



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA  
CURSO CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - Licenciatura (noturno)

Jéssica Vilvert Klöppel

**Composição das comunidades fúngicas em áreas de restinga com e sem  
invasão de *Pinus elliottii***

Florianópolis  
2025

Jéssica Vilvert Klöppel

**Composição das comunidades fúngicas em áreas de restinga com e sem  
invasão de *Pinus elliottii***

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) submetido ao curso de Ciências Biológicas - Licenciatura (noturno) do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Alice Neves.  
Co-orientador: Caio Ambrósio Leal-Dutra.

Florianópolis

2025

Klöppel, Jéssica Vilvert

Composição das comunidades fúngicas em áreas de restinga com e sem invasão de *Pinus elliottii* /Jéssica Vilvert Klöppel ; orientadora, Maria Alice Neves, coorientador, Caio Ambrósio Leal-Dutra, 2025.

84 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -  
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas,  
Florianópolis, 2025.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. Comunidades fúngicas. 3. Ectomicorrizas. 4. Invasão biológica. 5. Restinga. I. Neves, Maria Alice. II. Leal-Dutra, Caio Ambrósio . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. IV. Título.

Jéssica Vilvert Klöppel

**Composição das comunidades fúngicas em áreas de restinga com e sem  
invasão de *Pinus elliottii***

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas e aprovado em sua forma final pelo Curso Ciências Biológicas - Licenciatura (noturno).

Florianópolis, 07 de novembro de 2025.

---

Coordenação do Curso

**Banca examinadora**

---

Profa. Maria Alice Neves, Dra.

Orientadora

---

Profa. Fernanda Maria Cordeiro de Oliveira, Dra.

Universidade Federal de Santa Catarina

---

Caroline Marques Dracxler da Silva, Dra.

Universidade de São Paulo

Florianópolis, 2025.

Dedico esse trabalho às minhas avós, Maria e Solange, que sempre nos deram tanto carinho e foram meus exemplos de dedicação, aliando suas carreiras e o cuidado com os seus.

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, meu eterno agradecimento ao meu parceiro, Sidi, por todos os momentos durante esses anos de estudo. Por me incentivar e me dar suporte desde quando decidi fazer a segunda graduação, com direito a muita emoção neste período. Agradeço também à minha família, minha mãe Kátia, meu pai, Jorge, meu irmão, Junior, e minha cunhada, Willi, por todas as conversas e apoio nas minhas decisões e conquistas.

Agradeço demais aos professores que me receberam no projeto Trópico Ectomicorrizas e me ensinaram tanto. Agradeço especialmente à minha orientadora, professora Maria Alice Neves, por acreditar no meu potencial, pela parceria nas coletas e por todo exemplo de como ensinar, fazer pesquisa e extensão. Ao professor Paulo Mioto, que foi a porta de entrada no projeto, me recebendo no LaFisio. Obrigada professora Fernanda Cordeiro pela parceria e ensinamentos nesse período. Ao meu Coorientador, Caio Ambrósio Leal-Dutra, pela força que nos deu nas análises bioestatísticas e nas ideias para o trabalho. Agradeço também ao professor Eduardo de Oliveira Bastos pela ajuda e ideias para as demais análises estatísticas.

Meu agradecimento às minhas primeiras tutoras no Lafisio e no Micolab, e agora minhas amigas, Amanda Zanatta e Marivane Slodkowski, por me ensinarem os primeiros passos nos procedimentos de laboratório e nas nossas inúmeras tentativas de isolar os fungos nativos da restinga. Não posso deixar de agradecer a minha amiga Thaynara, que topou participar do projeto junto comigo e desde então tivemos muitas aventuras juntas. E a Gabrielle Gonçalves por toda força e parceria para todos os momentos. Agradeço aos meus amigos João Ernzen e Maria Eduarda Borges por todos os ensinamentos e conselhos durante esse período, vocês são nossas referências de dedicação à micologia.

Agradeço ao Daniel Belin e à Isadora Cord pela parceria nas coletas de solo na restinga. E a todos os amigos e colegas do Micolab e LaFisio, em especial, Amanda Prado, Fabi, Guilherme, Juli, Julia(s), Lucas e Sol pelas tardes no laboratório, pela parceria nas coletas, por todas as risadas, cafés, bares, aventuras e aprendizados. Sou muito feliz por ter vivido todas essas experiências com vocês!

## RESUMO

A restinga é um ecossistema suscetível a perturbações, como as invasões biológicas. As áreas de restinga de Florianópolis são impactadas pela invasão de *Pinus elliottii*, espécie que faz associações ectomicorrízicas. A presença de fungos nessas áreas já é reconhecida e saber quais espécies estão presentes nesse ecossistema pode ajudar em ações de conservação e restauração. Neste trabalho, verificamos a diversidade de fungos presentes em três áreas de restinga no Parque Natural Municipal da Lagoa da Conceição em Florianópolis/SC, uma área Não Invasida por *P. elliottii*, outra com manejo de *P. elliottii*, denominada como Controlada, e a terceira Invasida por *P. elliottii*. A metodologia de coleta do solo foi adaptada do protocolo proposto para a expedição da *Society for the Protection of Underground Network*, com posterior extração do DNA e amplificação da região ITS2 para sequenciamento do DNA fúngico. A análise das guildas foi feita com o banco de dados FungalTraits. Verificamos diferenças na composição entre as três áreas, principalmente ao nível de família e gênero, mas também diferenças na proporção da composição dos grupos funcionais. A composição de fungos ectomicorrízicos também apresentou diferenças, com a presença de fungos reconhecidamente ectomicorrízicos e exóticos nas áreas Controlada e Invasida.

**Palavras-chave:** comunidades fúngicas; guildas; invasão biológica; restinga.

## ABSTRACT

The restinga is an ecosystem susceptible to disturbances such as biological invasions. The restinga areas of Florianópolis are affected by the invasion of *Pinus elliottii*, a species that forms ectomycorrhizal associations. The presence of fungi in these areas is already recognized, and identifying which species are present in this ecosystem can support conservation and restoration efforts. In this study, we assessed the diversity of fungi present in three restinga areas in the Parque Natural Municipal da Lagoa da Conceição in Florianópolis/SC: one area Not Invaded by *P. elliottii*, another managed for *P. elliottii* control, referred to as Controlled, and a third Invaded by *P. elliottii*. The soil sampling methodology was adapted from the protocol proposed for the Society for the Protection of Underground Network expedition, followed by DNA extraction and amplification of the ITS2 region for fungal DNA sequencing. Guild analysis was performed using the FungalTraits database. We observed differences in composition among the three areas, mainly at the family and genus level, as well as variations in the proportion of functional group composition. The composition of ectomycorrhizal fungi also differed, with the presence of recognized exotic ectomycorrhizal fungi in the Controlled and Invaded areas.

**Keywords:** fungal communities; guilds; biological invasions; restinga.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Mapa da Ilha de Santa Catarina (Florianópolis, SC) com recorte da região do Parque Natural Municipal das Dunas da Lagoa da Conceição. ....	17
<b>Figura 2:</b> Pontos de coleta das áreas de estudo. ....	18
<b>Figura 3:</b> Perfil das áreas amostradas. (A) Não Invasada; (B) Controlada; (C) Invasada .....	19
<b>Figura 4 :</b> Distribuição da ocorrência das OTUs identificadas a nível de Filo nas áreas (A) Não Invasada; (B) Controlada; (C) Invasada, de acordo com a guilda primária. ....	24
<b>Figura 5:</b> Distribuição da ocorrência das OTUs por Filo nas áreas (A) Não Invasada; (B) Controlada; (C) Invasada.....	26
<b>Figura 6:</b> Distribuição da ocorrência das OTUs identificadas do Filo Basidiomycota nas áreas (A) Não Invasada; (B) Controlada; (C) Invasada, de acordo com a guilda primária atribuída. ....	28
<b>Figura 7:</b> Distribuição das possíveis espécies que formam EcMs comparadas no GenBank por área. ....	34
<b>Figura 8:</b> Proporção da distribuição das possíveis espécies que formam EcMs comparadas no GenBank por área. ....	35

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Riqueza de OTUs de cada Filo por área.....	25
<b>Tabela 2:</b> Índice de dissimilaridade de Jaccard na composição entre as áreas. ....	27
<b>Tabela 3:</b> Índice de dissimilaridade de Jaccard na composição entre as áreas. ....	29
<b>Tabela 4:</b> Distribuição dos gêneros com status ectomicorrízico reconhecido por área. .....	30
<b>Tabela 5:</b> Possíveis táxons ectomicorrízicos com similaridade com espécies-hipótese do UNITE e sequências depositadas no GenBank e seus registros de ocorrência na literatura. ....	31

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BPI	Biotecnologia, Pesquisa e Inovação
DEPUC	Departamento de Unidades de Conservação
EcMs	Ectomicorrizas
FLORAM	Fundação Municipal do Meio Ambiente
LAMEB	Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia
LEIMAC	Laboratório de Ecologia de Invasões Biológicas, Manejo e Conservação
MICOLAB	Laboratório de Micologia
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
OTU	Unidade Taxonômica Operacional
SPUN	<i>Society for the Protection of Underground Network</i>
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>16</b>
2.1	ÁREA DE ESTUDO .....	17
2.2	MÉTODO DE COLETA.....	20
2.3	EXTRAÇÃO, AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DO DNA.....	20
2.4	ANÁLISE DOS DADOS .....	21
<b>3.</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>22</b>
<b>4.</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>36</b>
4.1	DISTRIBUIÇÃO DAS COMUNIDADES FÚNGICAS .....	36
4.2	DISTRIBUIÇÃO DOS TÁXONS ECTOMICORRÍZICOS .....	38
4.3	IMPORTÂNCIA ECOLÓGICA .....	44
<b>5.</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>45</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>46</b>
	<b>ANEXOS</b> .....	<b>54</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As ações antrópicas causam diversos impactos no ambiente, principalmente em áreas sensíveis e que abrigam espécies ameaçadas e endêmicas, como é o caso da Mata Atlântica (SOS MATA ATLÂNTICA, 2023). Dentro deste domínio fitogeográfico temos o ecossistema restinga, que possui papel importante de interface entre o oceano e as florestas, mas está continuamente sendo afetada pelas ações antrópicas como contaminação, poluição, ocupação indevida e introdução de espécies exóticas (FALKENBERG, 1999; BORGERT, 2021; DELLA VECHIA *et al.*, 2021; 2025 FURTADO *et al.*, 2023b).

Sabe-se que a presença de plantas exóticas pode se tornar um problema para a vegetação nativa, alterando a composição da comunidade e interferindo em aspectos ecológicos (ZILLER, 2001; BECHARA *et al.* 2013; PLUCÊNIO, DECHOUM, CASTELLANI, 2013; MESACASA, 2020). Para controle de espécies invasoras vegetais, existem diversos métodos, que são utilizados de acordo com as espécies, o bioma e aspectos socioeconômicos do local. Eles podem ser feitos com o uso de agentes químicos (herbicidas) e/ou por meio de métodos não químicos, como, por exemplo, fogo, roçada, arranquio manual, corte e pastejo. Esses métodos são uma etapa importante na restauração de áreas invadidas (WEIDLICH *et al.*, 2020a). No entanto, mesmo após a remoção das espécies exóticas invasoras, pode haver um efeito de legado, cujas alterações feitas no ambiente podem persistir e dificultar o processo de sucessão ecológica desejado para a restauração ambiental. Esse efeito pode afetar o solo de forma química, física ou biológica. Pode alterar as comunidades microbianas e fúngicas do solo, influenciando na disponibilidade de nutrientes e possivelmente impactando nas relações entre as próprias plantas nativas e exóticas, entre as plantas e demais organismos presentes no solo e na taxa de micorrização (CORBIN; D'ANTONIO, 2012).

O gênero *Pinus* pode ser considerado o mais invasor entre as plantas arbóreas, com cerca de 19 espécies relatadas invadindo regiões naturais no hemisfério Sul (WEIDLICH *et al.*, 2020a). A introdução de *Pinus elliottii* Engelm. ocorreu em Florianópolis nos anos 1960 para silvicultura e depois para ornamentação (BECHARA *et al.*, 2013; MESACASA, 2020). Essa espécie, originária dos Estados Unidos, têm altos níveis de invasão com chuva de sementes contínua durante o ano, ausência de dormência e alta taxa de germinação (BECHARA *et al.*, 2013).

Entre as ações de conservação e restauração de áreas naturais e suas funções ecossistêmicas, está a atuação do Laboratório de Ecologia de Invasões Biológicas, Manejo e Conservação da Universidade Federal de Santa Catarina (LEIMAC/UFSC) em parceria com o Instituto Hórus de Desenvolvimento e Conservação Ambiental, trabalhando com a gestão e o manejo de plantas e animais exóticos invasores. Um dos projetos do LEIMAC/UFSC com o Instituto Hórus é o manejo de *Pinus elliottii* no Parque Natural Municipal das Dunas da Lagoa da Conceição (Florianópolis, SC), realizado desde 2010. Ele consiste em um projeto de extensão com a participação de estudantes da graduação, da pós-graduação e da comunidade em geral como voluntários no corte das árvores e no arranquio de indivíduos jovens de *Pinus elliottii* (LEIMAC, 2025).

Mas além do trabalho de restauração, é preciso entender o que acontece abaixo do solo, e conhecer quais microrganismos estão envolvidos na ocupação dessas áreas por espécies exóticas invasoras. Os fungos são organismos com ampla distribuição em todos os ecossistemas e também estão sendo afetados pelas mudanças climáticas (TEDERSOO *et al.*, 2022). O levantamento feito por Hawksworth e Lücking (2017) estima uma diversidade de cerca de 2,2 a 3,8 milhões de espécies de fungos em escala global.

Esses organismos cumprem diferentes papéis no ambiente de acordo com características do próprio fungo e fatores abióticos e bióticos como recursos disponíveis, variáveis ambientais e relações com outros organismos (GARCÍA, *et al.*, 2012). Tais fatores influenciam na forma de obtenção de nutrientes, gerando a classificação em grupos funcionais, ou guildas. Esses grupos podem ser saprófitos (decompositores) ou simbiontes, que incluem parasita, patógenos de animais e plantas, diferentes tipos de micorrizas (endomycorrizas e ectomicorrizas), líquens e endófitos (GARCÍA, *et al.*, 2012; SCHAPPE *et al.*, 2020). Entre os fungos simbiontes, há diversos grupos que estabelecem relações mutualísticas com organismos de outros reinos há milhões de anos, seja para nutrição, proteção e/ou dispersão de um dos simbiontes ou de ambos (BIEDERMANN; VEGA, 2020). Os fungos podem ocupar praticamente todos os tipos de nicho, terrestres ou aquáticos, com carbono disponível, justamente em função da grande diversidade (GARCÍA, *et al.*, 2012).

A composição das comunidades fúngicas pode ser influenciada por fatores ambientais como a composição vegetal, características do solo e perturbações no solo e acima do solo. Essa influência também pode variar conforme os grupos funcionais

(ALVAREZ-MANJARREZ *et al.*, 2024; SCHIMANN *et al.*, 2020). A composição pode se alterar ao longo do tempo com um processo de sucessão (GARCÍA, *et al.*, 2012). As interações entre as guildas também podem variar de acordo com as condições ambientais, podendo ser mais negativas ou positivas intra-guilda ou entre elas. Além de serem influenciados pelo ambiente, cada grupo funcional desempenha papéis importantes que também impactam o ecossistema. Esses papéis podem ser desempenhados por diferentes grupos taxonômicos mantendo as funções ecológicas dentro de um ecossistema mesmo após perturbações, o que caracterizaria redundância ecológica (ALVAREZ-MANJARREZ *et al.*, 2021; MOREIRA *et al.*, 2025).

As simbioses micorrízicas desempenham papel fundamental para o estabelecimento de plantas em diversos ambientes, como é o caso de *Pinus* spp.. Esse tipo de associação entre os fungos de diversos filos com raízes de plantas beneficia os simbioses com absorção de nutrientes, água, proteção contra outros organismos e fatores ambientais para as plantas. Em contrapartida as plantas fornecem açúcares provenientes da fotossíntese para os fungos associados. Na restinga, essas associações mutualísticas ocorrem entre as espécies nativas de plantas e fungos, como também com espécies exóticas de ambos (ROY *et al.*, 2017; FURTADO *et al.*, 2023a; 2023b). A diversidade de fungos ectomicorrízicos conhecidos em florestas hiperdiversas é menor quando comparada com a diversidade já estudada para florestas com hospedeiros monodominantes, sendo a maior parte dos fungos ectomicorrízicos especialista, associada com apenas uma linhagem hospedeira (ALVAREZ-MANJARREZ, GARIBAY-ORIJEL e SMITH, 2018).

Até o momento, não existem estudos relacionados à restinga que informem se a presença de fungos ectomicorrízicos exóticos interfere na composição das comunidades, tanto em associações entre a vegetação e a funga nativa, quanto nas associações com as espécies exóticas. Também não se sabe qual a relação dos fungos exóticos com a microbiota do solo em áreas de restauração com remoção de espécies de plantas exóticas invasoras (WEIDLICH *et al.* 2020b). Além disso, no Brasil não temos registros de classificação de fungos exóticos invasores (INSTITUTO HÓRUS, 2023) e os mesmos não constam na lista de espécies exóticas invasoras do estado de Santa Catarina (SANTA CATARINA, 2025).

A partir do conhecimento das espécies de fungos que estão presentes abaixo do solo será possível compreender e antecipar seus impactos nas comunidades fúngicas e vegetais da restinga e utilizar essas informações em ações de conservação

e restauração desse ambiente. Com a oportunidade de participar de um projeto de expedição da *Society for the Protection of Underground Network* (SPUN), que busca mapear e conservar as redes micorrízicas, foi possível realizar o levantamento dos dados necessários ao conhecimento das espécies presentes em áreas de restinga em Florianópolis/SC.

Para tanto, nosso objetivo consistiu em verificar se existem diferenças na composição das comunidades fúngicas entre áreas de restinga não invadidas por *P. elliotti*. em relação às áreas onde ainda há predominância de *P. elliotti*. e onde ocorreu o manejo dessa espécie. Nossa hipótese é de que existe diferença entre a composição das comunidades de fungos dessas três áreas, que pode ser influenciada pela presença de *P. elliottii*. Podemos considerar ainda a possibilidade de a área com o manejo de *P. elliottii* ter maior diversidade de fungos, como relatado em outros estudos feitos após distúrbios (ALVAREZ-MANJARREZ; GARIBAY-ORIJEL, 2021; ALVAREZ-MANJARREZ *et al.*, 2024), por ser uma área onde ocorreu a invasão e posterior manejo dessa espécie. Esse contexto pode promover condições para que mais espécies com diferentes funções ecológicas se estabeleçam e ocupem os nichos existentes, conforme a hipótese do distúrbio intermediário (CONNELL, 1979).

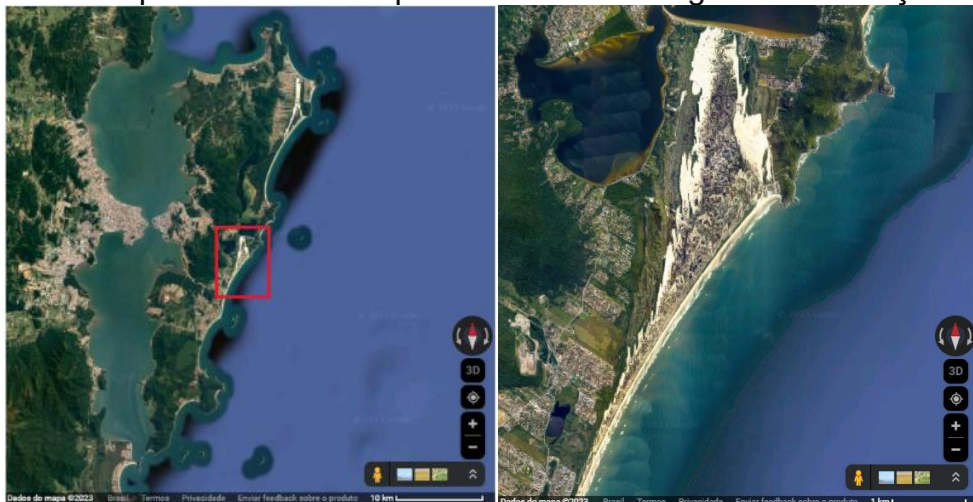
## 2 METODOLOGIA

A escolha da área de estudo se deu em concordância com as áreas de atuação do LEIMAC/UFSC, do Instituto Hórus e de trabalhos anteriores, que avaliaram a composição de espécies vegetais, os efeitos no sistema radicular das plantas e os impactos abaixo do solo do controle de *Pinus elliottii* (MESACASA, 2020; BORGERT, 2021; DELLA VECHIA *et al.*, 2021, 2025). Além de esta ser uma das áreas de pesquisadores vinculados ao Laboratório de Micologia da UFSC (MICOLAB) e ao projeto Trópico ectomicorrizas, que incluem estudos ecológicos, taxonômicos, de características do solo e de restauração da restinga. A metodologia de coleta foi adaptada do protocolo disponibilizado pela SPUN.

## 2.1 ÁREA DE ESTUDO

As coletas foram realizadas dentro da área do Parque Natural Municipal das Dunas da Lagoa da Conceição (DEPUC 037/2024). O Parque foi criado pela Lei Nº 10.388/2018, é gerido pelo Departamento de Unidades de Conservação (DEPUC), da Fundação Municipal do Meio Ambiente – FLORAM (Secretaria de Meio Ambiente e Desenvolvimento Urbano) e seu uso público é destinado a pesquisa, turismo com uso de trilhas, praia e lagoa e educação ambiental. Possui área de 7,19 km<sup>2</sup> e está localizado na porção leste da Ilha de Santa Catarina. Seus ecossistemas são classificados como ambientes costeiros, dunas, restingas e ambientes lagunares (UFSC, 2018).

**Figura 1:** Mapa da Ilha de Santa Catarina (Florianópolis, SC) com recorte da região do Parque Natural Municipal das Dunas da Lagoa da Conceição.



Fonte: Google maps.

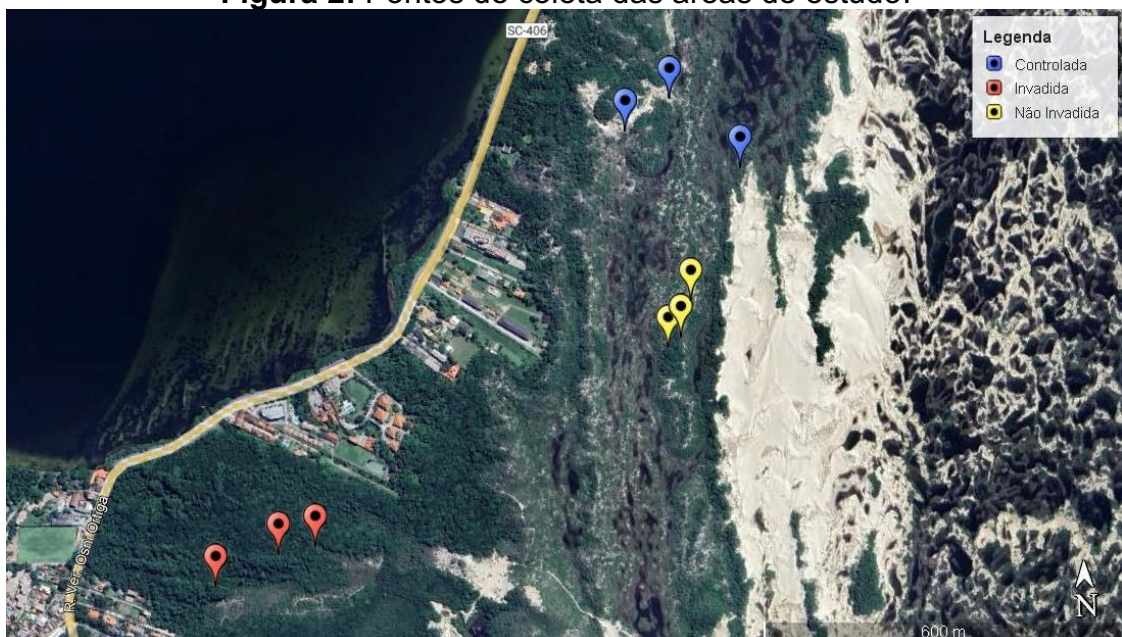
As áreas de restinga são ecossistemas característicos da Mata Atlântica e se estendem a toda a costa brasileira. Santa Catarina é o estado com a segunda maior área de superfície de remanescente do bioma, que ocupa 22,7% da área do estado, com 2.179.427 hectares, que corresponde a cerca de 13,5% da área total do país (SOS MATA ATLÂNTICA, INPE, 2025). A fitofisionomia se divide em: Restinga herbácea/subarbustiva de praias e dunas frontais; Restinga herbácea/subarbustiva de dunas internas e planícies; Restinga herbácea/subarbustiva de lagunas, banhados e baixadas; Restinga arbustiva e; Restinga arbórea (ou mata de restinga). Essas áreas sofrem menor influência da salinidade à medida que se afastam do mar (FALKENBERG, 1999). Guimarães (2006) caracterizou oito tipos de habitats na

restinga do Parque, cujas espécies vegetais variam entre eles, tendo Asteraceae, Cyperaceae, Fabaceae, Melastomataceae, Myrtaceae, Orchidaceae, Poaceae e Rubiaceae como famílias com maior riqueza.

