et al.*,

2007), a abundância relativa do grupo pode ser potencialmente utilizada como índice de conservação de áreas de CCS. Porém, como o gênero é representado por espécies saxícolas nos CCS (Gumboski *et al.*, 2014; Gumboski *et al.*, 2018), as sequências detectadas podem ser provenientes de esporos depositados no solo, necessitando um melhor entendimento da relação entre o banco de esporos nos solos e a presença de *Ramalina* como um indicador de qualidade dos CCS.

Outro componente importante da microbiota das áreas de CCS é Saccharomycetales (Figura 5), que é composta por leveduras (Suh *et al.*, 2017) e representada principalmente por *Geotrichum* e *Metschnikowia* a nível de gênero nessa formação (6 e 7). Representantes de *Geotrichum* podem desempenhar um importante papel da ciclagem de nutrientes no solo através da nitrificação de amônia e solubilização de fosfato (Botha, 2011), serviços essenciais para a manutenção do crescimento da comunidade vegetal (Jiang *et al.*, 2019), sendo portanto importantes componentes da manutenção dos CCS. Sendo a ordem dominante e presente em todas as áreas amostradas (Figura 5), Helotiales é representada principalmente pelo gênero *Patellariopsis*, que possui espécies saprotróficas (Karunarathna *et al.*, 2020). Interessantemente, a área B5 apresenta a menor porcentagem de matéria orgânica disponível e é também onde há a menor abundância relativa do gênero (Figura 6), e apesar de possuir aspectos de sua ecologia ainda não resolvidos (Karunarathna *et al.*, 2020), essa relação pode indicar que o grupo pode contribuir para a ciclagem de nutrientes nos solos dos CCS.

Archaeorhizomycetales também está entre as ordens dominantes nas áreas amostradas (Figura 5), sendo representada por *Archaeorhizomyces*. Apesar do gênero ser considerado críptico e sua ecologia não ser entendida (Khan *et al.*, 2020), sequências de *Archaeorhizomyces* são constantemente encontradas em estudos da microbiota do solo a nível global (Porter *et al.*, 2008; Rosling *et al.*, 2011), incluindo outras áreas de campo no Brasil (Monteiro *et al.*, 2023). Ainda, estudos mostram que o grupo pode representar até um terço da microbiota associada à rizosfera (Menkis *et al.*, 2014). Devido ao grande número de espécies estimadas (Lucking; Hawksworth, 2018) e sua ubiquidade em ambientes terrestres (Khan *et al.*, 2020), futuros estudos que busquem entender a diversidade de Archaeorhizomycetales associada aos CCS são essenciais, principalmente para compreender sua importância ecológica e serviços desempenhados nessas formações, visto a alta abundância do grupo detectada neste trabalho.

3 CONCLUSÃO

Este trabalho foi conduzido em áreas preservadas de CCS no Sul do Brasil, uma formação altamente negligenciada do ponto de vista político, assim como pouco abordadas em estudos de biodiversidade. Por consequência, a microbiota do solo dessas áreas era até então desconhecido. Neste trabalho foram utilizadas metodologias de sequenciamento de alto rendimento livres de PCR para caracterizar taxonomicamente e funcionalmente, pela primeira vez, a microbiota associada aos solos de áreas de CCS. Assim, a diversidade taxonômica e funcional, assim como a composição da comunidade de gêneros, foram caracterizadas em três diferentes áreas de CCS. Os resultados gerados aqui mostram que os solos dos CCS abrigam uma microbiota altamente diversa que possui comunidades localmente heterogêneas, sendo urgente sua conservação para preservar a biodiversidade associada e garantir serviços ecossistêmicos essenciais, que serão indispensáveis para a mitigação de problemas globais.