Foram estabelecidas três áreas de coleta dentro da área de atuação do LEIMAC/UFSC e Instituto Hórus, e conforme trabalhos anteriores (MESACASA, 2020; BORGERT, 2021; DELLA VECHIA *et al.*, 2021, 2025) (**Figura 2**). A identificação das áreas foi feita conforme Della Vechia *et al.* (2021, 2025), sendo: Não Invasida, sem a invasão de *P. elliotii*, com predominância espécies de plantas nativas; Controlada, com o manejo de *P. elliotii* entre os anos de 2010 a 2024 e; Invasida, com a predominância de *P. elliotii* (**Figura 3**). A área Não invasida inclui estrato de dunas internas fixas, a área Controlada inclui dunas internas fixas e baixadas úmidas e a área Invasida inclui baixadas secas e baixadas úmidas, locais onde Guimarães (2006) relatou a presença de indivíduos de *Pinus* sp. na época do seu estudo. Mesacasa (2020) observou maior riqueza das famílias Poaceae, Melastomataceae e Asteraceae nas três áreas. Além da presença de plantas da família Fabaceae nas três áreas de coleta e da família Nyctaginaceae na área Invasida, ambas reconhecidas por fazerem associações ectomicorrízicas.

As coletas ocorreram entre 17 de janeiro de 2024 e 07 de fevereiro de 2024. A temperatura média nos dias de coleta foi de 25,6 °C, com precipitação acumulada no período de cerca de 170 mm (INMET, 2024).

**Figura 2:** Pontos de coleta das áreas de estudo.



Fonte: Google Earth.

**Figura 3:** Perfil das áreas amostradas. (A) Não Invadida; (B) Controlada; (C) Invadida.



## 2.2 MÉTODO DE COLETA

Cada área de coleta teve três pontos de amostragem compostos por três subamostras. A distância entre as subamostras foi de pelo menos 15m e de pelo menos 20m entre os pontos. Adaptamos os procedimentos de coleta do protocolo disponibilizado pela SPUN (2023), conforme segue:

1. Registro das coordenadas em formato decimal dos pontos das subamostras centrais de cada ponto, plotados no mapa da Figura 2.
2. Com o uso de luvas, remoção da camada superficial (material solto).
3. Coleta das subamostras com trado metálico (5 cm de diâmetro a 10 cm de profundidade) em um saco plástico grande, com remoção das raízes grandes e pedras com a mão, se houver. É escrita do nome do local de amostragem.
4. Homogeneização das três subamostras com movimentação da parte externa do saco com as mãos. A mistura foi feita durante pelo menos 2 minutos para garantir homogeneização suficiente.
5. Remoção de uma subamostra de 10-20 gramas em um tubo plástico mantido refrigerado com gelo, sem congelar imediatamente, para evitar o impacto do congelamento e descongelamento múltiplas vezes.
6. Ida até o próximo ponto de amostragem e repetição das etapas 2-5.
7. Ao trocar de ponto de amostragem, foi preciso realizar uma lavagem do solo coletando um núcleo de solo dentro da área de amostragem e descartando-o.
8. Repetição até que todos os locais tenham sido coletados.
9. Envio das amostras para armazenamento a  $-80^{\circ}\text{C}$  assim que todas foram coletadas a cada dia de coleta.

## 2.3 EXTRAÇÃO, AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DO DNA

A extração e quantificação do DNA total das amostras de solo foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia (LAMEB) do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Santa Catarina. Esses procedimentos, assim como a amplificação e sequenciamento do DNA seguiram as diretrizes sugeridas pela SPUN (Anexo I), com adaptação do sequenciamento em 2 x 150 pb ao invés de 2 x 200 pb. A extração do DNA total das amostras de solo foi feita utilizando o DNeasy

PowerSoil Pro Kit (Qiagen, Alemanha), a partir de alíquotas de 250 mg de solo, conforme o protocolo do fabricante com adaptações (Anexo II). E a quantificação do DNA total extraído das amostras foi feita utilizando o Nanodrop Lite Plus da Thermo Scientific (tm).

A amplificação e sequenciamento do DNA foi feita pela empresa BPI - Biotecnologia, Pesquisa e Inovação (Botucatu, São Paulo - Brasil). Foi amplificada a região ITS2 através de reações em cadeia da polimerase (PCR), utilizando os primers ITS3 e ITS4. Os procedimentos de sequenciamento estão descritos no Relatório Bioinformática em Anexo III (BPI, 2024). O sequenciamento de regiões específicas do DNA com altas taxas de polimorfismo permite a distinção em níveis de família, gênero ou espécie a partir de uma amostra global. Gerando um grande número de dados, a partir dos quais é possível fazer estudos ecológicos, como a verificação de padrões de diversidade alfa e beta (SOUSA, 2021). A análise por metabarcoding é considerada complementar em conjunto com o estudo dos esporomas e das pontas de raiz (ROY *et al.*, 2017).

## 2.4 ANÁLISE DOS DADOS

Após o agrupamento das sequências em Unidade Taxonômica Operacional (OTU), foi feita a comparação com as sequências depositadas na base de dados UNITE (ABARENKOV *et al.*, 2024), por meio do software QIIME2 (BOLYEN *et al.*, 2019), utilizando o método *Naive Bayesian Classifier* com probabilidade de combinação de 0,7. A atribuição das guildas foi feita utilizando o banco de dados FungalTraits, que tem uma maior abrangência e inclui mais anotações funcionais sobre os hábitos de vida principais e secundários, forma de crescimento, simbiontes e tipo de exploração ectomicorrízica dos fungos (TANUNCHAI, *et al.*, 2023).

Foram gerados resultados gerais com todos os fungos identificados em cada área pelo menos ao nível de Filo. Depois filtramos pelo filo Basidiomycota, que é de interesse do estudo por concentrar a maior parte dos gêneros ectomicorrízicos (TEDERSOO, MAY, SMITH, 2010). Por fim, filtramos as OTUs cujo hábito de vida apareceu como ectomicorrízico no FungalTraits em qualquer nível de relevância.

As sequências que tiveram similaridade de pelo menos 97% no alinhamento com os dados encontrados na UNITE foram consideradas como uma só espécie de acordo com as espécies-hipótese do banco de dados. Quando apresentavam

diferença maior que 3%, foram consideradas espécies diferentes. Para complementar as informações sobre os táxons ectomicorrízicos, as sequências foram passadas na ferramenta BLAST (NCBI) com a busca por nucleotídeos. Foram selecionadas as correspondências com maior nível de similaridade, com cobertura maior que 90% e identificação maior que 97%.

Consideramos a frequência de ocorrência dos táxons de acordo com a presença e ausência em cada ponto e somamos por área para que elas pudessem ser comparadas. Os gráficos foram gerados em planilhas Excel, com filtros dos níveis taxonômicos analisados e inclusão dos táxons encontrados nas buscas no UNITE e Genbank. Fizemos a análise da riqueza e distribuição da ocorrência dos táxons com estatística descritiva, e avaliamos a riqueza com o Teste Kruskal-Wallis. Fizemos o cálculo de diversidade  $\beta$  com o teste PERMANOVA com a dissimilaridade de Jaccard, que é mais robusto para dados de presença e ausência (SCHROEDER; JENKINS, 2018), utilizando os pacotes vegan e ggplot2 do R.

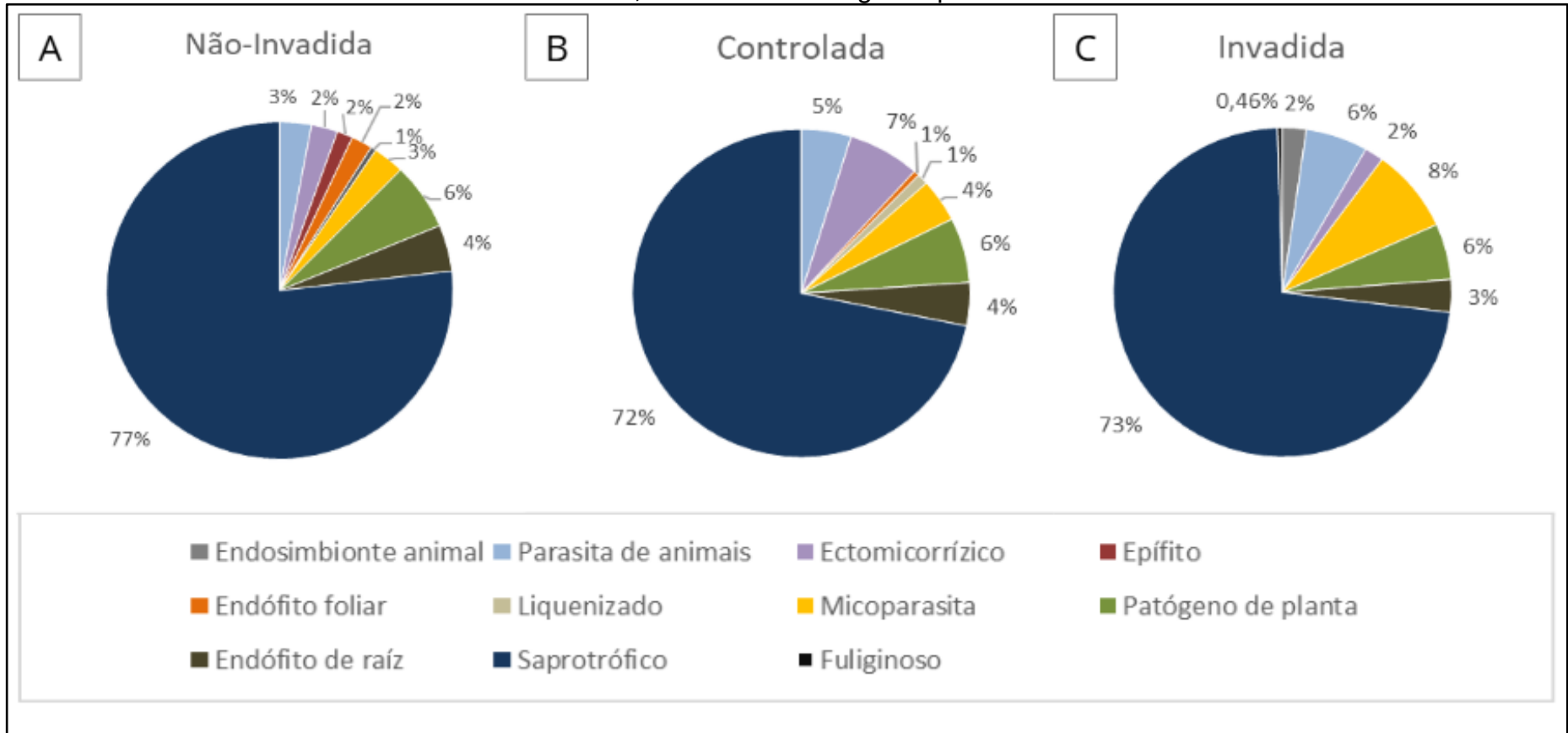
### 3. RESULTADOS

Tivemos retorno de 754 OTUs, destas, 735 foram identificadas ao nível de Filo, 675 a nível de Classe, 597 a nível de Ordem, 409 a nível de Família e 256 a nível de Gênero. É necessário considerar que o sequenciamento foi feito com 2x 150 pb, cujo comprimento comprometeu a sobreposição das leituras, com possível impacto na identificação dos táxons e, conseqüentemente, nas análises do FungalTraits.

Para quantificação das sequências, somamos as ocorrências nos três pontos de cada área. Entre as OTUs para as quais não foram atribuídas guildas conforme os dados do FungalTraits, estão 418 OTUs de Ascomycota; 45 OTUs de Basidiomycota; três de Chytridiomycota; dois de Glomeromycota; três de Mortierellomycota; 11 de Mucoromycota e um de Rozellomycota. Esses táxons com grupos funcionais não atribuídos representam 66% da área Não Invasida, 65% da área Controlada; 66% da área Invasida. Optamos por reunir os fungos saprotróficos de madeira, de serrapilheira, de solo, de néctar e de substrato não identificado em um único grupo. Houve diferença estatística em relação a presença das OTUs nas guildas primárias entre as três áreas ( $p= 0.005$ ).

As 252 OTUs identificadas ao nível de Filo com a guilda primária atribuída estão distribuídas na Figura 4 com base na soma da presença dos táxons de cada grupo funcional nas áreas:

**Figura 4** : Distribuição da ocorrência das OTUs identificadas a nível de Filo nas áreas (A) Não Invadida; (B) Controlada; (C) Invadida, de acordo com a guilda primária.



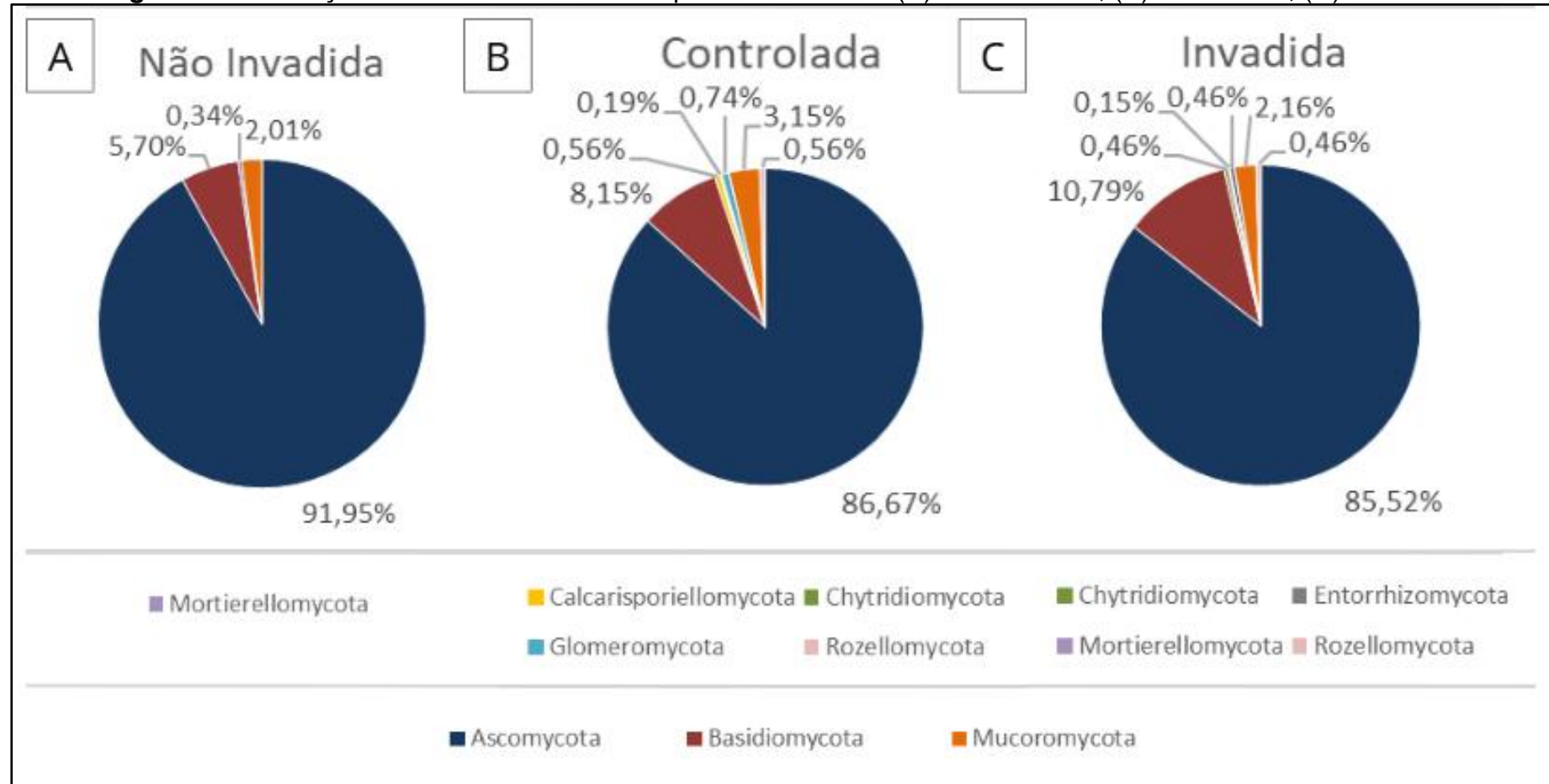
Considerando todos os filios sequenciados e com guilda primária atribuída, a maior parte dos fungos nas três áreas amostradas é saprotrófico, seja de madeira, do solo, da serrapilheira, de néctar ou que não foram especificados, com 77% de ocorrência na área Não Invasida, 72% na área Controlada e 73% na área Invasida. A maior parte dos grupos funcionais foi compartilhada pelas três áreas, com exceção dos fungos epífitos, com ocorrência exclusiva na área Não Invasida, e dos grupos de fuliginosos e endossimbiontes animais, com ocorrência apenas na área Invasida.

Em seguida, verificamos a riqueza (**Tabela 1**) e distribuição dos dados de ocorrência de todos as OTUs identificadas pelo menos ao nível de Filo, independente de atribuição do grupo funcional, em cada uma das áreas amostradas (**Figura 5**):

**Tabela 1:** Riqueza de OTUs de cada Filo por área.

<b>Filo</b>	<b>Não Invasida</b>	<b>Controlada</b>	<b>Invasida</b>
<b>Ascomycota</b>	311	295	332
<b>Basidiomycota</b>	27	31	47
<b>Calcarisporiellomycota</b>	0	1	0
<b>Chytridiomycota</b>	0	1	2
<b>Entorrhizomycota</b>	0	0	1
<b>Glomeromycota</b>	0	2	0
<b>Mortierellomycota</b>	2	0	2
<b>Mucoromycota</b>	7	10	10
<b>Rozellomycota</b>	0	1	1

**Figura 5:** Distribuição da ocorrência das OTUs por Filo nas áreas (A) Não Invadida; (B) Controlada; (C) Invadida.



\*Os Filos com maior percentual de ocorrência em comum nas três áreas são Ascomycota, Basidiomycota e Mucoromycota. Os Filos com menor ocorrência estão distribuídos embaixo da área correspondente. Não Invadida: Mortierellomycota (0,34%); Controlada: Calcarisporiellomycota (0,56%), Chytridiomycota (0,19%), Glomeromycota (0,74%) e Rozellomycota (0,56%); Invadida: Chytridiomycota (0,46%), Entorrhizomycota (0,15%), Mortierellomycota (0,46%) e Rozellomycota (0,46%).

Em termos de riqueza das OTUs em cada Filo, não houve diferença estatística entre as áreas ( $p = 0.1353$ ), mas houve diferença na composição entre elas ( $p = 0.017$ ). Os táxons do filo Ascomycota predominaram em todas as áreas, seguidos pelos táxons de Basidiomycota. Houve maior diversidade de Filos nas áreas Controlada e Invadida, em relação a área Não Invadida. Com exclusividade de ocorrência de Calcarisporiellomycota e Glomeromycota na área Controlada. E de Entorrhizomycota na área Invadida.

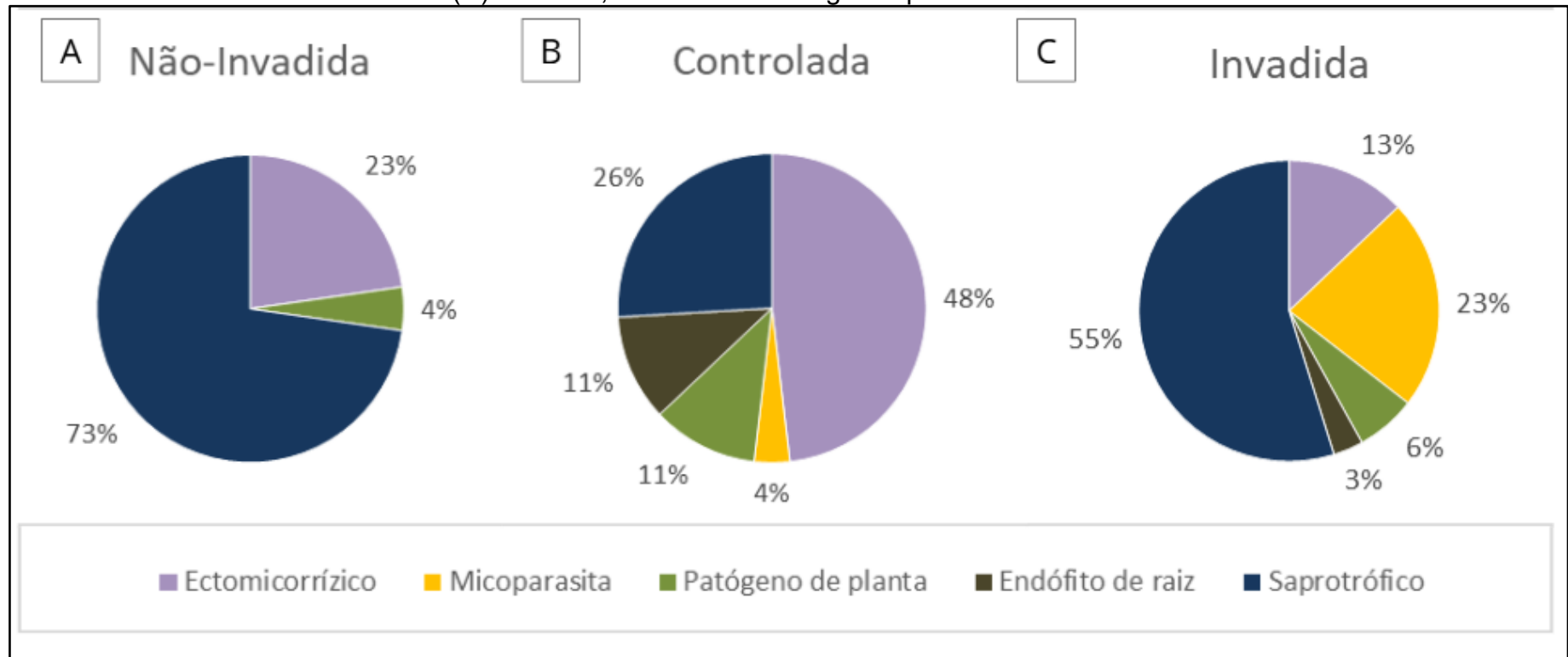
Não houve diferença significativa em relação à riqueza ao nível de família, gênero ou grupo funcional entre as áreas ( $p = 0.646$ ,  $p = 0.5557$ ,  $p = 0.2475$ ). Mas houve diferença significativa na composição das áreas em relação à ocorrência das famílias ( $p = 0.005$ ), com 19 táxons de famílias exclusivos para a área Não Invadida, 16 táxons exclusivos na área Controlada e 29 táxons exclusivos na área Invadida. Também houve diferença estatística em relação à ocorrência dos gêneros entre as áreas ( $p = 0.005$ ). Com ocorrência de 34 táxons exclusivos na área Não Invadida, 21 táxons exclusivos na área Controlada e 37 táxons exclusivos na área Invadida. Podemos perceber que quanto mais filtramos o nível taxonômico, mais diferentes as áreas se apresentam, conforme indicado pelo índice de dissimilaridade de Jaccard na Tabela 2, onde quanto mais próximo de 1 (um), mais diferentes os grupos são:

**Tabela 2:** Índice de dissimilaridade de Jaccard na composição entre as áreas.

Áreas	Guilda	Família	Gênero
Não Invadida x Controlada	0,689	0,693	0,724
Não Invadida x Invadida	0,776	0,823	0,871
Controlada x Invadida	0,735	0,769	0,804

Entre os táxons do filo Basidiomycota, foram identificadas 148 OTUs, dos quais, 80 tiveram as guildas primárias atribuídas, conforme representado no **Figura 6**. As OTUs que não tiveram atribuição da guilda primária de acordo com o FungalTraits correspondem a ocorrência de 35% na área Não Invadida, de 39% na área Controlada e de 56% na área Invadida. Não houve diferença estatística na riqueza das OTUs do filo Basidiomycota entre as áreas em nenhum nível, seja guilda primária, família ou gênero ( $p = 0.3679$ ,  $p = 0.1716$ ,  $p = 0.1826$ ).