Os táxons identificados mostram que estão associados a microbiota dos solos dos CCS grupos pouco estudados, notavelmente representantes dos gêneros *Archaeorhizomyces*, *Patellariopsis* e *Geotrichum*, mas que tem o potencial de desempenhar papéis essenciais na manutenção dos ecossistemas. Apesar da diversidade alfa de gêneros e a abundância relativa dos modos tróficos detectados serem homogêneos entre as áreas, a dissimilaridade na composição das comunidades das áreas amostradas podem indicar uma expressiva heterogeneidade local presente na microbiota dos solos dos CCS, que são estruturados de maneira importante pela área de origem e pelo teor de Mg. De maneira surpreendente, a composição das comunidades detectadas não é fortemente influenciada pelas variáveis edáficas coletadas neste trabalho, indicando que outras variáveis ambientais podem ser decisivas para a estruturação da microbiota do solo dos CCS.

Apesar da limitação espacial das coletas incluídas neste trabalho, os resultados obtidos aqui avançam no entendimento da microbiota associada aos solos dos CCS, assim como na construção do corpo de conhecimento científico necessário para o delineamento de estratégias de conservação que levem em consideração a microbiota e seus serviços ecossistêmicos. A microbiota dos solos dos CCS é dominada por gêneros saprotróficos, grupo que é essencial na manutenção dos ecossistemas e serviços desempenhados pelos mesmos. Além disso, a

presença de gêneros fitopatógenos e patógenos de animais nos solos dos CCS reivindicam o monitoramento da microbiota dos solos dessas áreas frente a distúrbios de origem antropogênica.

Trabalhos futuros devem buscar amostrar em maior profundidade e representação geográfica a microbiota do solo dos CCS. Além disso, considerar o entendimento do papel ecológico de grupos de fungos pouco conhecidos e a detecção e identificação de grupos funcionais pouco redundantes nos solos dos CCS para garantir sua conservação e um melhor entendimento das variáveis bióticas e abióticas que estruturam a composição das comunidades observadas nos solos do CCS. Especificamente, o fogo e o pastejo, distúrbios historicamente associados aos CCS, devem ser explorados para entender seus papéis como possíveis estruturadores da microbiota. Ainda, os dados gerados poderão ser utilizados em estudos amplos sobre padrões da microbiota do solo a nível global, preenchendo a lacuna existente em bases de dados globais na representação de diferentes formações inseridas na Mata Atlântica.

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, Marti J. Permutational Multivariate Analysis of Variance (PERMANOVA). *In*: BALAKRISHNAN, N. *et al.* (org.). **Wiley StatsRef: Statistics Reference Online**. 1. ed. [S. l.]: Wiley, 2017. p. 1–15. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118445112.stat07841>. Acesso em: 21 nov. 2023.
- ANDRADE, Bianca O. *et al.* 12,500+ and counting: biodiversity of the Brazilian Pampa. **Frontiers of Biogeography**, [s. l.], v. 15, n. 2, 2023. Disponível em: <https://escholarship.org/uc/item/7tp2k884>. Acesso em: 21 nov. 2023.
- ANTHONY, Mark A.; BENDER, S. Franz; VAN DER HEIJDEN, Marcel G. A. Enumerating soil biodiversity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 120, n. 33, p. e2304663120, 2023.
- ANTONELLI, A. *et al.* State of the World's Plants and Fungi 2020.
- ANTONELLI, Alexandre *et al.* Geological and climatic influences on mountain biodiversity. **Nature Geoscience**, [s. l.], v. 11, n. 10, p. 718–725, 2018.
- ASHIWADANI, H.; KALB, K. The genus *Ramalina* in Brazil. **The Lichenologist**, v. 25, n. 1, p. 1-31, 1993.
- BAHRAM, Mohammad *et al.* Structure and function of the global topsoil microbiome. **Nature**, v. 560, n. 7717, p. 233-237, 2018.
- BAI, Yongfei; COTRUFO, M. Francesca. Grassland soil carbon sequestration: Current understanding, challenges, and solutions. **Science**, [s. l.], v. 377, n. 6606, p. 603–608, 2022.
- BALDRIAN, Petr *et al.* High-throughput sequencing view on the magnitude of global fungal diversity. **Fungal Diversity**, [s. l.], v. 114, n. 1, p. 539–547, 2022.
- BANERJEE, Samiran *et al.* Network analysis reveals functional redundancy and keystone taxa amongst bacterial and fungal communities during organic matter decomposition in an arable soil. **Soil Biology and Biochemistry**, [s. l.], v. 97, p. 188–198, 2016.
- BARDGETT, Richard D.; VAN DER PUTTEN, Wim H. Belowground biodiversity and ecosystem functioning. **Nature**, [s. l.], v. 515, n. 7528, p. 505–511, 2014.
- BARRON, Elizabeth S. Conservation of abundance: How fungi can contribute to rethinking conservation. **Conservation and Society**, v. 21, n. 2, p. 99-109, 2023.
- BEHLING, Hermann; PILLAR, Valério DePatta. Late Quaternary vegetation, biodiversity and fire dynamics on the southern Brazilian highland and their implication for conservation and management of modern *Araucaria* forest and grassland ecosystems. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, [s. l.], v. 362, n. 1478, p. 243–251, 2007.

BENNETT, Amy C. *et al.* Sensitivity of South American tropical forests to an extreme climate anomaly. **Nature Climate Change**, [s. l.], v. 13, n. 9, p. 967–974, 2023.

BITTEBIERE, Anne-Kristel *et al.* Past spatial structure of plant communities determines arbuscular mycorrhizal fungal community assembly. **Journal of Ecology**, [s. l.], v. 108, n. 2, p. 546–560, 2020.

BOND, William J.; PARR, Catherine L. Beyond the forest edge: Ecology, diversity and conservation of the grassy biomes. **Biological Conservation**, [s. l.], v. 143, n. 10, p. 2395–2404, 2010.

BORGELT, Jan *et al.* More than half of data deficient species predicted to be threatened by extinction. **Communications biology**, v. 5, n. 1, p. 679, 2022.

BOTHA, Alfred. The importance and ecology of yeasts in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, [s. l.], v. 43, n. 1, p. 1–8, 2011.

BRAY, J. Roger; CURTIS, J. T. An Ordination of the Upland Forest Communities of Southern Wisconsin. **Ecological Monographs**, [s. l.], v. 27, n. 4, p. 325–349, 1957.

BROWN, Patrick T.; CALDEIRA, Ken. Greater future global warming inferred from Earth's recent energy budget. **Nature**, [s. l.], v. 552, n. 7683, p. 45–50, 2017.

BRUNDRETT, Mark C.; TEDERSOO, Leho. Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity. **New Phytologist**, [s. l.], v. 220, n. 4, p. 1108–1115, 2018.

BUISSON, Elise *et al.* Resilience and restoration of tropical and subtropical grasslands, savannas, and grassy woodlands. **Biological Reviews**, [s. l.], v. 94, n. 2, p. 590–609, 2019.

BUSCARDO, Erika *et al.* Effects of natural and experimental drought on soil fungi and biogeochemistry in an Amazon rain forest. **Communications Earth & Environment**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 55, 2021.

CANINI, Fabiana *et al.* Vegetation, pH and Water Content as Main Factors for Shaping Fungal Richness, Community Composition and Functional Guilds Distribution in Soils of Western Greenland. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 10, p. 2348, 2019.

CARDOSO, Pedro *et al.* The seven impediments in invertebrate conservation and how to overcome them. **Biological conservation**, v. 144, n. 11, p. 2647-2655, 2011.

CERA, Andreu *et al.* Cover of Ramalina species as an indicator of habitat quality in threatened coastal woodlands. **The Bryologist**, [s. l.], v. 125, n. 3, 2022. Disponível em:

<https://bioone.org/journals/the-bryologist/volume-125/issue-3/0007-2745-125.3.424/Cover-of-Ramalina-species-as-an-indicator-of-habitat-quality/10.1639/0007-2745-125.3.424.full>. Acesso em: 21 nov. 2023.