**Figura 6:** Distribuição da ocorrência das OTUs identificadas do Filo Basidiomycota nas áreas (A) Não Invadida; (B) Controlada; (C) Invadida, de acordo com a guilda primária atribuída.



Em relação à composição dos grupos funcionais, baseado na presença e ausência de OTUs dos grupos em cada área, não houve diferença significativa entre elas ( $p = 0.074$ ). No entanto, podemos perceber, pelos gráficos, que há diferenças na proporção da distribuição das ocorrências dos grupos funcionais. Em termos de composição, a área Não Invasada diferiu das outras duas áreas, que têm presença dos mesmos grupos funcionais, mas em diferentes proporções. A área Não Invasada teve a ocorrência majoritária de 73% de fungos saprotróficos, com 23% de fungos ectomicorrízicos e 4% de patógeno de plantas. A área Controlada apresentou maior proporção de fungos ectomicorrízicos, com 48%, seguido por 26% de saprotróficos, 11% de endófitos de raiz e patógenos de plantas e 4% de micoparasita. A área Invasada, mesmo compartilhando os grupos funcionais com a área Controlada, teve 55% de fungos saprotróficos, 23% micoparasitas, 13% ectomicorrízicos, 6% patógenos de plantas e 3% endófito de raiz.

Por mais que apresentem semelhanças em relação aos grupos funcionais, quando analisamos a presença e ausência de famílias e gêneros em cada área, houve diferença estatística entre elas ( $p=0.004$  entre famílias e  $p= 0.002$  entre gêneros). A área Não Invasada apresentou nove táxons exclusivos a nível de família, a área Controlada apresentou seis táxons exclusivos e a área Invasada apresentou 12 táxons exclusivos a nível de família. Em relação aos gêneros, a área Não Invasada teve oito táxons exclusivos, a área Controlada teve sete táxons exclusivos e a área Invasada foram 11 táxons exclusivos. Podemos perceber que o mesmo padrão observado anteriormente se repete no filo Basidiomycota, onde quanto mais filtramos o nível taxonômico, mais diferentes as áreas se apresentam, conforme indicado pelo índice de dissimilaridade de Jaccard na Tabela 3, sendo que quanto mais próximo de 1 (um), mais diferentes os grupo são:

**Tabela 3:** Índice de dissimilaridade de Jaccard na composição entre as áreas.

Áreas	Guilda	Família	Gênero
Não Invasada x Controlada	0,556	0,793	0,826
Não Invasada x Invasada	0,722	0,869	0,910
Controlada x Invasada	0,556	0,770	0,818

Foram identificadas 15 OTUs do filo Basidiomycota ao nível de gênero, cujo grupo funcional ectomicorrízico apareceu em algum nível de relevância de acordo com a atribuição do FungalTraits. No entanto, o gênero *Serendipita*, que teve ocorrência nas áreas Controlada e Invadida, foi desconsiderado por falta de referência na literatura que suportasse seu status ectomicorrízico. Assim, as 14 OTUs de gêneros com status ectomicorrízico reconhecido estão distribuídas nas áreas conforme a Tabela 4:

**Tabela 4:** Distribuição dos gêneros com status ectomicorrízico reconhecido por área.

Não Invadida	Controlada	Invadida
<i>Amanita</i>	<i>Amanita</i>	<i>Suillus</i>
<i>Entoloma</i>	<i>Inocybe</i>	<i>Thelephora</i>
<i>Tomentella</i>	<i>Suillus</i>	
	<i>Clavulina</i>	
	<i>Tomentella</i>	

Todos os gêneros identificados pertencem à Classe Agaricomycetes. Com as ordens Agaricales e Thelephorales ocorrendo na área Não invadida, as ordens Agaricales, Cantharellales, Thelephorales e Boletales na área Controlada e ordens Thelephorales e Boletales na área Invadida. Na área Não Invadida houve maior proporção do gênero *Tomentella*, seguida por *Entoloma* e *Amanita*. Na área Controlada houve presença maior do gênero *Amanita*, seguida por *Tomentella* e proporções próximas de *Suillus*, *Inocybe* e *Clavulina*. E na área Invadida predominou a presença do gênero *Suillus* e uma menor proporção de *Thelephora*.

Para complementar a discussão sobre os táxons ectomicorrízicos presentes nas três áreas, comparamos as sequências das respectivas OTUs com as sequências disponíveis no GenBank (NCBI). Selecionamos os possíveis táxons com taxa de cobertura superior a 96% e taxa de identificação de pelo menos 97% (**Tabela 5**).

**Tabela 5:** Possíveis táxons ectomicorrízicos com similaridade com espécies-hipótese do UNITE e sequências depositadas no GenBank e seus registros de ocorrência na literatura.

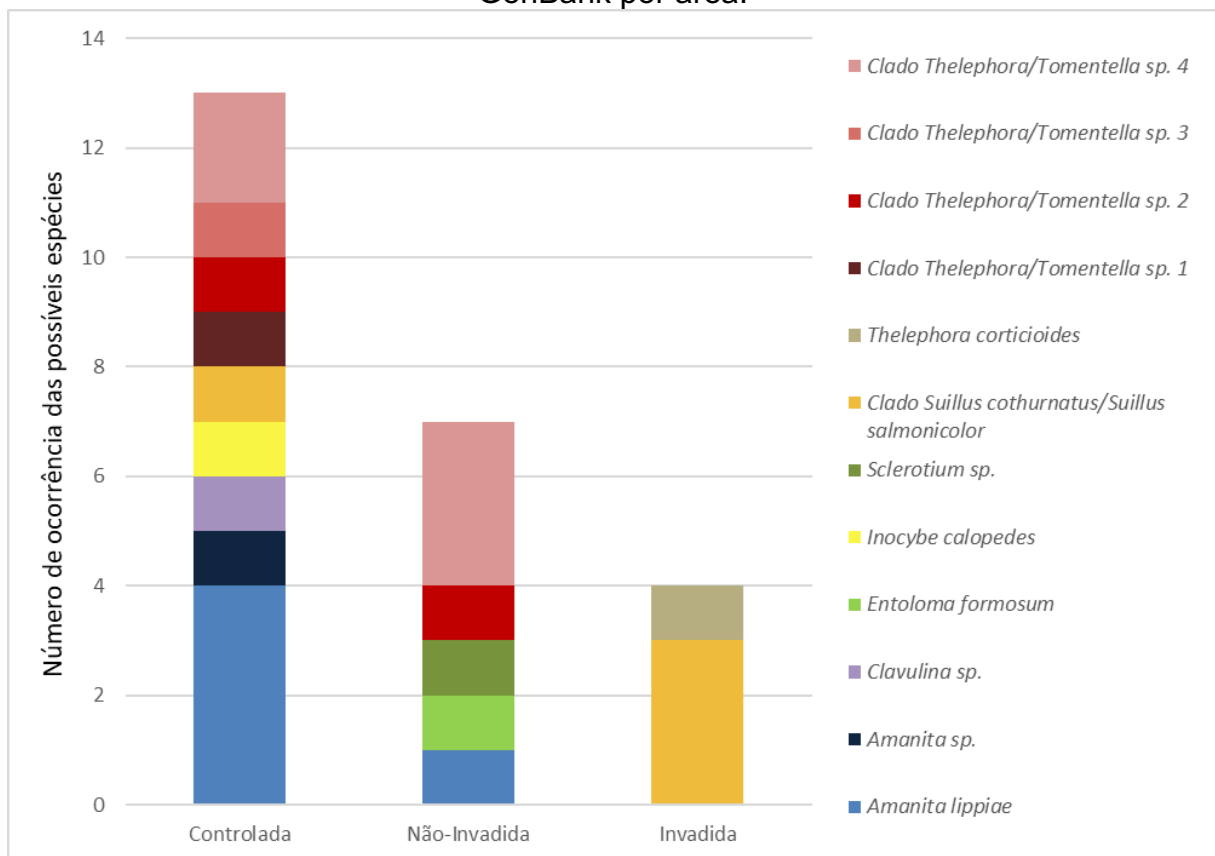
Área	Espécie-hipótese (UNITE)	OTU	Táxon (GenBank)	% de cobertura	E value	% de identificação	Ocorrência	Referência
Invadida	<i>Suillus cothurnatus</i> Singer SH0946500.10FU	79	Clado <i>Suillus cothurnatus</i> / <i>Suillus salmonicolor</i>	99%	1E-59	100%	Continente americano e Austrália	UNITE, 2025.
	<i>Thelephora corticioides</i> (Wakef.) Kõljalg, I. Saar & Svantesson SH0919151.10FU	89	Thelephoraceae	100%	1E-59	99,25%	América do Norte (Estados Unidos e Cuba)	WAKEFIELD, 1960; UNITE, 2025.
Controlada	-	6	<i>Amanita lippiae</i>	97%	7E-58	99,24%	Nordeste do Brasil	WARTCHOW; TULLOSS; CAVALCANTI, 2009
	-	249	<i>Amanita lippiae</i>	97%	3E-62	99,28%	Nordeste do Brasil	WARTCHOW; TULLOSS; CAVALCANTI, 2009
	-	403	<i>Amanita lippiae</i>	96%	7E-58	99,24%	Nordeste do Brasil	WARTCHOW; TULLOSS; CAVALCANTI, 2009
	<i>Amanita</i> Pers. SH0963889.10FU	599	<i>Amanita</i> sp.	97%	7E-63	99,28%	Centro-oeste do Brasil	UNITE, 2025.

Área	Espécie-hipótese (UNITE)	OTU	Táxon (GenBank)	% de cobertura	E value	% de identificação	Ocorrência	Referência
	<i>Inocybe</i> (Fr.) Fr. SH1015801.10FU	583	<i>Inocybe calopedes</i>	96%	1E-55	98,46%	Austrália	UNITE, 2025.
	<i>Clavulina</i> J. Schröt. SH0858084.10FU	98	<i>Clavulina</i> sp.	98%	2E-58	98,51%	Guiana e no Nordeste do Brasil	
	<i>Suillus cothurnatus</i> Singer SH0946500.10FU	79	Clado <i>Suillus cothurnatus</i> / <i>Suillus salmonicolor</i>	99%	1E-59	100%	Continente americano e Austrália	UNITE, 2025.
	-	844	Clado <i>Thelephora/Tomentella</i> sp. 1	87%	9E-57	99,22%	Ilha de Vancouver, Canadá	BERCH,S.M.; WITTE,T.E.; TANNEY,J.B., 2023
	<i>Thelephora</i> Ehrh. ex Willd. SH0842568.10FU	40	Clado <i>Thelephora/Tomentella</i> sp. 2	100%	5E-59	99,24%	Sul do Brasil	UNITE, 2025.
	<i>Thelephora</i> Ehrh. ex Willd. SH0920657.10FU	22	Clado <i>Thelephora/Tomentella</i> sp. 3	50%	1E-59	100,00%	Costa brasileira e nas Ilhas Virgens Britânicas	UNITE, 2025.
	<i>Thelephora</i> Ehrh. ex Willd. SH0922167.10FU	39	Clado <i>Thelephora/Tomentella</i> sp. 4	91%	1E-59	100%	Sul e Nordeste do Brasil.	UNITE, 2025.

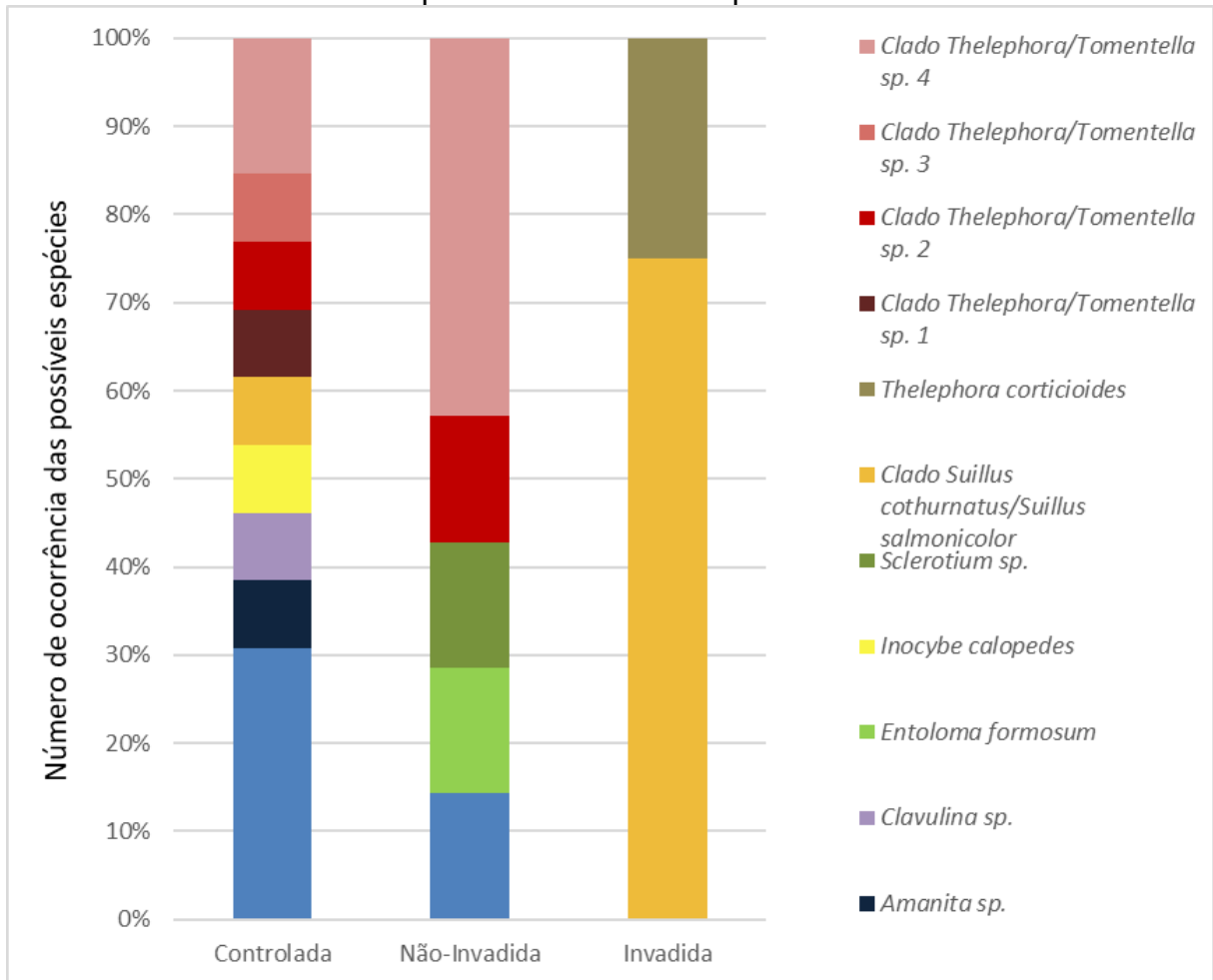
Área	Espécie-hipótese (UNITE)	OTU	Táxon (GenBank)	% de cobertura	E value	% de identificação	Ocorrência	Referência
Não Invasora	<i>Entoloma</i> (Fr.) P. Kumm. SH0869042.10FU	601	<i>Sclerotium</i> sp.	92%	1E-59	100%	Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste do Brasil	SULZBACHER <i>et al.</i> (2017) UNITE, 2025.
	-	316	<i>Entoloma formosum</i>	94%	4E-55	97,01%	Reino Unido	MITCHEL, 2007; STOREY, 2019
	<i>Thelephora</i> Ehrh. ex Willd. SH0842568.10FU	40	Clado <i>Thelephora/Tomentella</i> sp. 2	100%	5E-59	99,24%	Sul do Brasil	UNITE, 2025.
	<i>Thelephora</i> Ehrh. ex Willd. SH0922167.10FU	39	Clado <i>Thelephora/Tomentella</i> sp. 4	91%	1E-59	100%	Sul e Nordeste do Brasil.	UNITE, 2025.
	-	6	<i>Amanita lippiae</i>	97%	7E-58	99,24%	Nordeste do Brasil	WARTCHOW; TULLOSS; CAVALCANTI, 2009

Optamos por utilizar o Clado *Suillus cothurnatus* Singer/*Suillus Salmonicolor* (Frost) Halling por ser um clado bem estabelecido, mas com as relações entre as espécies ainda não bem definidas e a possibilidade de que sejam considerados sinônimos (NGUYEN; VELLINGA; KENNEDY, 2016). Utilizamos também o Clado *Thelephora/Tomentella*, por ser um clado monofilético com a delimitação dos gêneros não resolvida. A junção dos táxons *Tomentella* e *Thelephora* em um só gênero foi proposta por Kõljalg, Saar e Svantesson (2024) com base em dados morfológicos e moleculares. A distribuição dos possíveis táxons por número de ocorrência está representada no Figura 7 e a proporção da distribuição entre as três áreas no Figura 8.

**Figura 7:** Distribuição das possíveis espécies que formam EcMs comparadas no GenBank por área.



**Figura 8:** Proporção da distribuição das possíveis espécies que formam EcMs comparadas no GenBank por área.



Houve diferença estatística na presença das espécies entre as três áreas ( $p = 0.018$ ), com diferença na proporção das ocorrências dos táxons ectomicorrízicos. Em termos de riqueza de espécies, foram identificados nove possíveis táxons diferentes na área Controlada, cinco na área Não Invasida e dois na área Invasida. Entre os táxons compartilhados entre as áreas, três ocorreram nas áreas Controlada e Não Invasida (*Amanita lippiae* Wartchow & Tulloss, *Thelephora/Tomentella sp. 2* e *Thelephora/Tomentella sp. 4*), com maior proporção de ocorrência na área Controlada. O único táxon compartilhado pelas áreas Controlada e Invasida foi o Clado *Suillus cothurnatus/Suillus Salmonicolor*, com proporção de ocorrência maior na área Invasida. As áreas Não Invasida e Invasida não compartilharam nenhum táxon, sendo totalmente diferentes em termos de composição de fungos ectomicorrízicos do filo Basidiomycota.

Os possíveis táxons exclusivos da área Controlada foram *Thelephora/Tomentella* sp. 1 e *Thelephora/Tomentella* sp. 3, *Inocybe calopedes* Matheny & Bougher, *Clavulina* sp. e *Amanita* sp. Os possíveis táxons exclusivos da área Não Invadida foram *Sclerotium* sp. e *Entoloma formosum* (Fr.) Noordel. E o possível táxon que só ocorreu na área Invadida foi *Thelephora corticioides* (Wakef.) Kõljalg, I. Saar & Svantesson. Não houve nenhum táxon compartilhado pelas três áreas.

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1 DISTRIBUIÇÃO DAS COMUNIDADES FÚNGICAS

A distribuição das comunidades fúngicas apresentou diferença entre as áreas considerando todos os táxons identificados pelo menos a nível de Filo, e também quando foram filtrados pelo filo Basidiomycota. Na primeira análise, cerca de 65% dos táxons de cada área não tiveram grupo funcional atribuído. Quando filtrados pelo filo Basidiomycota, esse valor teve variação entre as áreas, com menos de 40% de táxons com grupo funcional não atribuído nas áreas Não Invadida e na área Controlada e com mais de 50% na área Invadida. Esses dados corroboram outros estudos e podem ser justificados pela falta de especialistas para fazer as caracterizações taxonômicas nos biomas das regiões Neotropicais (TEDERSOO *et al.*, 2014; CORRALES *et al.*, 2022).

Entre os táxons com grupo funcional atribuído, a maior parte, nas três áreas, foi de fungos saprotróficos, seguido por ectomicorrízicos na área Controlada. Da mesma forma, Alvarez-Manjarrez *et al.* (2024), em estudo da composição da comunidade fúngica após a passagem do furacão Patrícia, encontraram maior abundância de saprotróficos e ectomicorrízicos e maior competição entre esses dois grupos. Os fungos saprotróficos desempenham papel fundamental no ecossistema decompondo a matéria orgânica, que neste estudo, pode ser proveniente tanto da serrapilheira produzida pela vegetação nativa da área Não Invadida, da madeira dos *Pinus* cortados na área Controlada e da serrapilheira da área Invadida. Della Vechia *et al.* (2021, 2025) encontrou maior quantidade de serrapilheira na área Invadida em comparação com as áreas Não Invadida e Controlada, composta principalmente por

acículas dos pinheiros, mas afirmou que esse tipo de material não seria tão atrativo para a microbiota, explicando o acúmulo.

A presença dos fungos ectomicorrízicos na área Controlada fica ainda mais evidente com o filtro pelo filo Basidiomycota. Esse tipo de interação se mostrou mais resiliente após o furacão no estudo de Alvarez-Manjarrez *et al.* (2024) e apesar de ter diminuído em abundância no ano seguinte, ainda se manteve presente e em competição com os fungos saprotróficos. Não há precisão em relação ao tempo do manejo do *Pinus elliottii* na área Controlada, mas o tempo mínimo do manejo anterior à coleta foi de quatro anos. Tendo em vista o tempo relatado, é possível que tenha ocorrido a estabilização da comunidade de fungos ectomicorrízicos após a mudança na composição da vegetação. Sendo que a presença dos táxons ectomicorrízicos está relacionada com as espécies vegetais simbiotes que compõem a comunidade (CORRALES *et al.*, 2022).

A distribuição dos Filos também variou nas áreas em relação à riqueza e número de ocorrências. A área Não Invasida teve menor riqueza, com a presença de quatro Filos (Ascomycota, Basidiomycota, Mortierellomycota, Mucoromycota). As áreas Controladas e Invasida tiveram maior diversidade fúngica de diferentes Filos e compartilharam mais Filos entre si, inclusive com valores próximos de riqueza. Hipotetizamos que houve a persistência de Filos que estavam habituados às condições do ambiente invadido por *Pinus elliottii* e se estabeleceram, encontrando condições adequadas para manutenção mesmo depois do manejo. Fatores bióticos e abióticos também podem contribuir para essa manutenção dos Filos que permaneceram, sendo que o único que registramos somente na área Invasida, sem ocorrência na área Controlada, foi Entorrhizomycota, um grupo de fungos colonizadores de raízes de plantas das famílias Cyperaceae e Juncaceae (BAUER *et al.*, 2015). Alvarez-Manjarrez *et al.* (2021) também encontraram predominância dos filios Ascomycota e Basidiomycota nas áreas afetadas pelo furacão em todas as coletas, mas tiveram maior riqueza de fungos do filo Glomeromycota após a ocorrência do furacão, sendo que esse Filo só apareceu na área Controlada e com riqueza bem baixa (1 OTU).

As diferenças entre a composição dos grupos funcionais das áreas de uma maneira geral e com foco no Filo Basidiomycota foram menores, principalmente em relação às áreas Controlada e Invasida, do que quando observada as ocorrências a nível de família e gênero. Isso pode acontecer em virtude da redundância ecológica,

onde diferentes táxons desempenham papéis semelhantes no ambiente, o que também foi observado por Alvarez-Manjarrez *et al.* (2021).