CHEN, Dima *et al.* Effects of plant functional group loss on soil biota and net ecosystem exchange: a plant removal experiment in the Mongolian grassland. **Journal of Ecology**, [s. l.], v. 104, n. 3, p. 734–743, 2016.

CHEN, Hanbo; BOUTROS, Paul C. VennDiagram: a package for the generation of highly-customizable Venn and Euler diagrams in R. **BMC Bioinformatics**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 35, 2011.

COUTINHO, Etiene Silva *et al.* Soil constraints for arbuscular mycorrhizal fungi spore community in degraded sites of rupestrian grassland: Implications for restoration. **European Journal of Soil Biology**, [s. l.], v. 90, p. 51–57, 2019.

COUTINHO, Etiene Silva *et al.* Variation of arbuscular mycorrhizal fungal communities along an altitudinal gradient in rupestrian grasslands in Brazil. **Mycorrhiza**, [s. l.], v. 25, n. 8, p. 627–638, 2015.

DASS, Pawlok *et al.* Grasslands may be more reliable carbon sinks than forests in California. **Environmental Research Letters**, [s. l.], v. 13, n. 7, p. 074027, 2018.

DE OLIVEIRA, Tássio Brito *et al.* Fungal communities differentially respond to warming and drought in tropical grassland soil. **Molecular Ecology**, [s. l.], v. 29, n. 8, p. 1550–1559, 2020.

DUNN, Olive Jean. Multiple Comparisons Using Rank Sums. **Technometrics**, [s. l.], v. 6, n. 3, p. 241–252, 1964.

FERNANDES, Maysa Lima Parente *et al.* Functional soil mycobiome across ecosystems. **Journal of Proteomics**, v. 252, p. 104428, 2022.

EISENHAUER, Nico *et al.* Reconsidering functional redundancy in biodiversity research. **npj Biodiversity**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 9, 2023.

EWELS, Philip *et al.* MultiQC: summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report. **Bioinformatics**, [s. l.], v. 32, n. 19, p. 3047–3048, 2016.

FIGUEIREDO, Maurílio Assis *et al.* Metabarcoding of Soil Fungal Communities in Rupestrian Grassland Areas Preserved and Degraded by Mining: Implications for Restoration. **Microbial Ecology**, [s. l.], v. 85, n. 3, p. 1045–1055, 2023.

GRAU, Oriol *et al.* Encroachment of shrubs into subalpine grasslands in the Pyrenees modifies the structure of soil fungal communities and soil properties. **FEMS Microbiology Ecology**, [s. l.], v. 95, n. 4, 2019. Disponível em: <https://academic.oup.com/femsec/article/doi/10.1093/femsec/fiz028/5370081>. Acesso em: 21 nov. 2023.

GUMBOSKI, Emerson Luiz *et al.* A new riparian species of *Ramalina* (*Ramalinaceae*) from Brazil, with a key to neotropical saxicolous species. **The Lichenologist**, [s. l.], v. 50, n. 5, p. 541–553, 2018.

GUMBOSKI, Emerson Luiz; SIONARA, Sionara; DA SILVEIRA, Rosa Mara Borges. Extending the distribution of *Ramalina lacera* (With.) J. R. Laundon (*Ramalinaceae*, lichen forming *Ascomycota*): first record from eastern South America. **Check List**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 195, 2014.

HANRAHAN-TAN, Deirdre G. *et al.* The effects of nitrogen and phosphorus on colony growth and zoospore characteristics of soil Chytridiomycota. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 4, p. 341, 2022.

HANRAHAN-TAN, Deirdre G.; LILJE, Osu; HENDERSON, Linda. Chytrids in Soil Environments: Unique Adaptations and Distributions. **Encyclopedia**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 642–664, 2023.