## 4.2 DISTRIBUIÇÃO DOS TÁXONS ECTOMICORRÍZICOS

Entre as OTUs encontradas, identificamos sete gêneros reconhecidamente ectomicorrízicos, com similaridade com algumas espécies-hipótese registradas na base de dados da UNITE e sequências depositadas no GenBank (**Tabela 5**). Esses gêneros pertencem a linhagens ectomicorrízicas comuns em florestas como */clavulina*, */inocybe*, e */tomentella-thelephora* (ALVAREZ-MANJARREZ, GARIBAY-ORIJEL e SMITH, 2018).

Entre os táxons de fungos ectomicorrízicos exóticos, temos a indicação da ocorrência de três táxons na área Controlada e dois na área Invasida. Com a verificação da taxa de micorrização e análise morfológica das pontas de raízes, Della Vechia *et al.* (2021, 2025) não encontrou associações de espécies exóticas na área Não Invasida e, mesmo sem diferença estatística significativa, encontrou menos associações ectomicorrízicas na área Controlada. É importante salientar que o estudo realizado pela autora foi feito seis anos após o corte na área estudada e a ela sugeriu que a comunidade estava começando a se recompor. Possivelmente, o intervalo de tempo de quatro a 14 anos entre o manejo do *P. elliotii* e o presente estudo foi suficiente para restabelecer as comunidades. A coleta e análise morfológica e molecular das pontas de raízes poderiam complementar os dados deste estudo e indicar os simbiontes envolvidos nas associações ectomicorrízicas com maior precisão.

Encontramos na área Não Invasida similaridade com uma espécie de *Entoloma*, que não é reconhecida como ectomicorrízica e tem registro de ocorrência no Reino Unido. Optamos por manter este táxon na discussão em virtude das constantes atualizações sobre o gênero *Entoloma*, com espécies reconhecidamente ectomicorrízicas.

### 4.2.1 *Amanita* spp. (Agaricaceae)

Esse gênero foi encontrado nas áreas Controlada (5 OTUs) e Não Invasida (1 OTU). Esse é um dos gêneros mais conhecidos entre os fungos do filo Basidiomycota,

com mais de 500 espécies descritas (ZHANG *et al.*, 2015). É um gênero diverso e cosmopolita, que possui um clado com hábito ectomicorrízico, além de subgêneros e seções não ectomicorrízicas considerados sapróbios ou endófitos de raízes (TULLOS *et al.*, 2016; TRUONG *et al.*, 2017). Tem-se o registro da ocorrência de 35 espécies na América do Sul (FURTADO *et al.* 2022), o que é proporcionalmente pouco quando comparado ao número de espécies descritas nas regiões temperadas, onde os estudos já acontecem há mais de 200 anos. E, mesmo nesses locais, ainda há mais espécies sendo descritas, por isso os registros na América do Sul podem estar sub representados. (ZHANG *et al.*, 2015; TRUONG *et al.*, 2017). Dentre as espécies descritas para a América do Sul, 25 foram encontradas em florestas nativas do Brasil (FURTADO *et al.* 2022).

Entre as possíveis espécies do gênero *Amanita*, houve similaridade com uma espécie-hipótese (SH0963889.10FU) na base de dados UNITE, coletada na região Centro-oeste do Brasil. Além da ocorrência de outras três OTUs sem correspondência nessa base de dados, mas que se encaixaram nos critérios adotados para as sequências consultadas no GenBank, apresentando similaridade com a espécie *Amanita lippie*. Essa espécie foi descrita para a região Nordeste do Brasil, no bioma Caatinga, que inclui a região do semiárido. Foi encontrada em solo arenoso, o que corresponde ao tipo de solo coletado neste estudo. Foi indicada possível associação com plantas do gênero *Lippia* L., Verbenaceae (WARTCHOW; TULLOSS; CAVALCANTI, 2009), nativa do Brasil e com registro em vários domínios fitogeográficos brasileiros, inclusive na Mata Atlântica, em área de restinga (SALIMENA; CARDOSO, 2025). Em Florianópolis há o registro das espécies *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P.Wilson e *Lippia dulcis* Trevir. com espécimes depositados no herbário FLOR (FLOR, 2025).

Outras espécies de *Amanita* já foram registradas na restinga em Florianópolis. Entre elas está *Amanita viscidolutea* Menolli, Capelari & Baseia, cuja associação ectomicorrízica com *Guapira apposita* (Vell.) Reitz foi registrada na restinga de Florianópolis (FURTADO *et al.*, 2022). Tanto na área Controlada, quanto na área Não invadida, temos a presença de indivíduos de *Guapira apposita*. Embora não tenham similaridade com as OTUs encontradas, é possível que ocorram essa e outras espécies de *Amanita* que fazem associação ectomicorrízica com *Guapira apposita*, nas áreas amostradas.

#### 4.2.2 *Entoloma* spp. (Entolomataceae)

De acordo com a literatura, *Entoloma* é considerado um gênero altamente diverso e cosmopolita que inclui espécies com hábitos saprotróficos, ectomicorrízicos ou parasitas. (SÁNCHEZ-GARCÍA; MATHENY, 2017). As OTUs com similaridade com o gênero *Entoloma* foram encontradas apenas na área Não Invasida (2 OTUs) e a identificação da guilda primária no FungalTraits foi de saprotrófico de solo, sendo o hábito ectomicorrízico considerado em ordem menos prioritária. Mesmo sendo um gênero muito diverso, apenas o clado monofilético *Rhodopolioid* é reconhecidamente ectomicorrízico (SÁNCHEZ-GARCÍA; MATHENY, 2017). Ainda assim, optamos por manter o gênero e os possíveis táxons encontrados como ectomicorrízicos, pois não há informação suficiente sobre as espécies neotropicais que confirmem ou refutem a possibilidade de serem sequências próximas de táxons ectomicorrízicos.

Entre as possíveis espécies do gênero *Entoloma*, houve similaridade com a espécie-hipótese (SH0869042.10FU) coletada em São Paulo (BR) e o sequenciamento de outra possível espécie (OTU 316) sem correspondência na base de dados da UNITE. Após consulta por nucleotídeo no GenBank, tivemos a correspondência com *Sclerotium* sp. e com *Entoloma formosum*, respectivamente. A morfologia de esclerócio é encontrada em diversas linhagens de fungos, no entanto a sequência de *Sclerotium* sp. com similaridade com a sequência da OTU 601, foi relatada por Sulzbacher *et al.* (2017) como relacionada a linhagem de *Entoloma* e foi encontrado em área de restinga no Rio Grande do Norte preso às raízes finas de *Coccoloba laevis*, possivelmente em associação ectomicorrízica. Já *Entoloma formosum*, com similaridade com a OTU 316, foi registrado no Reino Unido em áreas de pastagem (MITCHEL, 2007; STOREY, 2019), o que indicaria a presença de um fungo exótico na área Não Invasida. No entanto, como não há registro desta espécie em associações ectomicorrízicas, não podemos afirmar que se trata de um fungo ectomicorrízico exótico nesta área.

#### 4.2.3 *Inocybe* sp. (Inocybaceae)

A OTU identificada como gênero *Inocybe* teve similaridade com as sequências de DNA de uma espécie-hipótese (SH1015801.10FU) registrada em coletas de solo feitas no Nordeste do Brasil. Esse gênero foi encontrado apenas na área Controlada

(1 OTU). De acordo com a literatura, *Inocybe sensu stricto* é o maior gênero da família Inocybaceae, com cerca de 1050 espécies, mas este número provavelmente representa uma subrepresentação diante do esforço na descrição de novas espécies e novos estudos filogenéticos (CSIZMÁR *et al.*, 2023). Ele é cosmopolita e ocorre por todo o globo, exceto na Antártica. Pode ser encontrado em ambientes urbanos, crescendo em solos secos e arenosos.

As espécies desse gênero têm hábito ectomicorrízico, com associações registradas com plantas de 23 famílias, algumas das quais ocorrem na restinga, como Nyctaginaceae. Esse é o único gênero da família Inocybaceae até então relatado no sul da América do Sul (MATHENY; HOBBS; ESTEVE-RAVENTÓS, 2020). Alvarez-Manjarrez, Garibay-Orijel e Smith (2018) encontraram, no México, fungos do gênero *Inocybe* associados às plantas da família Achatocarpaceae e Nyctaginaceae (*Pisonia* sp.). A sequência encontrada teve similaridade com *Inocybe calopedes* quando comparada pela busca por nucleotídeo no GenBank e essa espécie tem registro de ocorrência na Austrália, o que indicaria ser um fungo ectomicorrízico exótico presente na área Controlada.

#### 4.2.4 Clado *Suillus cothurnatus/Suillus Salmonicolor* (Boletaceae)

O gênero *Suillus* contém cerca de 100 espécies descritas reconhecidamente ectomicorrízicas, que se associam quase exclusivamente com espécies da família Pinaceae (NGUYEN; VELLINGA; KENNEDY, 2016). Há indicação de especificidade nas associações, mas algumas linhagens podem associar-se a mais de uma espécie de hospedeiro. Ele auxilia na nutrição, absorção de água e proteção dos pinheiros (KRETZER *et al.*, 1996; MUDBHARI *et al.*, 2024), inclusive a associação tem efeito positivo para a planta em solos contaminados (COINASKI *et al.*, 2022). É um gênero originário do hemisfério norte, mas que se adaptou ao hemisfério sul em associação com hospedeiros que foram introduzidos (NGUYEN; VELLINGA; KENNEDY, 2016).

Esse táxon foi encontrado nas áreas Controlada (1 OTU) e Invasida (3 OTUs). Entre as possíveis espécies do gênero *Suillus*, temos a indicação do clado *Suillus cothurnatus/salmonicolor* (SH0946500.10FU), que é composto por simbioses de *Pinus* spp. A predominância da presença de *Pinus elliottii* na área Invasida justifica a presença de sequências desse clado nos três pontos amostrados. A presença na área Controlada após a remoção dos *Pinus* em um período entre quatro e 14 anos pode

indicar a não dependência do simbiote ou a possibilidade de associação com outras espécies presentes na restinga. Della Vechia *et al.* (2021, 2025) também encontrou alta taxa de ectomicorrizas na área Invadida, típicas do gênero *Pinus* e outros morfotipos, que sugeriu serem de associações com espécies de fungos nativos. No entanto, essa indicação não se repetiu neste estudo, pois os dois possíveis táxons ectomicorrízicos identificados nesta área são exóticos.

#### 4.2.5 *Clavulina* sp. (Hydnaceae)

O gênero *Clavulina* foi encontrado apenas na área Controlada (1 OTU). A espécie-hipótese (SH0858084.10FU) está relacionada com espécimes coletados nos Neotrópicos, na Guiana e na região Nordeste do Brasil. O gênero *Clavulina* é dominante em comunidades ectomicorrízicas tanto em regiões temperadas, principalmente associadas a plantas da família Pinaceae, quanto nos Neotrópicos, associadas aos gêneros *Dicymbe*, *Aldina*, *Pakaraimaea*, *Coccoloba* e *Neea* (UEHLING *et al.*, 2012; ARGÜELLES-MOYAO *et al.*, 2017). Esta última pertencente à família Nyctaginaceae, que também inclui espécies nativas da restinga. Alvarez-Manjarrez, Garibay-Orijel e Smith (2018) encontraram, no México, fungos do gênero *Clavulina* associados a plantas das famílias Achatocarpaceae e, preferencialmente, com Nyctaginaceae, incluindo uma espécie do gênero *Guapira*, que também ocorre na restinga de Florianópolis. Por ser um gênero tão diverso, é difícil afirmar se *Clavulina* sp. é um fungo exótico remanescente de associações com *Pinus elliottii* antes do manejo, se é uma espécie nativa associada às espécies vegetais oriundas da restinga, ou ainda se mudou seu simbiote em função das alterações ambientais.

#### 4.2.6 Clado *Thelephora/Tomentella* (Thelephoraceae)

Kõljalg, Saar e Svantesson (2024) afirmam que a linhagem *Itomentella-thelephora* é um dos grupos ectomicorrízicos com mais espécies presentes em estudos de DNA. A linhagem *Itomentella-thelephora* contém cerca de 800 espécies e subespécies conhecidas, mas a estimativa do número de espécies é muito maior (ALVAREZ-MANJARREZ *et al.*, 2025). Esse táxon é amplamente distribuído, comum em regiões tropicais e faz associações com diversas famílias de plantas, sendo considerado generalista. Alvarez-Manjarrez, Garibay-Orijel e Smith (2018)

encontraram, no México, fungos do gênero *Tomentella* associados a plantas das famílias Achatocarpaceae, Nyctaginaceae, Fabaceae e Apocynaceae. E do gênero *Thelephora* associados a plantas das famílias Araliaceae, Achatocarpaceae, Polygonaceae e Surianaceae.

Encontramos sequências desse clado nas áreas Controlada (5 OTUs), Não Invadida (4 OTUs) e Invadida (1 OTU). Nas áreas Controlada e Não Invadida, encontramos similaridade com duas espécies-hipótese, nomeadas como Clado *Thelephora/Tomentella* sp. 2 e Clado *Thelephora/Tomentella* sp. 4. E na na área Controlada encontramos similaridade com outras duas espécies, nomeadas como Clado *Thelephora/Tomentella* sp. 1 e Clado *Thelephora/Tomentella* sp. 3., conforme apresentado na Tabela 5. A área Controlada teve mais ocorrências de possíveis espécies do Clado *Thelephora/Tomentella*. Uma delas, nomeada como Clado *Thelephora/Tomentella* sp. 2, corresponde à espécie-hipótese SH0842568.10FU, coletada na região Sul do Brasil. Além da similaridade com outra, nomeada como Clado *Thelephora/Tomentella* sp. 3, espécie-hipótese (SH0920657.10FU) coletada em nove diferentes pontos da costa brasileira e nas Ilhas Virgens Britânicas. Outra espécie-hipótese (SH0922167.10FU), nomeada como Clado *Thelephora/Tomentella* sp. 4, tem registro de coletada nas regiões Sul e Nordeste do Brasil. A OTU 844, nomeada como Clado *Thelephora/Tomentella* sp. 1, não teve correspondência na base de dados da UNITE, mas teve similaridade com uma sequência depositada no GenBank, com registro de coleta na Ilha de Vancouver (Canadá) associada às raízes de *Quercus garryana* (Fagaceae), indicando ser uma espécie ectomicorrízica exótica.

Na área Invadida tivemos similaridade com a espécie-hipótese *Thelephora corticioides* (Wakef.) Kõljalg, I. Saar & Svantesson (SH0919151.10FU), com espécimes coletados em Cuba e nos Estados Unidos. Essa espécie foi descrita inicialmente como *Tomentella corticioides* Wakef. junto com outras espécies de *Tomentella* com ocorrência na América do Norte (WAKEFIELD, 1960). Para essa OTU, a busca no GenBank resultou em similaridade com uma sequência identificada a nível de família como Thelephoraceae.

### 4.3 IMPORTÂNCIA ECOLÓGICA

As áreas Invasida e Controlada podem ser descritas como estágios sucessionais após perturbação, com a invasão por *Pinus elliottii* e posterior manejo da espécie. No entanto, diferente do que foi encontrado no trabalho de Alvarez-Manjarrez *et al.* (2021) onde ocorreu um acréscimo no número de OTUs depois do furacão e diminuição após o segundo ano, neste estudo houve pouca diferença entre o número de OTUs encontradas nas três áreas, sendo 347 OTUs na área Não Invasida, 341 OTUs na área Controlada e 395 OTUs na área Invasida. Talvez o tempo de estabelecimento dos *Pinus* na área Invasida e o manejo na área Controlada com intervalos superiores aos dois anos do estudo citado já tenham sido suficientes para a estabilização dessas comunidades. Da mesma forma, não houve diferença na proporção de patógenos de plantas, como indicado por Alvarez-Manjarrez *et al.* (2021), que se mostraram mais recorrentes apenas quando filtramos o filo Basidiomycota.

Além disso, a presença de táxons comprovadamente ectomicorrízicos exóticos apenas nas áreas Controlada e Invasida sugerem que a presença do *P. elliottii* nessas áreas pode ter interferido na composição da comunidade fúngica. A persistência do clado *Suillus cothurnatus/Suillus Salmonicolor* e a presença de outras possíveis espécies exóticas na área Controlada podem indicar um efeito de legado deixado pelo *P. elliottii* após sua remoção. | Esses fungos podem ter se estabelecido em associações com outras espécies vegetais presentes na restinga.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com os resultados do sequenciamento do DNA dos fungos presentes na restinga do Parque Municipal das Dunas da Lagoa da Conceição em Florianópolis/SC, foi possível comprovar que a composição das comunidades fúngicas diferiu entre as áreas amostradas. A composição das guildas diferiu, principalmente, entre a área Não Invadida, em relação às áreas Controlada e Invadida. E as três áreas têm composições diferentes quando analisadas ao nível de família e gênero.

A composição dos táxons ectomicorrízicos também diferiu entre as áreas, com maior diversidade na área Controlada e com a presença de táxons reconhecidamente ectomicorrízicos exóticos nas áreas Controlada e Invadida. Pode-se inferir que é muito provável que essas diferenças estejam relacionadas com a presença do *Pinus elliottii*, que além de alterar a paisagem, altera as comunidades abaixo do solo.

Esse é um dos primeiros estudos comparando a composição das comunidades fúngicas entre áreas com e sem a presença de *P. elliottii* na restinga de Florianópolis, com o uso de sequenciamento de DNA. A realização de estudos futuros com maior esforço amostral é necessária para melhor representatividade dos fungos ectomicorrízicos e idealmente com a extração do DNA das pontas de raízes para reconhecer os simbiossiontes ectomicorrízicos (fungos e plantas). Além da coleta de mais dados bióticos e abióticos para compreender como a composição das comunidades fúngicas na restinga se relaciona com os fatores ambientais.

A grande proporção de OTUs não identificadas a nível de espécie e grupo funcional ressalta a necessidade de mais estudos taxonômicos e ecológicos para identificação dos táxons presentes na restinga. Assim, será possível compreender os impactos dos fungos ectomicorrízicos exóticos em relação à composição vegetal e fúngica no ambiente. E, com isso, propor estratégias de conservação e restauração envolvendo os simbiossiontes fúngicos.

## REFERÊNCIAS

- ABARENKOV, Kessy *et al.* The UNITE database for molecular identification and taxonomic communication of fungi and other eukaryotes: sequences, taxa and classifications reconsidered. **Nucleic Acids Research**, v. 52, n. D1, p. D791–D797, jan. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkad1039> Disponível em: <https://academic.oup.com/nar/article/52/D1/D791/7416391> Acesso em: 27 out. 2025.
- ALVAREZ-MANJARREZ, J.; GARIBAY-ORIJEL, R.; SMITH, M. E. Caryophyllales are the main hosts of a unique set of ectomycorrhizal fungi in a Neotropical dry forest. **Mycorrhiza**, v. 28, n. 2, p. 103–115, fev. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00572-017-0807-7> Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00572-017-0807-7> Acesso em: 27 out. 2025.
- ALVAREZ-MANJARREZ, J.; GARIBAY-ORIJEL, R. Resilience of soil fungal community to hurricane Patricia (category 4). **Forest Ecology and Management**, v. 498, p. 119550, out. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2021.119550> Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S037811272100640X> Acesso em: 27 out. 2025.
- ALVAREZ-MANJARREZ, J. *et al.* Impact of hurricane disturbance on mycorrhizal co-occurrence networks: Resilience and community dynamics in the Neotropics. **Fungal Ecology**, v. 70, p. 101354, ago. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2024.101354> Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1754504824000254> Acesso em: 27 out. 2025.
- ALVAREZ-MANJARREZ, J. *et al.* New species of *Thelephora* (Thelephorales, Basidiomycota) associated with *Dicymbe* and *Aldina* in Guyana. **Mycologia**, v. 117, n. 3, p. 480–498, maio 2025. DOI: <https://doi.org/10.1080/00275514.2025.2472593> Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00275514.2025.2472593> Acesso em: 27 out. 2025.
- ARGÜELLES-MOYAO, A. *et al.* *Clavulina-Membranomyces* is the most important lineage within the highly diverse ectomycorrhizal fungal community of *Abies religiosa*. **Mycorrhiza**, v. 27, n. 1, p. 53–65, jan. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00572-016-0724-1> Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00572-016-0724-1> Acesso em: 27 out. 2025.
- BAUER, R. *et al.* Entorrhizomycota: A New Fungal Phylum Reveals New Perspectives on the Evolution of Fungi. **PLOS ONE**, v. 10, n. 7, 19 p., jul. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128183> Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0128183> Acesso em: 27 out. 2025.
- BECHARA, F. C. *et al.* Reproductive biology and early establishment of *Pinus elliottii* *i var. elliottii* in Brazilian sandy coastal plain vegetation: implications for biological

invasion. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 70, n. 2, p. 88-92, abr. 2013. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-90162013000200005> Disponível em: <https://www.scielo.br/j/sa/a/W3tQWKzhyRQv6Ff3VHFysbr/> Acesso em: 27 out. 2025.

BERCH, S. M.; WITTE, T. E.; TANNEY, J. B. Preliminary assessment of the ectomycorrhizal fungi of *Quercus garryana* on Vancouver Island, British Columbia, Canada. **Botany**, v. 101, n. 10, p. 424–448, out. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1139/cjb-2023-0024> Disponível em: <https://cdnsiencepub.com/doi/10.1139/cjb-2023-0024> Acesso em: 28 out. 2025.

BIEDERMANN, P. H. W.; VEGA, F. E. Ecology and Evolution of Insect–Fungus Mutualisms. **Annual Review of Entomology**, v. 65, n. 1, p. 431–455, jan. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011019-024910> Disponível em: <https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev-ento-011019-024910> Acesso em: 27 out. 2025.

BOLYEN, E. *et al.* Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. **Nat Biotechnol**, n. 37, p. 852–857, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9> DISPONÍVEL EM: <https://www.nature.com/articles/s41587-019-0209-9> Acesso em: 27 out. 2025.

BORGERT, M. A. **Efeito da invasão biológica e do manejo de *Pinus elliottii* no crescimento de raízes em comunidades vegetais de restinga no Sul do Brasil**. 2021. 41 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas, Ecologia e Zoologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2021. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/228711> Acesso em: 27 out. 2025.

BPI. Biotecnologia, Pesquisa e Inovação. **Relatório Bioinformática**. Botucatu (SP), BPI, 2024.

CORBIN, J. D.; D'ANTONIO, C. M. Gone but Not Forgotten? Invasive Plants' Legacies on Community and Ecosystem Properties. **Invasive Plant Science and Management**, v. 5, n. 1, p. 117–124, mar. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1614/IPSM-D-11-00005.1> Disponível em: <https://bioone.org/journals/invasive-plant-science-and-management/volume-5/issue-1/IPSM-D-11-00005.1/Gone-but-Not-Forgotten-Invasive-Plants-Legacies-on-Community-and/10.1614/IPSM-D-11-00005.1.full> Acesso em: 11 dez. 2025.

COINASKI, D. A. *et al.* Growth and tolerance of *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. inoculated with ectomycorrhizal fungi in copper-contaminated soil. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**, v. 57, n. 2, p. 343–351, 9 jul. 2022. DOI: <https://doi.org/10.5327/Z2176-94781236> Disponível em: [https://www.rbciamb.com.br/Publicacoes\\_RBCIAMB/article/view/1236](https://www.rbciamb.com.br/Publicacoes_RBCIAMB/article/view/1236) Acesso em: 27 out. 2025.

CONNELL J. H. Intermediate-disturbance hypothesis. **Science**, v. 204, n. 4399, p. 1344-1345, jun. 1979. DOI: 10.1126/science.204.4399.1344 Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.204.4399.1344> Acesso em 09 dez. 2025.

CORRALES, Adriana *et al.* Diversity and distribution of tropical ectomycorrhizal fungi. **Mycologia**, v. 114, n. 6, p. 919–933, nov. 2022. DOI:

<https://doi.org/10.1080/00275514.2022.2115284> Disponível em:

<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00275514.2022.2115284> Acesso em 28 out. 2025.

CSIZMÁR, M. *et al.* Contribution to the taxonomic knowledge of the family Inocybaceae in Budapest, Hungary. **Applied Ecology and Environmental Research**, v. 21, n. 1, p. 409–420, 2023. DOI:

[https://doi.org/10.15666/aeer/2101\\_409420](https://doi.org/10.15666/aeer/2101_409420) Acesso em: 27 out. 2025.

DELLA VECHIA, I.C. **Efeito do controle de espécie arbórea exótica invasora nas raízes de uma comunidade vegetal de restinga no Sul do Brasil**. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas, Florianópolis, 2021. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/229340> Acesso em: 27 out. 2025.

DELLA VECHIA, I.C *et al.* Controlling a tree invader for coastal plant communities' restoration affected below-ground dynamics. **Journal of Applied Ecology**, Londres, v. 62, n. 11, p. 3169–3177, 2025. DOI: 10.1111/1365-2664.70172 Disponível em:

<https://besjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1365-2664.70172> Acesso em: 08 dez. 2025.

FALKENBERG, D. B. Aspectos da flora e da vegetação secundária da restinga de Santa Catarina, Sul do Brasil. **Insula**, Florianópolis, n. 28. p. 1-30, 1999. Disponível em: <https://periodicos.ufsc.br/index.php/insula/article/view/21771> Acesso em: 27 out. 2025.

FLOR. JABOT: consulta. Rio de Janeiro: PNUMA: CNPq: SiBBR: JBRJ, [s.d.]. Disponível em: <https://flor.jbrj.gov.br/v2/consulta.php> Acesso em: 09 dez. 2025.

FURTADO, A. N. M. *et al.* Morpho-anatomical and molecular characterization of a native mycorrhizal *Amanita* species associated with *Guapira opposita* (Nyctaginaceae) in the Brazilian Atlantic Forest. **Mycoscience**, v. 63, n. 2, p. 73–78, 20 mar. 2022. DOI: <https://doi.org/10.47371/mycosci.2022.02.001> Disponível em: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/mycosci/63/2/63\\_MYC566/article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/mycosci/63/2/63_MYC566/article) Acesso em: 27 out. 2025.

FURTADO, A. N. M. *et al.* Guapirioid ectomycorrhiza: a novel fungus-plant subtype is described associated to *Guapira opposita* (Nyctaginaceae) in the Brazilian restinga. **Forest Systems**, v. 32, n. 2, 2023a. 15p. DOI: <https://doi.org/10.5424/fs/2023322-19998> Disponível em: <https://fs.revistas.csic.es/index.php/fs/article/view/19998> Acesso em: 27 out. 2025.

FURTADO, A. N. M. *et al.* Restinga ectomycorrhizae: a work in progress. **F1000Research**, [s.l.], v. 12, p. 1-23, mar. 2023b.

DOI: <http://dx.doi.org/10.12688/f1000research.131558.1> Disponível em: <https://f1000research.com/articles/12-317/v1> Acesso em: 27 out. 2025.

GARCÍA, M. C. C. de *et al.* Ecología. In: GARCÍA, María Caridad Cepero de *et al.* **Biología de hongos**. Bogotá: Universidad de los Andes, Facultad de Ciencias, Departamento de Ciencias Biológicas; Ediciones Uniandes, 2012. p. 19-38.

GUIMARÃES, T. B. Florística e fenologia reprodutiva de plantas vasculares na restinga do Parque Municipal das Dunas da Lagoa da Conceição, Florianópolis, SC. 2006. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal) - Centro de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. 2006. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/89302> Acesso em: 27 out. 2025.

INMET. Instituto Nacional de Meteorologia. **Precipitação acumulada em 24 horas**. Disponível em: <https://tempo.inmet.gov.br/PrecAcumulada> Acesso em: 19 out. 2025.

INSTITUTO HÓRUS. **Base de dados nacional de espécies exóticas invasoras**. 2023. Disponível em: <https://bd.institutohorus.org.br/especies> Acesso em: 27 out. 2025.

KÖLJALG, U.; SAAR, I.; SVANTESSON, S. Merging the genus *Tomentella* with *Thelephora* (Fungi, Thelephorales). **Folia Cryptogamica Estonica**, v. 61, 11 ago. 2024. DOI: <https://doi.org/10.12697/fce.2024.61.09> Disponível em: <https://ojs.utlib.ee/index.php/FCE/article/view/24359> Acesso em: 27 out. 2025.

KRETZER, A. *et al.* Internal transcribed spacer sequences from 38 recognized species of *Suillus* sensu lato: Phylogenetic and taxonomic implications. **Mycologia**, v. 88, n. 5, p. 776–785, set. 1996. DOI: <https://doi.org/10.1080/00275514.1996.12026715> Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00275514.1996.12026715> Acesso em: 27 out. 2025.

LEIMAC. Laboratório de Ecologia de Invasões, Manejo e Conservação. **Projetos de extensão universitária**. Florianópolis, 2025. Disponível em: <https://leimac.sites.ufsc.br/projetos-projects/> Acesso em: 19 out. 2025.

MATHENY, P. B.; HOBBS, A. M.; ESTEVE-RAVENTÓS, F. Genera of *Inocybaceae*: new skin for the old ceremony. **Mycologia**, v. 112, n. 1, p. 83–120, 2 jan. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/00275514.2019.1668906> Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00275514.2019.1668906> Acesso em: 27 out. 2025.

MESACASA, L. Efeito do tempo de invasão biológica e do manejo de populações de ***Pinus elliottii*** em parâmetros estruturais e funcionais de comunidades vegetais de restinga no Sul do Brasil. 50f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos, Algas e Plantas) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2020. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/216516> Acesso em: 27 out. 2025.

MITCHEL, D. **Survey of the grassland fungi of the vice county of West Cork**. The Heritage Concil, 2007. Disponível em:

<http://www.nifgdata.org.uk/westcorkwaxcapsurvey.pdf> Acesso em: 27 out. 2025.

MOREIRA, G. *et al.* Fungal Guilds Reveal Ecological Redundancy in a Post-Mining Environment. **Mining**, v. 5, n. 2, p. 28, 23 abr. 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/mining5020028> Disponível em: <https://www.mdpi.com/2673-6489/5/2/28> Acesso em: 27 out. 2025.

NGUYEN N. H. *et al.* Phylogenetic assessment of global *Suillus* ITS sequences supports morphologically defined species and reveals synonymous and undescribed taxa. **Mycologia**, v. 108, n. 6, p. 1216-1228, nov./dez. 2016. DOI: <https://doi.org/10.3852/16-106> Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3852/16-106> Acesso em: 27 out. 2025.

PLUCÊNIO, R. M.; DECHOUM, M. de S.; CASTELLANI, T. T. Invasão biológica em restinga: o estudo de caso de *Terminalia catappa* L. (Combretaceae). **Biodiversidade brasileira**, Brasília, v. 3, n. 2, 2013. DOI: <https://doi.org/10.37002/biodiversidadebrasileira.v3i2.424> Disponível em: <https://revistaeletronica.icmbio.gov.br/index.php/BioBR/article/view/424> Acesso em: 27 out. 2025.

ROY, M. *et al.* The (re)discovery of ectomycorrhizal symbioses in Neotropical ecosystems sketched in Florianópolis. **New Phytologist**, [s.l.], v. 214, n. 3, p. 920-923, 11 abr. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/nph.14531>. Disponível em: <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/nph.14531>. Acesso em: 27 out. 2025.

SALIMENA, F. R. G.; CARDOSO, P.H. Lippia in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB15170>. Acesso em: 06 out. 2025

SANTA CATARINA. IMA. **Espécies exóticas invasoras**. Florianópolis: IMA, 2025. Disponível em: <https://www.ima.sc.gov.br/index.php/biodiversidade/programas/especies-exoticas-invasoras> Acesso em: 21 out. 2025.

SÁNCHEZ-GARCÍA, M.; MATHENY, P. B. Is the switch to an ectomycorrhizal state an evolutionary key innovation in mushroom-forming fungi? A case study in the Tricholomatineae (Agaricales). **Evolution**, v. 71, n. 1, p. 51–65, jan. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/evo.13099> Disponível em: <https://academic.oup.com/evolut/article/71/1/51/6725855> Acesso em: 27 out. 2025.

SCHAPPE, T. *et al.* Co-occurring fungal functional groups respond differently to tree neighborhoods and soil properties across three tropical rainforests in Panama. **Microbial Ecology**, v. 79, n. 3, p. 675–685, abr. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00248-019-01446-z> Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00248-019-01446-z> Acesso em: 27 out. 2025.

SCHIMANN, H. *et al.* Tree communities and soil properties influence fungal community assembly in neotropical forests. **Biotropica**, v. 52, n. 3, p. 444–456, maio

2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/btp.12747> Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/btp.12747> Acesso em: 27 out. 2025.

SCHROEDER, P. J.; JENKINS, D. G. How robust are popular beta diversity indices to sampling error? **Ecosphere**, v. 9, n. 2, p. e02100, fev. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/ecs2.2100> Disponível em: <https://esajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ecs2.2100> Acesso em: 27 out. 2025.

SOS MATA ATLÂNTICA. **A mata atlântica**. 2023. Disponível em: <https://cms.sosma.org.br/wp-content/uploads/2023/10/Folheto-sosma-2023-v2digital-1.pdf> Acesso em: 27 out. 2025.

SOS MATA ATLÂNTICA, INPE. **Atlas da Mata Atlântica 2023-2024**. Maio 2025. Disponível em: <https://www.sosma.org.br/sobre/relatorios-e-balancos> Acesso em: 08 dez. 2025.

SOUSA, D. R. de. **Uso da ferramenta metabarcode para identificação de fungos e bactérias intestinais de *Melipona scutellaris* (Apidae:Meliponini)**. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Universidade Rural de Pernambuco, Recife, 2021. Disponível em: <http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede/bitstream/tede2/9224/2/Dayana%20Rosalina%20Ode%20Sousa.pdf> Acesso em: 27 out. 2025.

SPUN. **Sampling protocol**: Sampling of soil for molecular analysis of AMF and EMF DNA sequences modified from the Silva Nova/SoilBon protocol. 2023. Disponível em: <https://www.spun.earth/expeditions/sampling-protocol> Acesso em: 27 out. 2025.

STOREY, M. *Entoloma formosum* & *E. xanthochroum* - two very similar British species. **Field Mycology**, v. 20, n. 1, p. 28-29, jan. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fldmyc.2019.01.009> Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/330528422\\_Entoloma\\_formosum\\_E\\_xanthochroum\\_-\\_two\\_very\\_similar\\_British\\_species](https://www.researchgate.net/publication/330528422_Entoloma_formosum_E_xanthochroum_-_two_very_similar_British_species) Acesso em: 27 out. 2025.

SULZBACHER, M. A. *et al.* Sclerotium-forming fungi from soils of the Atlantic rainforest of Northeastern Brazil. **Plant Ecology and Evolution**, v. 150, n. 3, p. 358–362, 22 nov. 2017. DOI: <https://doi.org/10.5091/plecevo.2017.1148> Disponível em: <https://plecevo.eu/article/30856/> Acesso em: 27 out. 2025.

TANUNCHAI, B. *et al.* FungalTraits vs. FUNGuild: comparison of ecological functional assignments of leaf- and needle-associated fungi across 12 temperate tree species. **Microb Ecol** v. 85, p. 411–428, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00248-022-01973-2> Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00248-022-01973-2> Acesso em: 27 out. 2025.

TEDERSOO, L.; MAY, T. W.; SMITH, M. E. Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. **Mycorrhiza**, v. 20, n. 4, p. 217–263, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00572-009-0274-x> Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00572-009-0274-x> Acesso em: 27 out. 2025.

TEDERSOO L. *et al.* Global diversity and geography of soil fungi. **Science**, v. 346, n. 6213, nov. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1256688> Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1256688> Acesso em: 27 out. 2025.

TRUONG, C. *et al.* The Gondwanan connection: Southern temperate *Amanita* lineages and the description of the first sequestrate species from the Americas. **Fungal Biology**, v. 121, n. 8, p. 638–651, ago. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2017.04.006> Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S187861461730048X> Acesso em: 27 out. 2025.

TULLOSS, R. E. *et al.* The genus *Amanita* should not be split. **Amanitaceae**, v. 1, n. 3, p. 1–16, 2016. Disponível em: <https://research.wur.nl/en/publications/the-genus-amanita-should-not-be-split> Acesso em: 07 set. 2025.

UEHLING, J. K. *et al.* New species of *Clavulina* (Cantharellales, Basidiomycota) with resupinate and effused basidiomata from the Guiana Shield. **Mycologia**, v. 104, n. 2, p. 547–556, mar. 2012. DOI: <https://doi.org/10.3852/11-130> Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3852/11-130> Acesso em: 27 out. 2025.

UFSC. OBSERVA – Observatório de Áreas Protegidas. **Parque Natural Municipal das Dunas da Lagoa da Conceição**. 2018. Disponível em: <https://observa.ufsc.br/2018/05/08/parque-municipal-das-dunas-da-lagoa-da-conceicao/> Acesso em 10 out. 2023.

WAKEFIELD, E. M. Some Species of *Tomentella* from North America. **Mycologia**, v. 52, n. 6, p. 919–933, nov. 1960. DOI: <https://doi.org/10.2307/3755852> Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/3755852> Acesso em: 27 out. 2025.

WARTCHOW, F.; TULLOSS, R. E.; CAVALCANTI, M. A.Q. *Amanita lippiae*: a new species from the semi-arid caatinga region of Brazil. **Mycologia**, v. 101, n. 6, 864–870, 2009. DOI: <https://doi.org/10.3852/08-106> Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3852/08-106> Acesso em: 27 out. 2025.

WEIDLICH, E. W. A. *et al.* Controlling invasive plant species in ecological restoration: a global review. **Journal of Applied Ecology**, v. 57, n. 9, p. 1806–1817, set. 2020a. DOI: <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13656> Disponível em: <https://besjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1365-2664.13656> Acesso em: 27 out. 2025.

WEIDLICH, E. W. A. *et al.* Using ectomycorrhizae to improve the restoration of Neotropical coastal zones. **Restoration Ecology**, [s.l.], v. 28, n. 6, p. 1324–1326, 28 out. 2020b. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/rec.13284> Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/rec.13284> Acesso em: 27 out. 2025.

ZHANG, P. *et al.* A review on the diversity, phylogeography and population genetics of *Amanita* mushrooms. **Mycology**, v. 6, n. 2, p. 86–93, 3 abr. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1080/21501203.2015.1042536> Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21501203.2015.1042536> Acesso em: 27 out. 2025.

ZILLER, S. R. Plantas exóticas: a ameaça da contaminação biológica. **Ciência Hoje**, v. 30, n. 178, p. 77-79, 2001. Disponível em:  
<http://www.institutohorus.org.br/download/artigos/cienhojedez2001.pdf> Acesso em:  
27 out. 2025.

**ANEXOS**

**ANEXO I**

## **SPUN molecular and sequencing protocol**

All sequencing projects associated with SPUN are required to have the following:

- An associated spreadsheet describing metadata of each sample. Please use the 'metadata' sheet provided, and label the sheet with your name (i.e Bethan\_Manley\_metadata). Email this to: [bethan@spun.earth](mailto:bethan@spun.earth). It is essential that this information is provided.
- A sequenced negative control. During the DNA extraction process, leave open a tube on the laboratory bench for 5-10 minutes, then carry out the extraction, treating this tube the same as each other sample, carrying out the full extraction process. Send this negative control with the samples for sequencing. If possible, use and send 3 negative control samples.

---

### **Additional information and protocols**

#### **DNA extraction and quantification**

SPUN recommends the use of the Quiagen DNeasy PowerSoil Pro Kit (Helden, Germany) for the extraction of DNA from soil samples, with the protocol carried out according to manufacturer's instructions.

Prior to shipping, quantification of DNA content and assessment of DNA quality for each sample is required. Ideally, a Qubit would be used, although samples that have been assessed using a Nanodrop will be accepted. B

Alternatively, both a Qubit and a Nanodrop measurement can be taken for each DNA sample, as the Nanodrop will be most effective at assessing contamination and the Qubit for estimating concentration.

#### *Qubit*

A Qubit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) dsDNA kit can be used to assess the quantity of DNA in a mixed sample extracted from soil (e.g. dsDNA broad range assay kit or dsDNA high-sensitivity assay kit).

## *Nanodrop*

Follow the Nanodrop instructions for 1ul of each DNA sample (Thermo Fisher Scientific, MA, USA). Note the estimated concentration, and use this information to prepare an aliquot of 400-600ng total DNA.

Note the A260/A280 and A260/A230 ratios of the samples. For best results, A260/A280 ratio should be 1.8-2.0, A260/A230 should be 2.0-2.2.

Record the estimated total DNA quantity of each sample in the spreadsheet provided by SPUN.

---

## **PCR and sequencing**

Here are some guidelines on PCR and sequencing processes. Please note, these are guidelines only and do not need to be followed if you have preferred alternative protocols.

### **SPUN Illumina ITS and SSU amplification and sequencing strategy**

SPUN currently focuses on the amplification and sequencing of the two most common functional groups of mycorrhizal fungi - Ectomycorrhizal (EcM) and Arbuscular Mycorrhizal (AM) fungi. The protocol outlined here is designed to detect EcM fungi using primers that amplify the ITS2 region of the fungal ribosomal operon, and AM fungi using primers that amplify the SSU region.

Following PCR amplification, we recommend purification of the amplified DNA using Agencourt AMPure beads, following manufacturer's instructions (Beckman Coulter, Brea, CA, USA).

SPUN uses an Illumina NextSeq 2000 to sequence both amplicons, though it is possible to use alternatively sequencing machines such as an Illumina MiSeq. We aim for a sequencing depth of between 70,000 and 100,000 reads per sample. Negative extraction controls are also sequenced in the process.

#### *Primer set for ITS2 amplification*

For ITS2 amplification, we recommend use of the ITS3 and ITS4 primer set. The ITS3/ITS4 primer pair is utilised and described in several publications, including

Op De Beeck et al. 2014. Optimal PCR conditions for this primer pair are described in this publication.

ITS3 (Forward): 5' – GCATCGATGAAGAACGCAGC – 3'

ITS4 (Reverse): 5' – TCCTCCGCTTATTGATATGC – 3'

This amplicon can be sequenced using MiSeq, HiSeq, NextSeq etc, using 2 x 200 bp or 2 x 250 bp chemistry, as the amplicon is ~300-350 bp (excluding indexes).

#### *Primer set for SSU amplification*

The forward primer used for ribosomal Small Subunit (SSU) amplification is a universal eukaryotic primer, WANDA. The reverse primer AML2, is from a primer set specifically designed to detect AMF, described in Lee et al. 2008. The optimal PCR conditions for the use of the primer pair WANDA/AML2 are described in Kajihara et al. 2022.

WANDA (Forward): 5' – CAG CCG CGG TAA TTC CAG CT – 3'

AML2 (Reverse): 5' – GAA CCC AAA CAC TTT GGT TTCC – 3'

Sequencing of this amplified SSU region should be sequenced using 2 x 300bp chemistry on the Illumina MiSeq due to the size (>550bp) of this amplicon.

If only a HiSeq or NextSeq are available using 2 x 200bp or 2 x 250bp chemistry, this amplicon can still be sequenced. However, in this scenario only the forward reads of this amplicon should be utilised for downstream bioinformatics analyses (as discussed in Davidson et al. 2012).

Please note: Library preparation kit and protocol, barcoding of samples and ligation steps will vary based sequencing machine and facility. If in doubt, please seek advice from your sequencing facility or contact [bethan@spun.earth](mailto:bethan@spun.earth).

---

## **Sending data to SPUN**

Following the successful sequencing of your samples, please contact [bethan@spun.earth](mailto:bethan@spun.earth) to send sequencing data to SPUN. This data may be used in internal mapping analyses but will not be made publicly available.

Where possible, it is preferable the download link for your data, is shared with SPUN, for example, if you are provided with a BaseSpace download link or specific download link from your sequencing facility. If this is not possible, get in touch and we will discuss instructions for sending data.

Please send raw, demultiplexed fastq files in .gz format to SPUN. If your files are not demultiplexed, let us know.

If your sequencing facility or company provides a sample key, please make sure this is sent with the data, alongside any QC or additional data associated with the sequences.

The UE\_Sample\_metadata file must be completed and returned by the time sequences are uploaded.

## ANEXO II

# DNeasy<sup>®</sup> PowerSoil<sup>®</sup> Pro Kit

Solution CD2 should be stored at 2–8°C upon arrival. All other reagents and kit components should be stored at room temperature (15–25°C).

## Further information

- *DNeasy<sup>®</sup> PowerSoil<sup>®</sup> Pro Kit Handbook*: [www.qiagen.com/HB-2495](http://www.qiagen.com/HB-2495) •
- Safety Data Sheets: [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)
- Technical assistance: [support.qiagen.com](mailto:support.qiagen.com)

## Notes before starting

- Ensure that the PowerBead Pro Tubes rotate freely in the centrifuge without rubbing.
  - If Solution CD3 has precipitated, heat at 60°C until precipitate dissolves. • Perform all centrifugation steps at room temperature (15–25°C).
1. Spin the PowerBead Pro Tube briefly to ensure that the beads have settled at the bottom. Add up to 250 mg of soil and 800 µl of Solution CD1. Vortex briefly to mix.
  2. Secure the PowerBead Pro Tube horizontally on a Vortex Adapter for 1.5–2 ml tubes (cat. no. 13000-V1-24). Vortex at maximum speed for 10 min. (Utilizamos um adaptador de espuma para manter os tubos na horizontal no agitador).  
Note: If using the Vortex Adapter for more than 12 preps simultaneously, increase the vortexing time by 5–10 min. (Colocamos a 14000 rpm/5min + 30 seg. pausado + 14000 rpm/5min).  
Note: For more information about other bead beating methods, see the “Protocol: Detailed” section of *DNeasy<sup>®</sup> PowerSoil<sup>®</sup> Pro Kit Handbook*.
  3. Centrifuge the PowerBead Pro Tube at 15,000 x g for 1 min. (Utilizamos 14000 rpm/1min).
  4. Transfer the supernatant to a clean 2 ml Microcentrifuge Tube (provided).  
Note: Expect 500–600 µl. The supernatant may still contain some soil particles.
  5. Add 200 µl of Solution CD2 and vortex for 5 s.
  6. Centrifuge at 15,000 x g for 1 min at room temperature. Avoiding the pellet, transfer up to 700 µl of supernatant to a clean 2 ml Microcentrifuge Tube (provided).  
Note: Expect 500–600 µl. (Usamos 600 µl).
  7. Add 600 µl of Solution CD3 and vortex for 5 s.

8. Load 650  $\mu$ l of the lysate onto an MB Spin Column and centrifuge at 15,000 x g for 1 min. (Colocamos um pouco menos para não verter do tubo).
9. Discard the flow-through and repeat step 8 to ensure that all of the lysate has passed through the MB Spin Column.
10. Carefully place the MB Spin Column into a clean 2 ml Collection Tube (provided). Avoid splashing any flow-through onto the MB Spin Column.
11. Add 500  $\mu$ l of Solution EA to the MB Spin Column. Centrifuge at 15,000 x g for 1 min.
12. Discard the flow-through and place the MB Spin Column back into the same 2 ml Collection Tube.
13. Add 500  $\mu$ l of Solution C5 to the MB Spin Column. Centrifuge at 15,000 x g for 1 min.
14. Discard the flow-through and place the MB Spin Column into a new 2 ml Collection Tube (provided).
15. Centrifuge at up to 16,000 x g for 2 min. Carefully place the MB Spin Column into a new 1.5 ml Elution Tube (provided). (Colocamos a 15000 rpm/2 min.).
16. Add 50–100  $\mu$ l of Solution C6 to the center of the white filter membrane. (Usamos 50 $\mu$ l)
17. Centrifuge at 15,000 x g for 1 min. Discard the MB Spin Column. The DNA is now ready for downstream applications.

Note: We recommend storing the DNA frozen ( $-30$  to  $-15^{\circ}\text{C}$  or  $-90$  to  $-65^{\circ}\text{C}$ ) as Solution C6 does not contain EDTA. To concentrate DNA, please refer to the Troubleshooting Guide.



Scan QR code for handbook.

For up-to-date licensing information and product specific disclaimers, see the respective QIAGEN kit handbook or user manual.

Trademarks: QIAGEN®, Sample to Insight®, DNeasy®, PowerSoil® (QIAGEN Group). 1117569 05/2019 HB-2494-003 © 2019 QIAGEN, all rights reserved.