IBGE. **Vegetação 1:250.000**. 2023. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/geociencias/informacoes-ambientais/vegetacao/22453-cartas-1-250-000.html?=&t=downloads>. Acesso em: 15 out. 2023.

INSTITUTO Nacional de Meteorologia (INMET): **Tabela de estações: Estação Bom Jardim da Serra**. Tabela de estações: Estação Bom Jardim da Serra. 2022. Disponível em: <https://tempo.inmet.gov.br/TabelaEstacoes/A845>. Acesso em: 26 set. 2022.

JASSEY, Vincent E. J. *et al.* Contribution of soil algae to the global carbon cycle. **New Phytologist**, [s. l.], v. 234, n. 1, p. 64–76, 2022.

JESKE-PIERUSCHKA, Vivian *et al.* Araucaria forest dynamics in relation to fire frequency in southern Brazil based on fossil and modern pollen data. **Review of Palaeobotany and Palynology**, [s. l.], v. 160, n. 1–2, p. 53–65, 2010.

JIANG, Jun *et al.* Interactive effects of nitrogen and phosphorus additions on plant growth vary with ecosystem type. **Plant and Soil**, [s. l.], v. 440, n. 1–2, p. 523–537, 2019.

KALSOOM KHAN, Faheema *et al.* Naming the untouchable – environmental sequences and niche partitioning as taxonomical evidence in fungi. **IMA Fungus**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 23, 2020.

KARPOV, S.A. *et al.* *Gromochytrium mamkaevae* gen. & sp. nov. and two new orders: *Gromochytriales* and *Mesochytriales* (*Chytridiomycetes*). **Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, [s. l.], v. 32, n. 1, p. 115–126, 2014.

KARUNARATHNA, Anuruddha *et al.* Patellariopsidaceae Fam. Nov. With Sexual-Asexual Connection and a New Host Record for *Cheirospora botryospora* (Vibrisseaceae, Ascomycota). **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 11, p. 906, 2020.

KLABI, Rim *et al.* Plant assemblage composition and soil P concentration differentially affect communities of AM and total fungi in a semi-arid grassland. **FEMS Microbiology Ecology**, [s. l.], v. 91, n. 1, p. 1–13, 2015.

KLAVINA, Darta *et al.* Effect of stand thinning, former land use and individual tree parameters on wood inhabiting fungal community composition in young living Norway spruce. **Fungal Ecology**, [s. l.], v. 65, p. 101281, 2023.

KOPYLOVA, Evguenia; NOÉ, Laurent; TOUZET, Hélène. SortMeRNA: fast and accurate filtering of ribosomal RNAs in metatranscriptomic data. **Bioinformatics**, [s. l.], v. 28, n. 24, p. 3211–3217, 2012.

KOZIOL, Liz; BEVER, James D. The missing link in grassland restoration: arbuscular mycorrhizal fungi inoculation increases plant diversity and accelerates succession. **Journal of Applied Ecology**, [s. l.], v. 54, n. 5, p. 1301–1309, 2017.

KRUSKAL, William H.; WALLIS, W. Allen. Use of Ranks in One-Criterion Variance Analysis. **Journal of the American Statistical Association**, [s. l.], v. 47, n. 260, p. 583–621, 1952.

KYASCHENKO, Julia *et al.* Below-ground organic matter accumulation along a boreal forest fertility gradient relates to guild interaction within fungal communities. **Ecology Letters**, [s. l.], v. 20, n. 12, p. 1546–1555, 2017.

LABOUYRIE, Maëva *et al.* Patterns in soil microbial diversity across Europe. **Nature Communications**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 3311, 2023.

LEGENDRE, Pierre; GALLAGHER, Eugene D. Ecologically meaningful transformations for ordination of species data. **Oecologia**, [s. l.], v. 129, n. 2, p. 271–280, 2001.