Ordering [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) | Technical Support [support.qiagen.com](mailto:support.qiagen.com) | Website [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)

## ANEXO III

# BPI

Biotechnologia Pesquisa e Inovação

## **BPI Biotechnologia Pesquisa e Inovação LTDA**

Av Deputado Dante Delmanto, 1649

Vila Paulista Botucatu - SP

CEP 18.608-393

T: + 55 14 3814 1417

E: [contato@bpibiotecnologia.com.br](mailto:contato@bpibiotecnologia.com.br)

W: [www.bpibiotecnologia.com.br](http://www.bpibiotecnologia.com.br)

CNPJ: 21.545.741/0001-28

IM: 462745

### **CONTATO:**

**Caio            Munhoz            Theodoro**

[caio.munhoz@bpibiotecnologia.com.br](mailto:caio.munhoz@bpibiotecnologia.com.br)

Cel: (14) 996908297

## Sequenciamento NGS

### 1. CLIENTE:

---

**Contato:** Maria Alice Neves

**E-mail:** maliceneves@gmail.com

**Tel:**

**Empresa:** MICOLAB – Universidade Federal de Santa Catarina

**CPF:**

**Data do relatório:** 08/11/2024

## Relatório Bioinformática

### Metodologia

O relatório da qualidade do sequenciamento foi gerado pelo programa FastQC v0.11.9. O processamento das *reads* brutas foi realizado utilizando o software Trimmomatic v0.39. As configurações foram ajustadas para importação de dados pair-end, truncamento em 148 bp, remoção das 20 bp iniciais, remoção de *reads* com qualidade média inferior a Q20 (Phred Score, 1% de chance de erro) e comprimento mínimo de 125 pares de base. O processo de *join* foi aplicado utilizando o programa vsearch v2.22.1. Os dados processados foram importados pelo programa programa QIIME 2 v2024.2.0. Foi aplicado o algoritmo DADA2 para a etapa de *denoise-single*. A classificação taxonômica dos dados foi realizado utilizando a base de dados UNITE v10 (all eukaryotes, 99% identity) aplicando o procedimento *classify-sklearn*. A árvore filogenética foi construída com o método *align-to-tree-mafft-fasttree*. A diversidade alfa foi avaliada utilizando estimativas dos índices: Chao1, Simpson, Faith's PD, Evenness, Shannon e o número de features observadas. Para a diversidade beta, foi utilizado as métricas: Bray-Curtis, Jaccard e as distâncias ponderadas e não ponderadas do Unifrac. As análises de rarefação e estimativas de parâmetros alfa foram realizadas com profundidade máxima de 30000. Os resultados foram processados utilizando a IDE Rstudio (versão Ocean Storm) para linguagem R (versão 4.4.1). Figuras e gráficos foram obtidos pela interface online [view.qiime2.org](http://view.qiime2.org) ou gerados utilizando o pacote ggplot2 para R.

## Disponibilidade dos dados processados

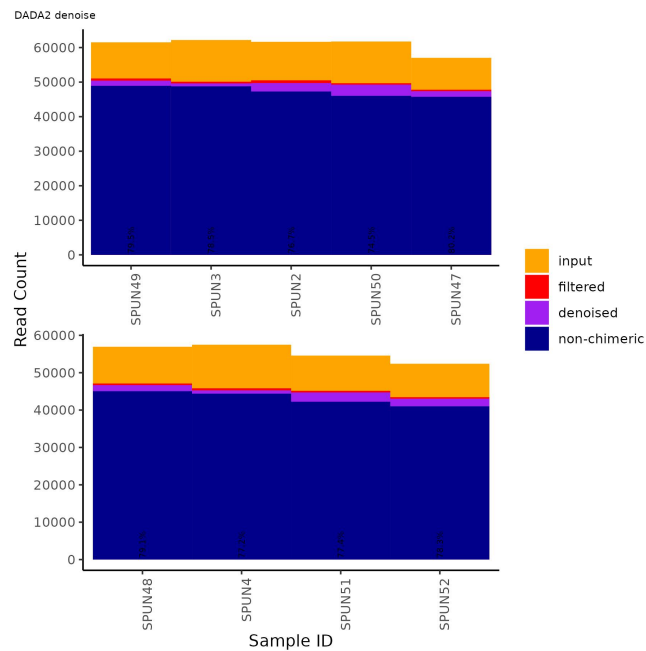
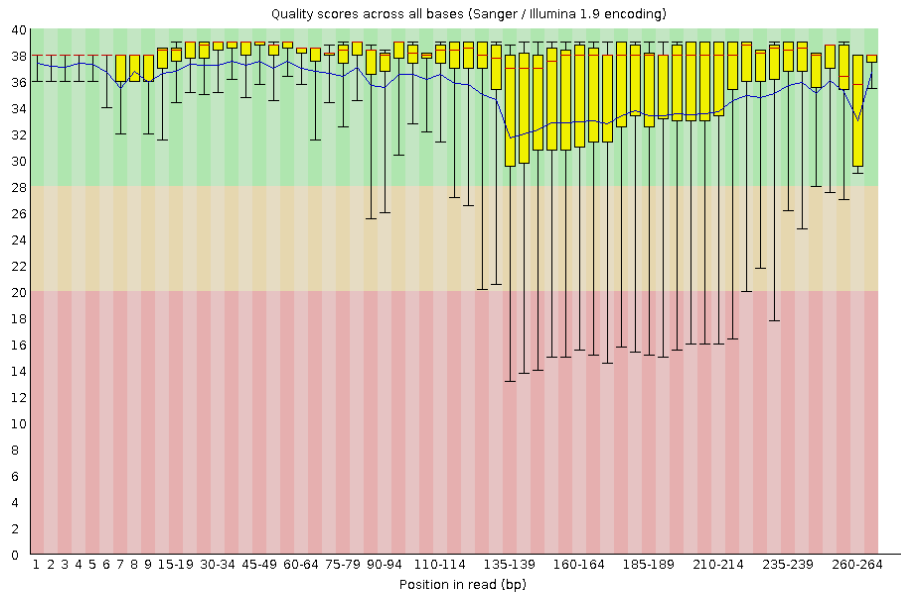
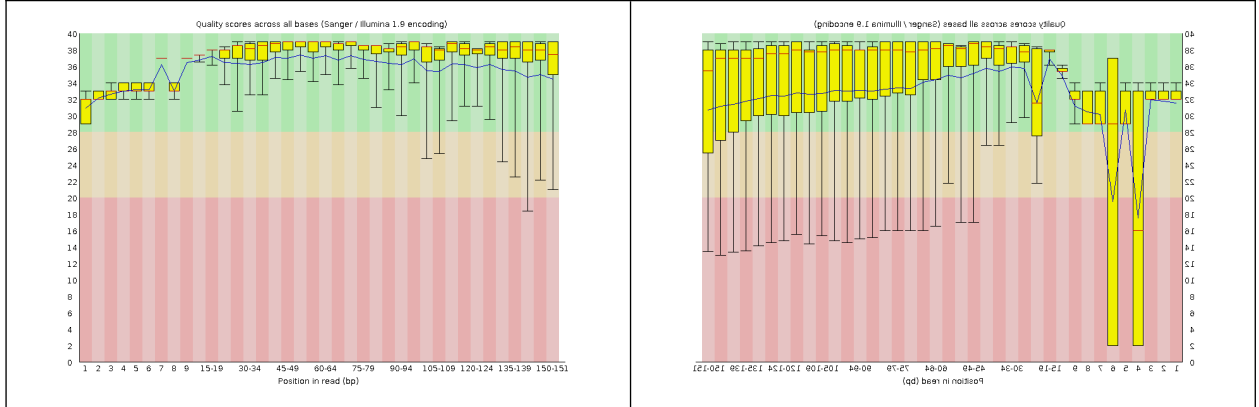
Este relatório contém parcialmente os resultados gerados, incluindo apenas figuras com maior relevância para apresentação do conteúdo gerado. No entanto, o conjunto de dados processados completo será disponibilizado seguindo a estrutura abaixo:

- Pasta **results/alpha/**: Contém figuras e tabelas geradas utilizando estimativas de parâmetros de alfa diversidade.
  - Figuras **<prefixo>.png**: Boxplot dos índices de alfa diversidade. Prefixo refere-se aos nomes dos agrupamentos utilizados no estudo.
  - Figuras **<prefixo>\_rarefaction.png**: Estimativas das curvas de rarefação. Linhas representam mediana e áreas representam intervalo de confiança de 95% (Bootstrap).
  - Arquivo **<prefixo>\_stats.csv**: Tabela no formato ‘separado por tabulação’ com todas as estimativas dos testes de Dunn aplicados nas comparações par a par dos índices de alfa diversidade de cada grupo.
  - Arquivo **Sample\_estimates.csv**: Tabela no formato ‘separado por tabulação’ contendo estimativas individuais dos índices de alfa diversidade.
  - Arquivo **Sample\_estimates.png**: Gráfico de barras das estimativas individuais dos índices de alfa diversidade.
  - Arquivo **Samples\_rarefaction.png**: Estimativas das curvas de rarefação individuais.
- Pasta **results/beta/**: Contém figuras e tabelas geradas utilizando estimativas de parâmetros de beta diversidade.
  - Figuras **<prefixo>\_<métrica>\_PCA.png**: Gráficos biplot da análise de componentes principais utilizando o subgrupo de amostras da respectiva análise, se aplicável.
  - Figuras **<prefixo>\_<métrica>\_nMDS.png**: Gráficos biplot da análise de escalonamento multidimensional não-paramétrico, se aplicável.
  - Arquivos **<prefixo>\_<métrica>\_<Permanova|Permdisp>.txt**: Relatório em formato de texto das análises de PERMANOVA/PERMDISP, se aplicável.
  - Figuras **<prefixo>\_<métrica>\_Permanova.png**: Gráficos boxplot das distâncias par-a-par entre-grupos e intra-grupos (diagonal). “ns” indica não significativa, “\*\*\*\*”  $p < 0.001$ , “\*\*\*”  $p < 0.01$ , “\*\*”  $p < 0.05$  e “.”  $p < 0.1$ . BD = estimativa beta-disper do PERMDISP; Letras formatadas como “Compact Letter Display”, sendo grupos com letras iguais não são estatisticamente diferentes e grupo com letras diferentes são estatisticamente diferentes ( $p_{\text{Bonferroni}} < 0.05$ ).

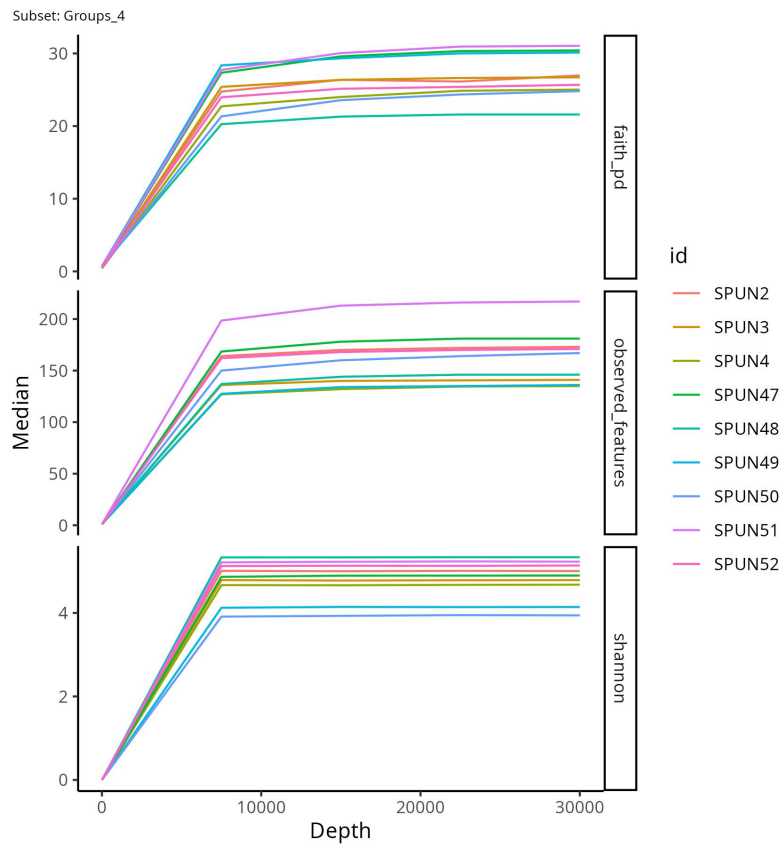
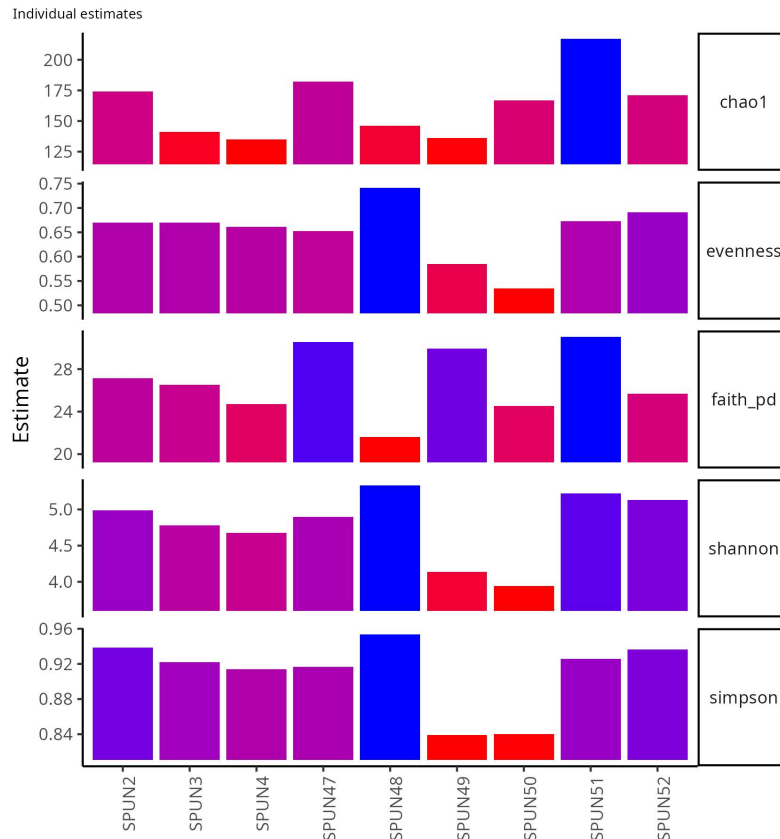
- Figuras **<prefixo>\_Tax<nível>.png**: Gráficos de barra da frequência relativa dos termos taxonômicos para o subgrupo de amostras da respectiva análise. Níveis de Tax: 1-Reino, 2-Filo, 3-Classe, 4-Ordem, 5-Família, 6-Gênero e 7-Espécie. Para maior facilidade de interpretação das figuras, foi definido um limite máximo de 20 termos para máximo contraste da paleta de cores. Termos sub-representado omitidos estão presentes nas tabelas de contagem.
- Figuras **<prefixo>\_Tax<nível>\_sum.png**: Gráficos de barra da frequência relativa dos termos taxonômicos por grupos, calculado pela somatória do subgrupo de amostras de cada grupo da respectiva análise.
- Arquivos **<prefixo>\_<relative|absolute>-counts.xlsx**: Tabela no formato Excel com a contagem relativa/absoluta de todos os ASVs para o respectivo agrupamento de cada nível taxonômico.
- Figuras **<prefixo>\_graph.png**: Representação em grafos de ASVs únicas e compartilhadas. Dados filtrados de acordo com a taxa de incidência e prevalência indicada na figura. Subset representa a porcentagem de ASVs retidas após filtragem por incidência e prevalência. N: Número de grupos que compartilham a ASV.
- Arquivos **<prefixo>\_core.png**: Gráfico de pizza do Core Microbiome dos ASVs que compõe os grupos avaliados de acordo com a taxa de incidência e prevalência indicada na figura. Valor percentual centralizado representa a porcentagem de ASVs retidas após filtragem por incidência e prevalência.
- Arquivos **<prefixo>\_core.xlsx**: Tabela no formato Excel com a frequência relativa de todos os ASVs para o respectivo agrupamento. Cada planilha representa um nível taxonômico.
- Pasta **results/**:
  - Arquivo **tables.zip**: Arquivo ZIP contendo as tabelas no formato 'xlsx' (Excel) para matriz de contagem e classificação taxonômica para todos os ASVs identificados.
  - Figura **post-trimmed-merge.png**: Gráfico de barras da proporção de *reads* retidas em cada etapa do processo de pré-processamento, se aplicável.
  - Figura **post-dada2.png**: Gráfico de barras do total de *reads* retidas em cada etapa do processo de filtragem por DADA2.
- Pasta **qzv-files/**: Arquivos com extensão **.qzv**. Arquivos de saída do programa QIIME 2 que podem ser visualizados na interface online <https://view.qiime2.org/>
- Pasta **qza-files/**: Arquivos com extensão **.qza**. Arquivos de saída do programa QIIME 2.

## Resultados

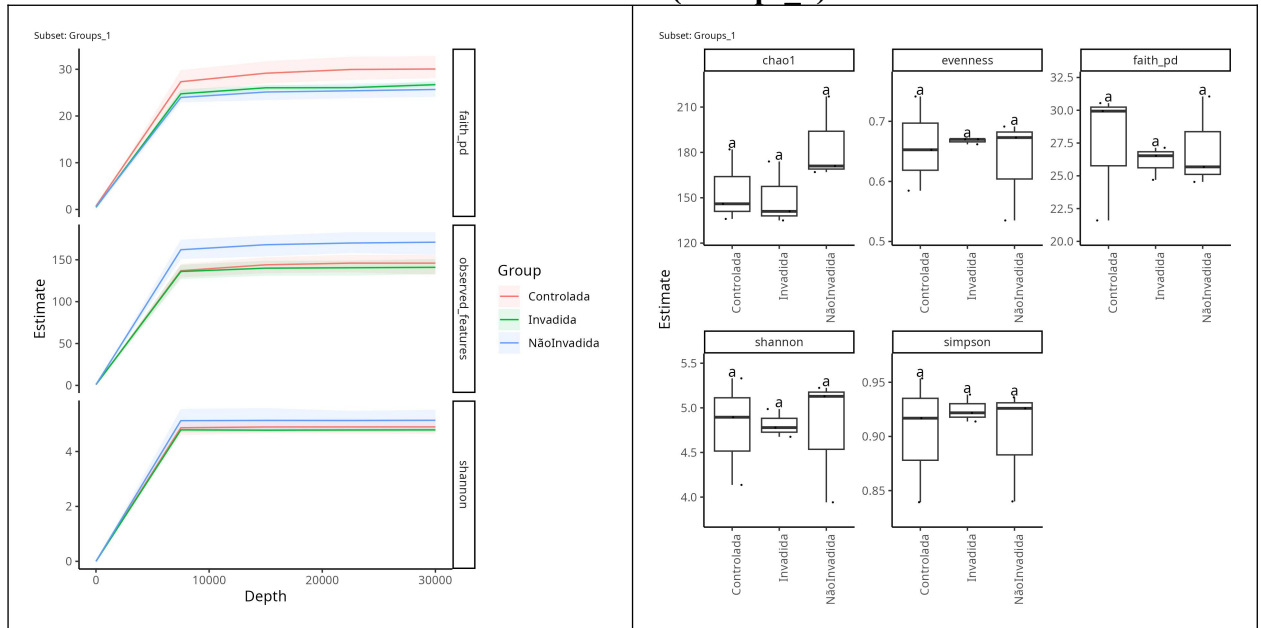
### Controle de qualidade



### Alfa diversidade (Todas as amostras)

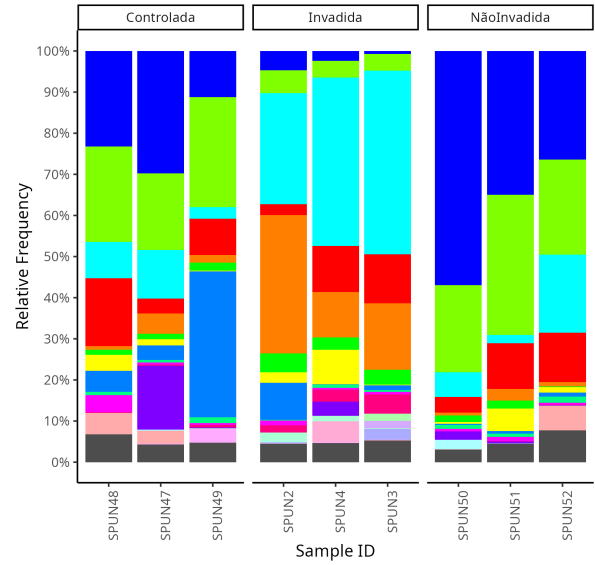


### Alfa diversidade (Groups 1)

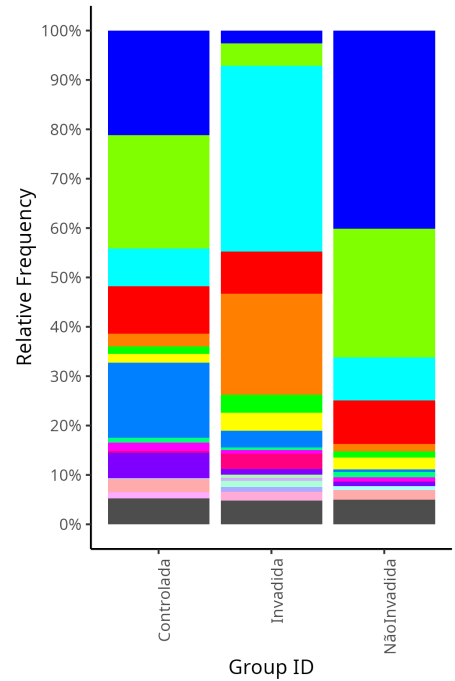


### Beta diversidade: Abundância relativa (Groups\_1)

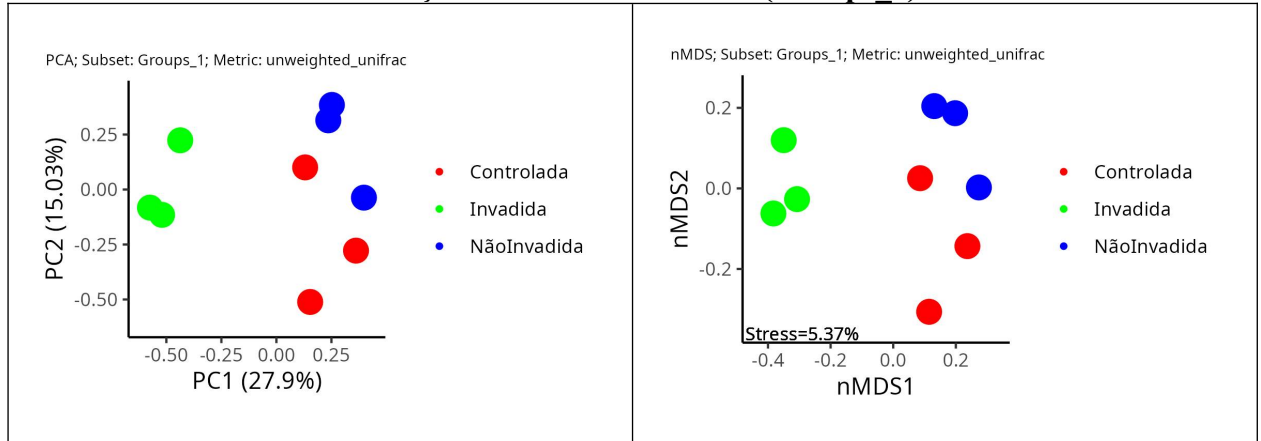
Subset: Groups\_1; Taxon: 4-Order; Individual



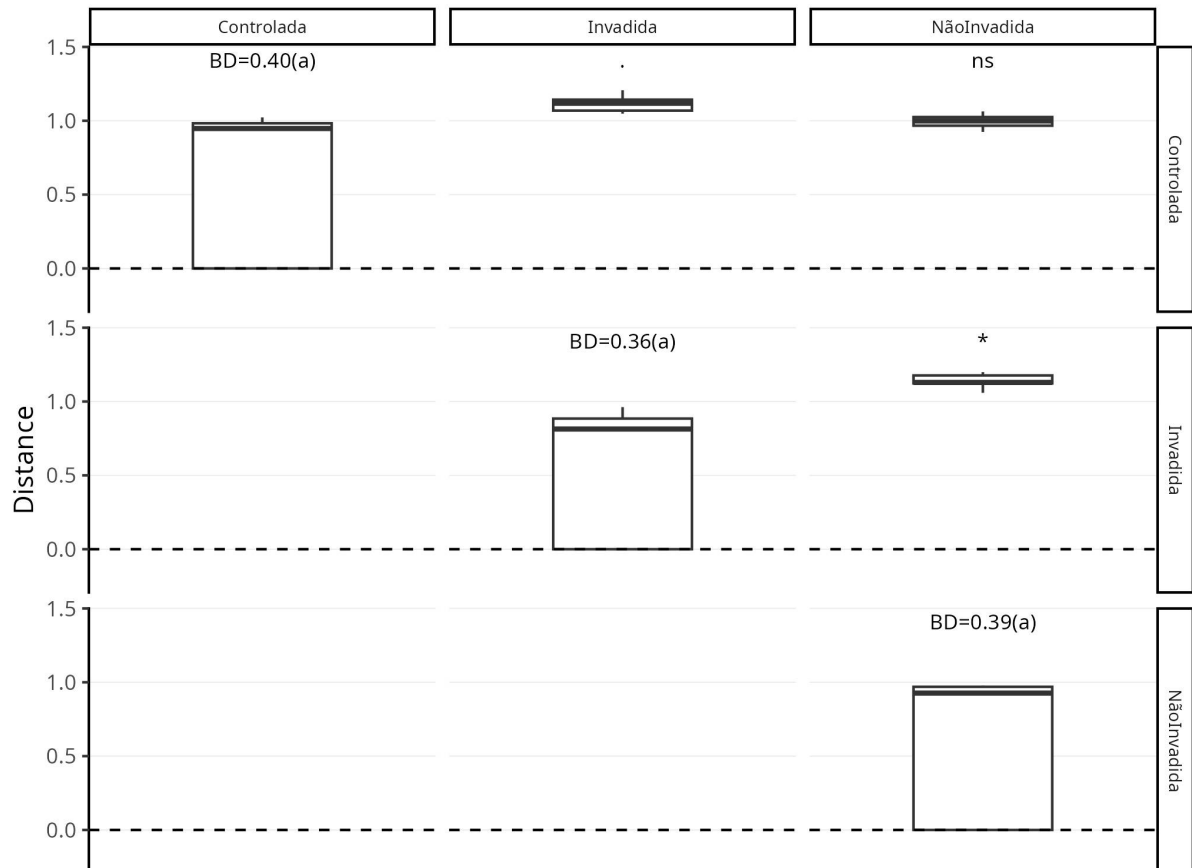
Subset: Groups\_1; Taxon: 4-Order; Group Sum



### Redução de dimensionalidade (Groups\_1)

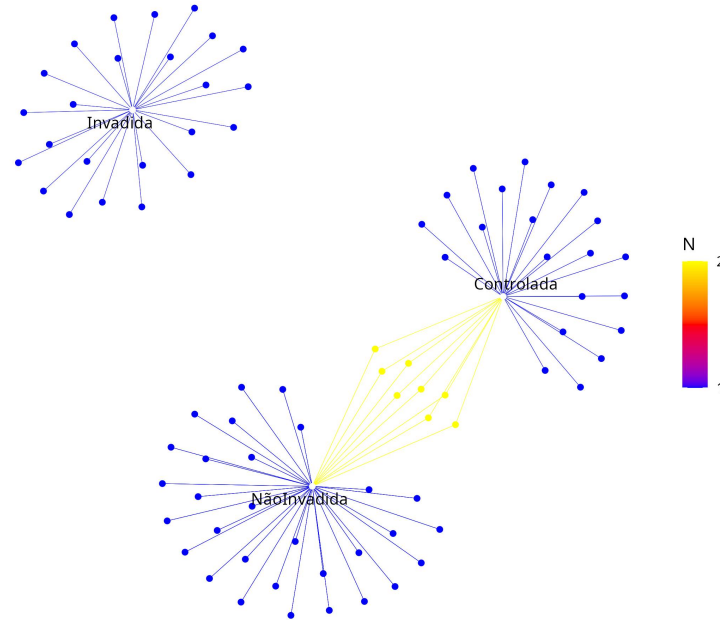


PERMANOVA; Subset: Groups\_1; Metric: unweighted\_unifrac



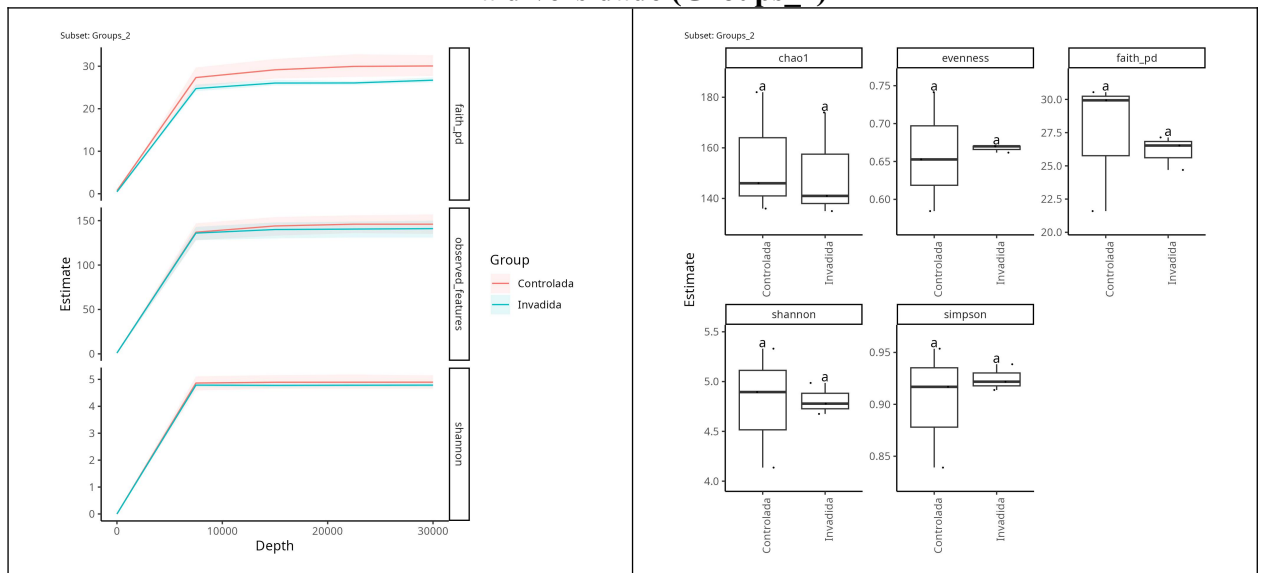
## Core Microbiome (Groups\_1)

Subset: Groups\_1



Incidence=0.001: Prevalence=0.5: Subset=60.65%

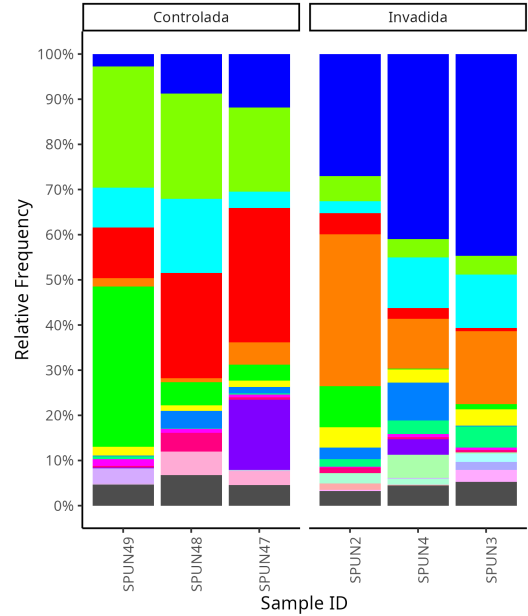
## Alfa diversidade (Groups\_2)



### Beta diversidade: Abundância relativa (Groups\_2)

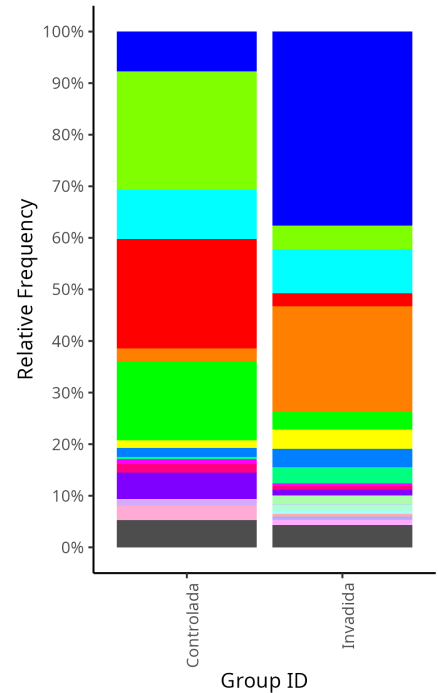
Subset: Groups\_2; Taxon: 4-Order; Individual

- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Leotiomyces;o\_\_Helotiales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Eurotiomyces;o\_\_Chaetothyriales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Eurotiomyces;o\_\_Eurotiales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Dothideomycetes;o\_\_Venturiales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Leotiomyces;o\_\_Leotiales
- k\_Fungi;p\_\_Basidiomycota;c\_\_Agaricomycetes;o\_\_Agaricales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Sordariomycetes;o\_\_Hypocreales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Leotiomyces;\_\_
- k\_Fungi;p\_\_Basidiomycota;c\_\_Tremellomycetes;o\_\_Tremellales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;\_\_;\_\_
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Ascomycota\_cls\_Incertae\_sedis;o\_\_Ascomycota\_ord\_Incertae\_sedis
- k\_Fungi;p\_\_Basidiomycota;c\_\_Agaricomycetes;o\_\_Thelephorales
- k\_Fungi;p\_\_Basidiomycota;c\_\_Cystobasidiomycetes;o\_\_Cystobasidiales
- k\_Fungi;p\_\_Rozellomycota;c\_\_Rozellomycotina\_cls\_Incertae\_sedis;o\_\_GS11
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Archaeorhizomycetes;o\_\_Archaeorhizomycetales
- k\_Fungi;p\_\_Basidiomycota;c\_\_Agaricomycetes;o\_\_Boletales
- k\_Fungi;p\_\_Mucoromycota;c\_\_Endogonomycetes;o\_\_Endogonomycetes\_ord\_Incertae\_sedis
- k\_Fungi;p\_\_Basidiomycota;c\_\_Agaricomycetes;o\_\_Russulales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Pezizomycetes;o\_\_Pezizomycetes\_ord\_Incertae\_sedis
- k\_Fungi;p\_\_Basidiomycota;c\_\_Agaricomycetes;o\_\_Trechisporales
- Underrepresented

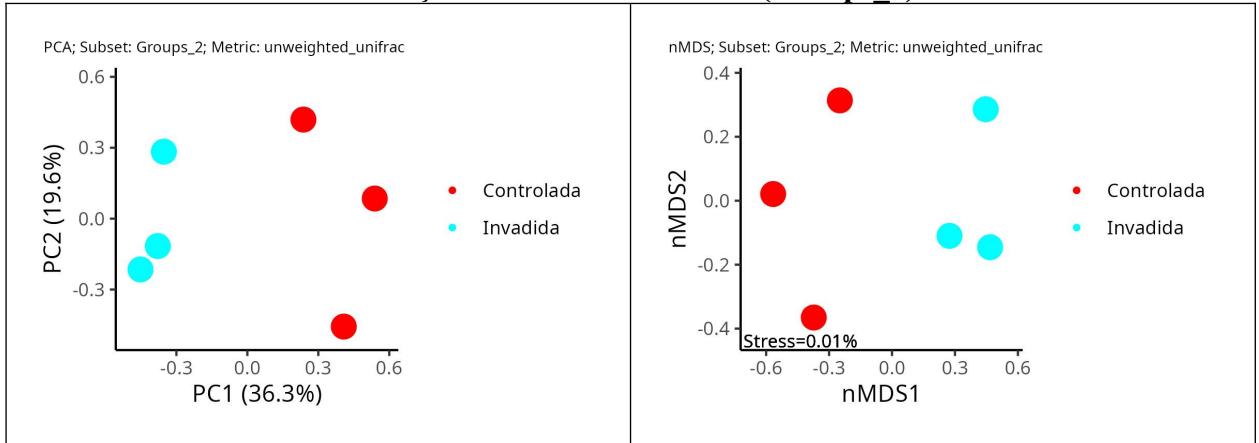


Subset: Groups\_2; Taxon: 4-Order; Group Sum

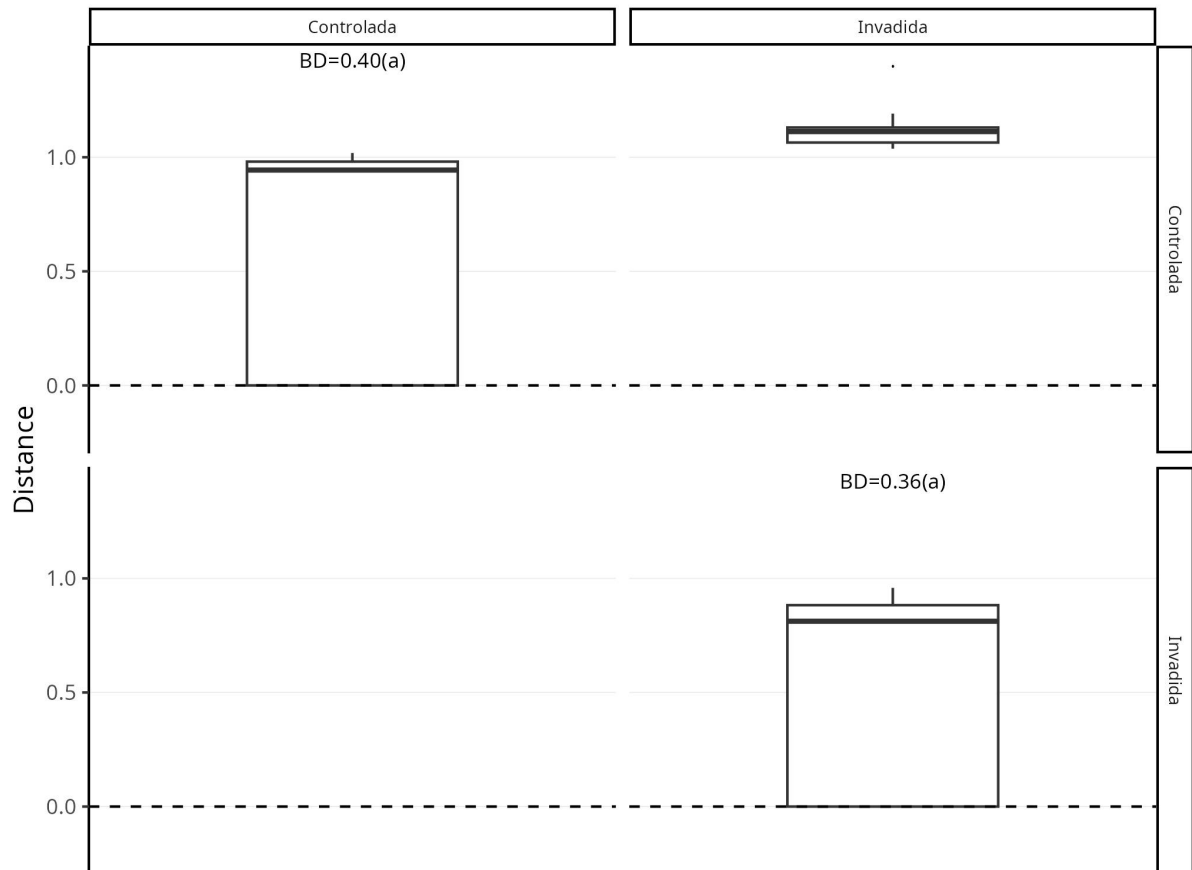
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Leotiomyces;o\_\_Helotiales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Eurotiomyces;o\_\_Chaetothyriales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Eurotiomyces;o\_\_Eurotiales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Dothideomycetes;o\_\_Venturiales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Leotiomyces;o\_\_Leotiales
- k\_Fungi;p\_\_Basidiomycota;c\_\_Agaricomycetes;o\_\_Agaricales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Sordariomycetes;o\_\_Hypocreales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Leotiomyces;\_\_
- k\_Fungi;p\_\_Basidiomycota;c\_\_Tremellomycetes;o\_\_Tremellales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;\_\_;\_\_
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Ascomycota\_cls\_Incertae\_sedis;o\_\_Ascomycota\_ord\_Incertae\_sedis
- k\_Fungi;p\_\_Basidiomycota;c\_\_Agaricomycetes;o\_\_Thelephorales
- k\_Fungi;p\_\_Basidiomycota;c\_\_Cystobasidiomycetes;o\_\_Cystobasidiales
- k\_Fungi;p\_\_Rozellomycota;c\_\_Rozellomycotina\_cls\_Incertae\_sedis;o\_\_GS11
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Archaeorhizomycetes;o\_\_Archaeorhizomycetales
- k\_Fungi;p\_\_Basidiomycota;c\_\_Agaricomycetes;o\_\_Boletales
- k\_Fungi;p\_\_Mucoromycota;c\_\_Endogonomycetes;o\_\_Endogonomycetes\_ord\_Incertae\_sedis
- k\_Fungi;p\_\_Basidiomycota;c\_\_Agaricomycetes;o\_\_Russulales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Pezizomycetes;o\_\_Pezizomycetes\_ord\_Incertae\_sedis
- k\_Fungi;p\_\_Basidiomycota;c\_\_Agaricomycetes;o\_\_Trechisporales
- Underrepresented



### Redução de dimensionalidade (Groups\_2)

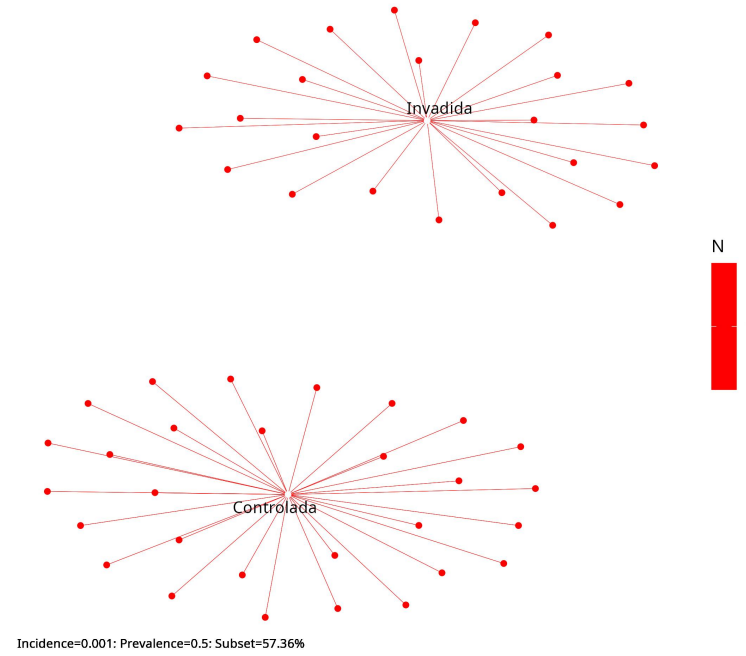


PERMANOVA; Subset: Groups\_2; Metric: unweighted\_unifrac

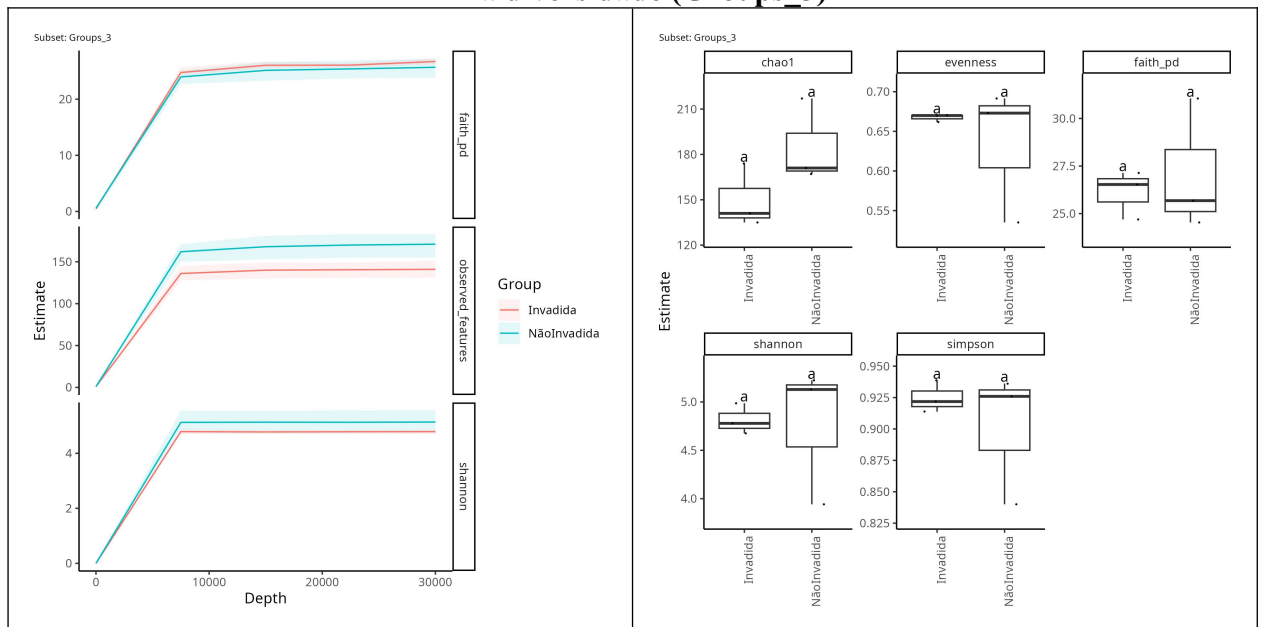


## Core Microbiome (Groups\_2)

Subset: Groups\_2

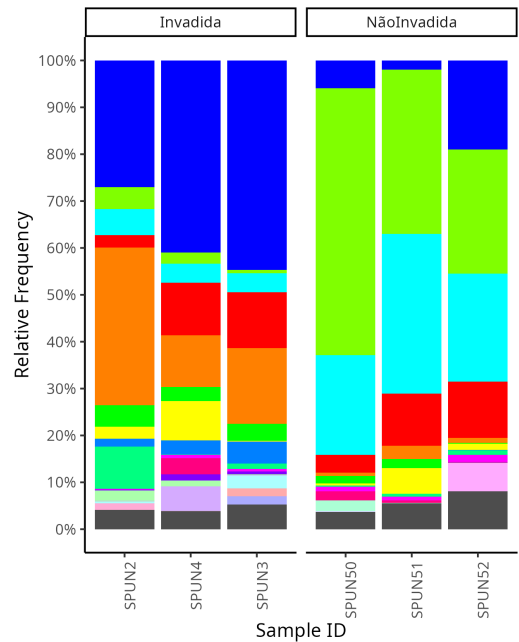
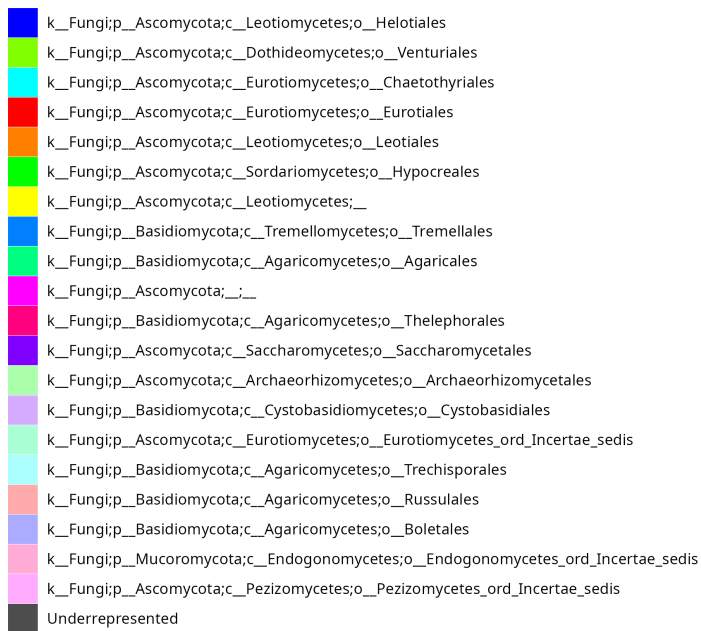