LIU, Binghua *et al.* Growth improvement of *Lolium multiflorum* Lam. induced by seed inoculation with fungus suspension of *Xerocomus badius* and *Serendipita indica*. **AMB Express**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 145, 2019.

LOOBY, Caitlin I.; TRESEDER, Kathleen K. Shifts in soil fungi and extracellular enzyme activity with simulated climate change in a tropical montane cloud forest. **Soil Biology and Biochemistry**, [s. l.], v. 117, p. 87–96, 2018.

LOREAU, Michel. Does functional redundancy exist?. **Oikos**, [s. l.], v. 104, n. 3, p. 606–611, 2004.

LÜCKING, Robert; HAWKSWORTH, David L. Formal description of sequence-based voucherless Fungi: promises and pitfalls, and how to resolve them. **IMA Fungus**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 143–165, 2018.

LUO, Shan *et al.* Grassland degradation-induced declines in soil fungal complexity reduce fungal community stability and ecosystem multifunctionality. **Soil Biology and Biochemistry**, [s. l.], v. 176, p. 108865, 2023.

MARÍ, Teresa *et al.* Fairy rings harbor distinct soil fungal communities and high fungal diversity in a montane grassland. **Fungal Ecology**, [s. l.], v. 47, p. 100962, 2020.

MAYER, Mathias *et al.* Soil fertility relates to fungal-mediated decomposition and organic matter turnover in a temperate mountain forest. **New Phytologist**, [s. l.], v. 231, n. 2, p. 777–790, 2021.

MENEZES, Luciana S. *et al.* Reference values and drivers of diversity for South Brazilian grassland plant communities. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, [s. l.], v. 94, n. 1, p. e20201079, 2022.

MENKIS, Audrius *et al.* *Archaeorhizomyces borealis* sp. nov. and a sequence-based classification of related soil fungal species. **Fungal Biology**, [s. l.], v. 118, n. 12, p. 943–955, 2014.

MISTRY, Jayalaxshmi *et al.* New perspectives in fire management in South American savannas: The importance of intercultural governance. **Ambio**, [s. l.], v. 48, n. 2, p. 172–179, 2019.

MONTEIRO, Josiane S. *et al.* DNA metabarcoding reveals compositional and functional differences in fungal communities among Amazonian canga formations. **Fungal Ecology**, [s. l.], v. 61, p. 101209, 2023.

MOSADDEGHI, M.R. *et al.* Epichloë spp. and Serendipita indica endophytic fungi: Functions in plant-soil relations. *In*: ADVANCES IN AGRONOMY. [S. l.]: Elsevier, 2021. v. 165, p. 59–113. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065211320300973>. Acesso em: 21 nov. 2023.

MOUCHET, Maud A. *et al.* Functional diversity measures: an overview of their redundancy and their ability to discriminate community assembly rules. **Functional Ecology**, v. 24, n. 4, p. 867-876, 2010.

NGUYEN, Nhu H. *et al.* FUNGuild: An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. **Fungal Ecology**, [s. l.], v. 20, p. 241–248, 2016.

NILSSON, R. Henrik *et al.* A Comprehensive, Automatically Updated Fungal ITS Sequence Dataset for Reference-Based Chimera Control in Environmental Sequencing Efforts. **Microbes and environments**, [s. l.], v. 30, n. 2, p. 145–150, 2015.

NILSSON, R. Henrik *et al.* Mycobiome diversity: high-throughput sequencing and identification of fungi. **Nature Reviews Microbiology**, [s. l.], v. 17, n. 2, p. 95–109, 2019.

NISKANEN, Tuula *et al.* Pushing the Frontiers of Biodiversity Research: Unveiling the Global Diversity, Distribution, and Conservation of Fungi. **Annual Review of Environment and Resources**, [s. l.], v. 48, n. 1, p. 149–176, 2023.

OCHOA-HUESO, Raúl *et al.* Drought consistently alters the composition of soil fungal and bacterial communities in grasslands from two continents. **Global change biology**, v. 24, n. 7, p. 2818-2827, 2018.

OGAKI, Mayara Baptistucci *et al.* Fungi Present in Antarctic Deep-Sea Sediments Assessed Using DNA Metabarcoding. **Microbial Ecology**, [s. l.], v. 82, n. 1, p. 157–164, 2021.

OGLE, Derek H. *et al.* **FSA: Simple Fisheries Stock Assessment Methods**. 2023. Disponível em: <https://cran.r-project.org/web/packages/FSA/index.html>. Acesso em: 15 out. 2023.

OKSANEN, Jari *et al.* Package ‘vegan’. **Community ecology package, version**, v. 2, n. 9, 2019.

OVERBECK, G *et al.* Brazil's neglected biome: The South Brazilian Campos. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 101–116, 2007.

OVERBECK, Gerhard Ernst *et al.* Placing Brazil's grasslands and savannas on the map of science and conservation. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, [s. l.], v. 56, p. 125687, 2022.

PALUMBO, Fabio *et al.* A multi-kingdom metabarcoding study on cattle grazing Alpine pastures discloses intra-seasonal shifts in plant selection and faecal microbiota. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 889, 2021.

PAN, Wenjing *et al.* DNA polymerase preference determines PCR priming efficiency. **BMC Biotechnology**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 10, 2014.

PARR, Catherine L. *et al.* Tropical grassy biomes: misunderstood, neglected, and under threat. **Trends in Ecology & Evolution**, [s. l.], v. 29, n. 4, p. 205–213, 2014.

PEREIRA, Marlon Corrêa *et al.* **High endophytic diversity associated with roots of *Cattleya milleri*, an endemic orchid from rupestrian grasslands of the “Quadrilátero Ferrífero”, a Brazilian savanna hotspot area in Minas Gerais.** [S. l.]: In Review, 2023. preprint. Disponível em: <https://www.researchsquare.com/article/rs-2885848/v1>. Acesso em: 21 nov. 2023.

PEREIRA DE CASTRO, Alinne *et al.* Microbial Diversity in Cerrado Biome (Neotropical Savanna) Soils. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. e0148785, 2016.

PORTER, T.M. *et al.* Widespread occurrence and phylogenetic placement of a soil clone group adds a prominent new branch to the fungal tree of life. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, [s. l.], v. 46, n. 2, p. 635–644, 2008.

PURVIS, Andy; HECTOR, Andy. Getting the measure of biodiversity. **Nature**, [s. l.], v. 405, n. 6783, p. 212–219, 2000.

R Language. Disponível em: <http://www.rstudio.com/>. Acesso em: 15 out. 2023.

ROSA, Luiz Henrique *et al.* DNA Metabarcoding to Assess the Diversity of Airborne Fungi Present over Keller Peninsula, King George Island, Antarctica. **Microbial Ecology**, [s. l.], v. 82, n. 1, p. 165–172, 2021.

ROSA, Luiz Henrique *et al.* DNA metabarcoding uncovers fungal diversity in soils of protected and non-protected areas on Deception Island, Antarctica. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 21986, 2020.

ROSLING, Anna *et al.* Archaeorhizomycetes: Unearthing an Ancient Class of Ubiquitous Soil Fungi. **Science**, [s. l.], v. 333, n. 6044, p. 876–879, 2011.

SCHOCH, Conrad L. *et al.* Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for *Fungi*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 109, n. 16, p. 6241–6246, 2012.

SILVEIRA, Fernando A. O. *et al.* Myth-busting tropical grassy biome restoration. **Restoration Ecology**, [s. l.], v. 28, n. 5, p. 1067–1073, 2020.

SIMON ANDREWS. **FastQC**: a quality control tool for high throughput sequence data.. A quality control tool for high throughput sequence data.. 2010. Disponível em:

<https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>. Acesso em: 15 out. 2023.

SUH, Sung-Oui *et al.* Phylogenetics of Saccharomycetales, the ascomycete yeasts. **Mycologia**, [s. l.], v. 98, n. 6, p. 1006–1017, 2006.

SÜHS, Rafael Barbizan; GIEHL, Eduardo Luís Hettwer; PERONI, Nivaldo. Preventing traditional management can cause grassland loss within 30 years in southern Brazil. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 783, 2020.

TEDERSOO, Leho *et al.* Global diversity and geography of soil fungi. **Science**, [s. l.], v. 346, n. 6213, p. 1256688, 2014.

TEDERSOO, Leho *et al.* Global patterns in endemism and vulnerability of soil fungi. **Global Change Biology**, [s. l.], v. 28, n. 22, p. 6696–6710, 2022.

TEIXEIRA, P. C. *et al.* Manual de métodos de análise de solo. Brasília: Embrapa, 2017. 574p.

TKACZ, Andrzej *et al.* Influence of Plant Fraction, Soil, and Plant Species on Microbiota: a Multikingdom Comparison. **mBio**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. e02785-19, 2020.

TORDONI, Enrico *et al.* Integrated eDNA metabarcoding and morphological analyses assess spatio-temporal patterns of airborne fungal spores. **Ecological Indicators**, v. 121, p. 107032, 2021.

VAN ROSSUM, Guido; DRAKE, Fred. **The Python Language**. 2009. Disponível em: <https://www.python.org>. Acesso em: 15 out. 2023.

VU, D. *et al.* Large-scale generation and analysis of filamentous fungal DNA barcodes boosts coverage for kingdom fungi and reveals thresholds for fungal species and higher taxon delimitation. **Studies in mycology**, v. 92, n. 1, p. 135-154, 2019.

WAGG, Cameron *et al.* Fungal-bacterial diversity and microbiome complexity predict ecosystem functioning. **Nature Communications**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 4841, 2019.

WALKER, Brian H. Biodiversity and ecological redundancy. **Conservation biology**, v. 6, n. 1, p. 18-23, 1992.

WANG, Yingcheng *et al.* Grass-microbial inter-domain ecological networks associated with alpine grassland productivity. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 14, p. 1109128, 2023.

WHITE, Robin P. *et al.* **Grassland ecosystems**. Washington, DC, USA: World Resources Institute, 2000.

WICKHAM, Hadley. ggplot2. **Wiley interdisciplinary reviews: computational statistics**, v. 3, n. 2, p. 180-185, 2011.

WICKHAM, Hadley *et al.* Package ‘dplyr’. **A Grammar of Data Manipulation. R package version**, v. 8, 2019.

YAMAUCHI, Danielle Hamae *et al.* Soil Mycobiome Is Shaped by Vegetation and Microhabitats: A Regional-Scale Study in Southeastern Brazil. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 7, n. 8, p. 587, 2021.

YANG, Yi *et al.* Soil carbon sequestration accelerated by restoration of grassland biodiversity. **Nature Communications**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 718, 2019.

ZHAO, Yuanyuan; LIU, Zhifeng; WU, Jianguo. Grassland ecosystem services: a systematic review of research advances and future directions. **Landscape Ecology**, [s. l.], v. 35, n. 4, p. 793–814, 2020.

ZINGER, Lucie *et al.* Body size determines soil community assembly in a tropical forest. **Molecular Ecology**, [s. l.], v. 28, n. 3, p. 528–543, 2019.

APÊNDICE A – Variáveis edáficas utilizadas nos modelos de perMANOVA

Estão incluídas nos gráficos as variáveis edáficas não correlacionadas que foram utilizadas na construção dos modelos de perMANOVA. Os pontos pretos em sobreposição com os *boxplots* indicam cada amostra representante de cada bloco.