## Alfa diversidade (Groups\_3)

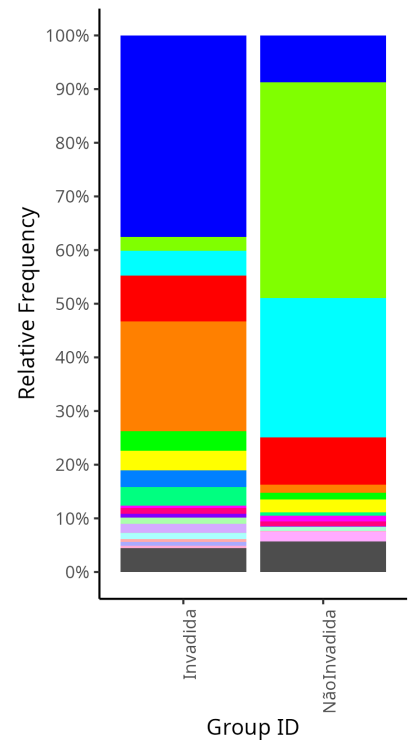
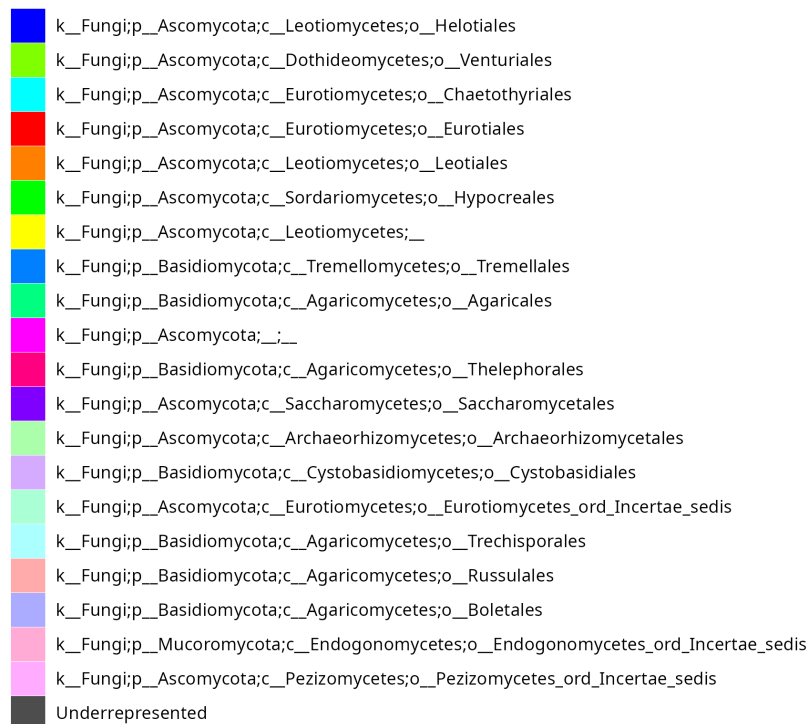


### Beta diversidade: Abundância relativa (Groups\_3)

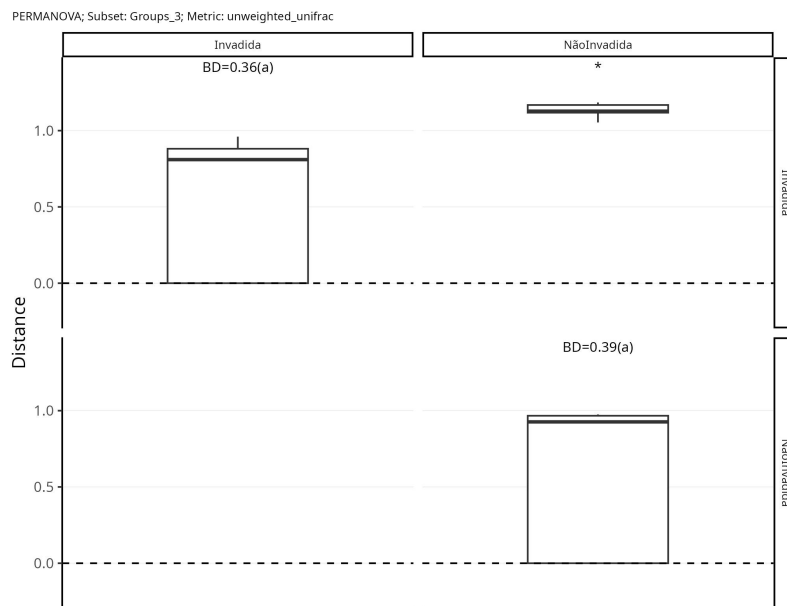
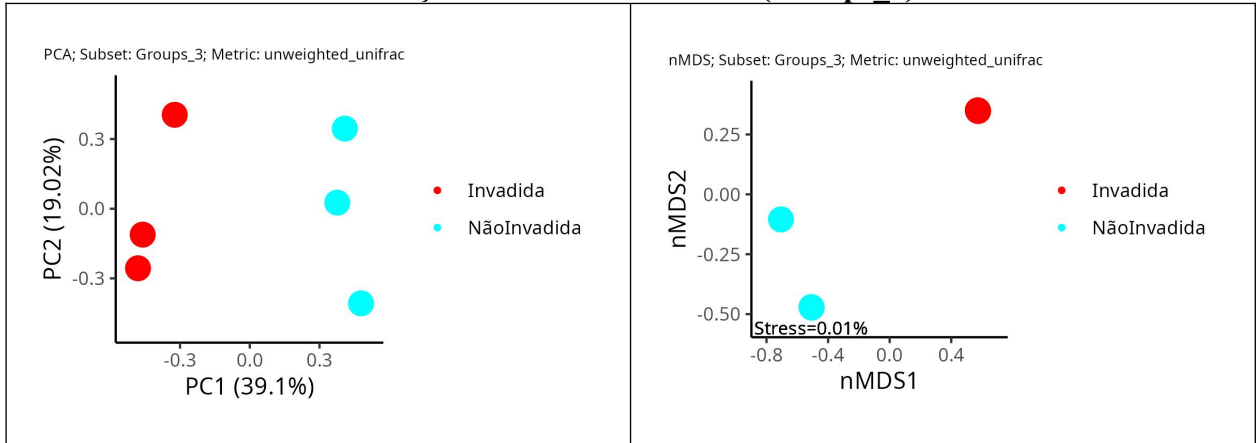
Subset: Groups\_3; Taxon: 4-Order; Individual



Subset: Groups\_3; Taxon: 4-Order; Group Sum

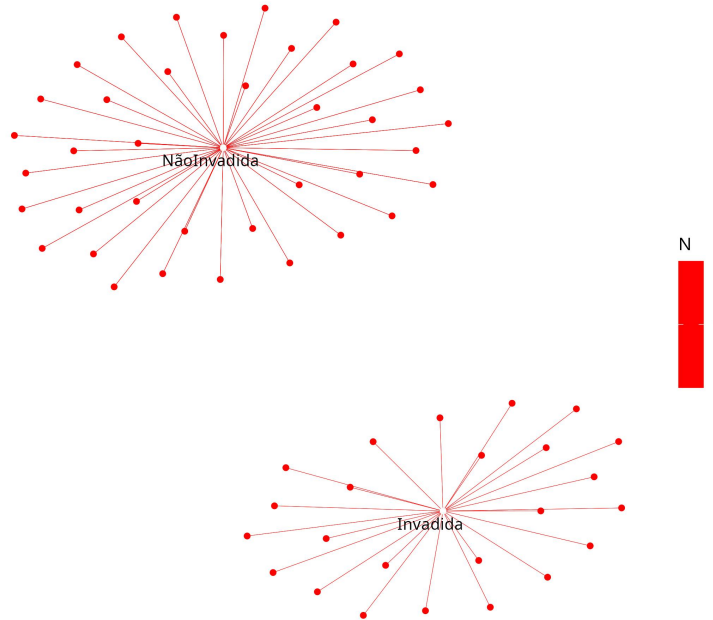


### Redução de dimensionalidade (Groups\_3)



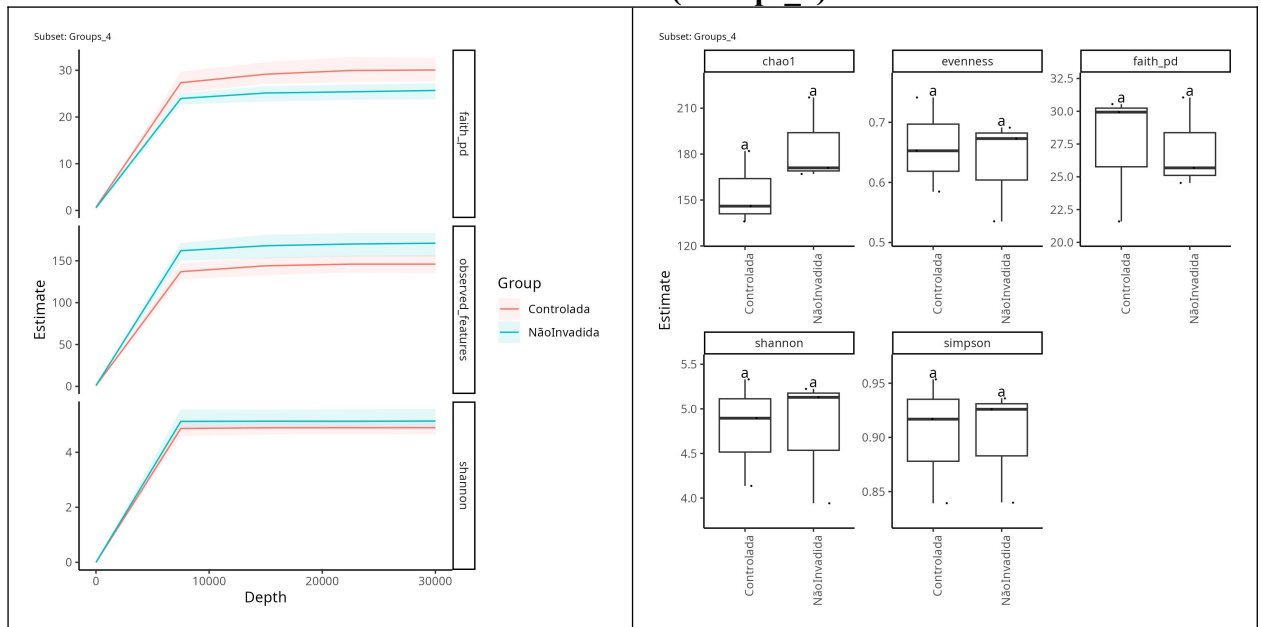
### Core Microbiome (Groups\_3)

Subset: Groups\_3



Incidence=0.001: Prevalence=0.5: Subset=69.5%

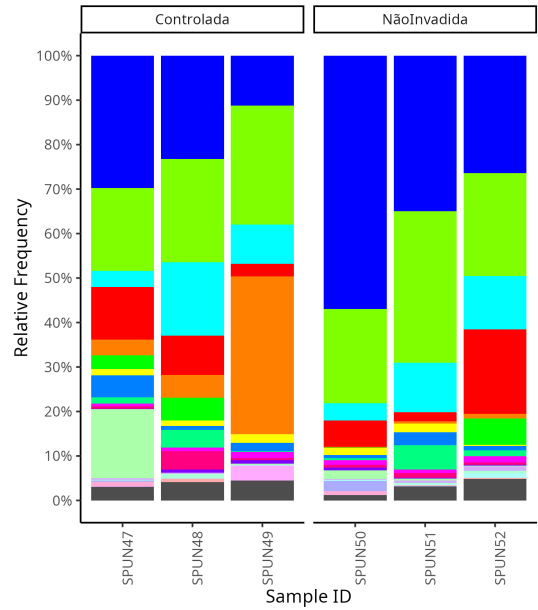
### Alfa diversidade (Groups\_4)



### Beta diversidade: Abundância relativa (Groups\_4)

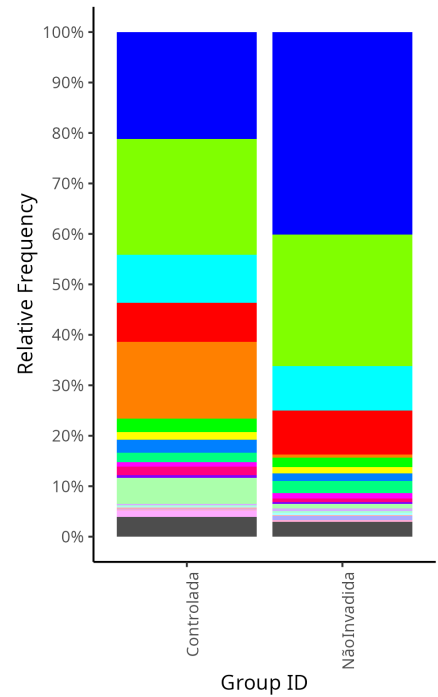
Subset: Groups\_4; Taxon: 4-Order; Individual

- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Dothideomycetes;o\_\_Venturiales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Eurotiomycetes;o\_\_Chaetothyriales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Eurotiomycetes;o\_\_Eurotiales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Leotiomycetes;o\_\_Helotiales
- k\_Fungi;p\_\_Basidiomycota;c\_\_Agaricomycetes;o\_\_Agaricales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Peizomycetes;o\_\_Peizomycetes\_ord\_Incertae\_sedis
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Sordariomycetes;o\_\_Hypocreales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Leotiomycetes;o\_\_Leotiales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Leotiomycetes;\_\_
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;\_\_;\_\_
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Ascomycota\_cls\_Incertae\_sedis;o\_\_Ascomycota\_ord\_Incertae\_sedis
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Sordariomycetes;o\_\_Sordariomycetes\_ord\_Incertae\_sedis
- k\_Fungi;p\_\_Basidiomycota;c\_\_Agaricomycetes;o\_\_Thelephorales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Dothideomycetes;o\_\_Pleosporales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Sordariomycetes;o\_\_Sordariales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Sordariomycetes;o\_\_Chaetosphaeriales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Sordariomycetes;o\_\_Magnaporthales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Eurotiomycetes;o\_\_Eurotiomycetes\_ord\_Incertae\_sedis
- k\_Fungi;p\_\_Basidiomycota;c\_\_Agaricomycetes;o\_\_Cantharellales
- k\_Fungi;p\_\_Rozellomycota;c\_\_Rozellomycotina\_cls\_Incertae\_sedis;o\_\_GS11
- Underrepresented

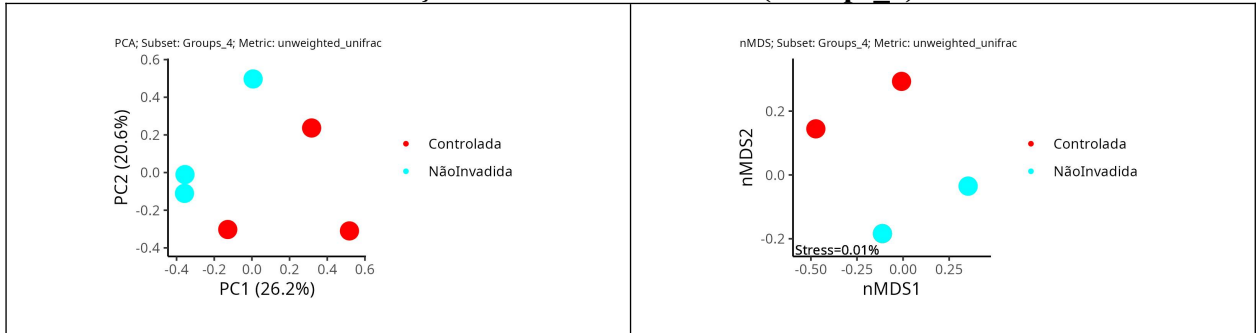


Subset: Groups\_4; Taxon: 4-Order; Group Sum

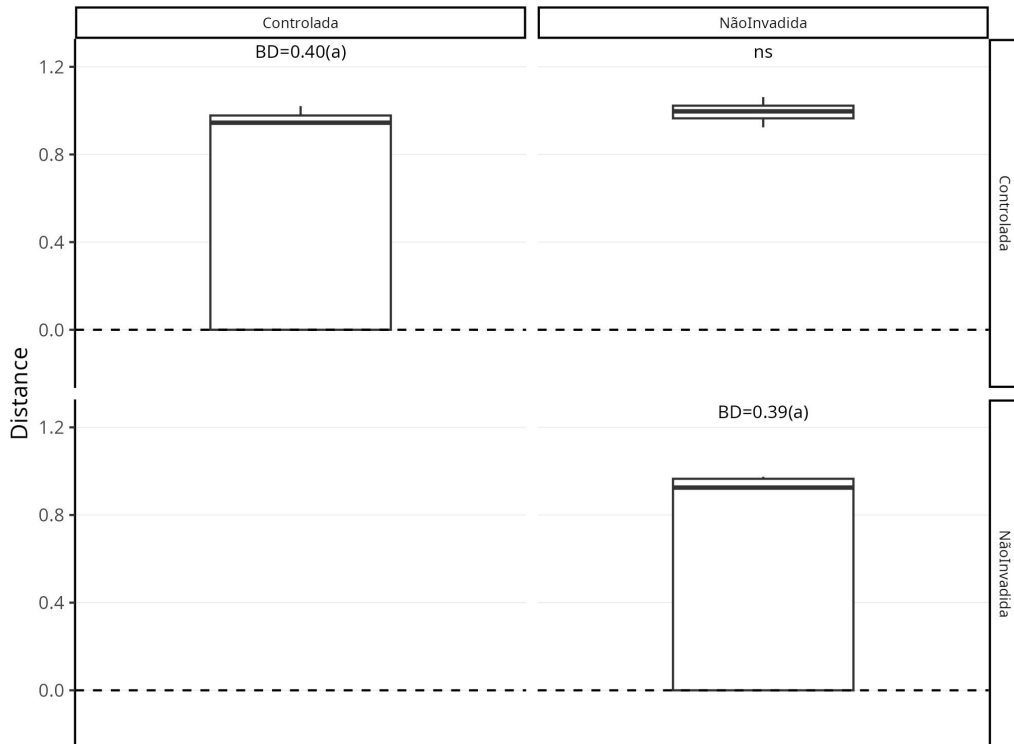
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Dothideomycetes;o\_\_Venturiales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Eurotiomycetes;o\_\_Chaetothyriales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Eurotiomycetes;o\_\_Eurotiales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Leotiomycetes;o\_\_Helotiales
- k\_Fungi;p\_\_Basidiomycota;c\_\_Agaricomycetes;o\_\_Agaricales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Peizomycetes;o\_\_Peizomycetes\_ord\_Incertae\_sedis
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Sordariomycetes;o\_\_Hypocreales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Leotiomycetes;o\_\_Leotiales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Leotiomycetes;\_\_
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;\_\_;\_\_
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Ascomycota\_cls\_Incertae\_sedis;o\_\_Ascomycota\_ord\_Incertae\_sedis
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Sordariomycetes;o\_\_Sordariomycetes\_ord\_Incertae\_sedis
- k\_Fungi;p\_\_Basidiomycota;c\_\_Agaricomycetes;o\_\_Thelephorales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Dothideomycetes;o\_\_Pleosporales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Sordariomycetes;o\_\_Sordariales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Sordariomycetes;o\_\_Chaetosphaeriales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Sordariomycetes;o\_\_Magnaporthales
- k\_Fungi;p\_\_Ascomycota;c\_\_Eurotiomycetes;o\_\_Eurotiomycetes\_ord\_Incertae\_sedis
- k\_Fungi;p\_\_Basidiomycota;c\_\_Agaricomycetes;o\_\_Cantharellales
- k\_Fungi;p\_\_Rozellomycota;c\_\_Rozellomycotina\_cls\_Incertae\_sedis;o\_\_GS11
- Underrepresented



### Redução de dimensionalidade (Groups\_4)

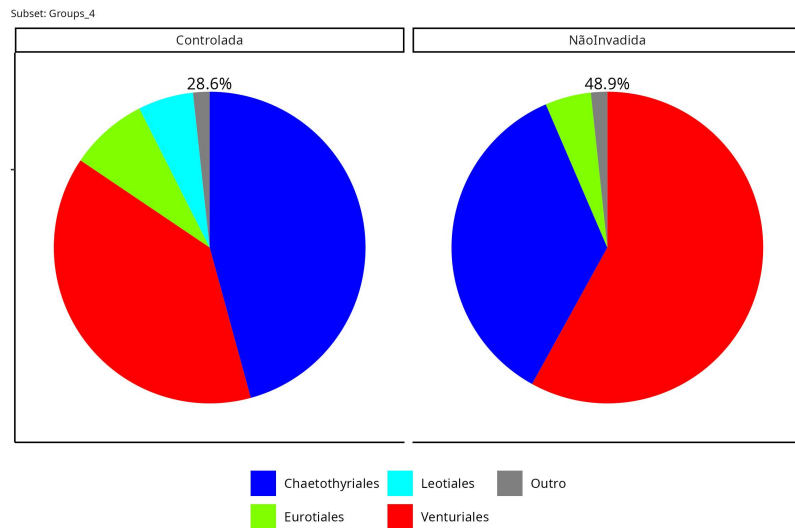
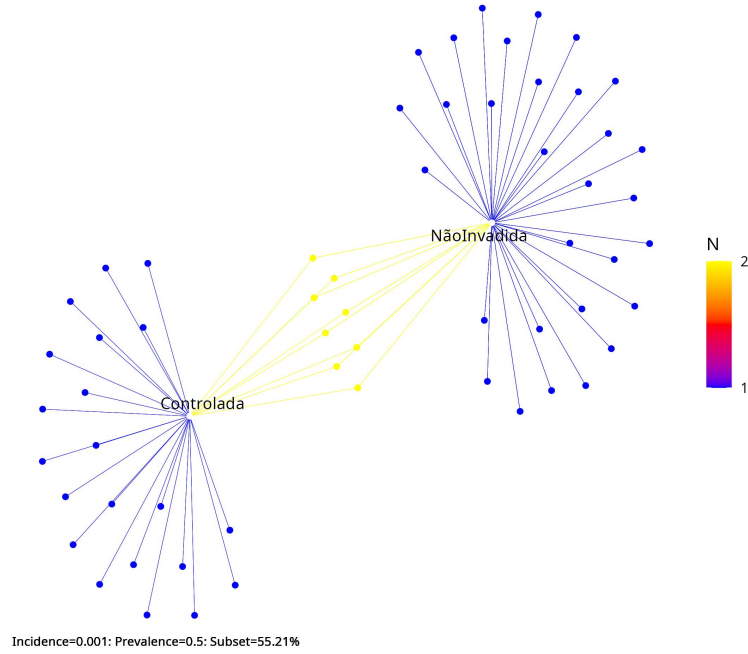


PERMANOVA; Subset: Groups\_4; Metric: unweighted\_unifrac



## Core Microbiome (Groups\_4)

Subset: Groups\_4



## Conclusão

O sequenciamento realizado produziu dados de alta qualidade, com uma média de qualidade superior a Q30, indicando uma precisão robusta nas leituras genômicas. A filtragem conservativa dos dados, aplicada através da ferramenta DADA2, garantiu a retenção de um número adequado de leituras para a estimativa dos índices estudados. A análise da curva de rarefação, que apresentou platô, indicando que o volume de dados gerado foi suficiente para uma avaliação confiável da diversidade microbiana presente na amostra. Além disso, a ausência de indícios de contaminantes reforça a integridade dos dados obtidos, assegurando que as conclusões derivadas são representativas das comunidades microbianas analisadas. Esses resultados estabelecem uma base sólida para a interpretação dos dados e para possíveis investigações subsequentes, destacando a eficácia dos métodos de sequenciamento e processamento utilizados.

## Observações

OBS1: O processo de *merge* pelo programa FLASH apresentou baixa taxa de combinação, provavelmente pela queda na qualidade e aumento na taxa de erro de sequenciamento dos extremos das reads reverse (vide controle de qualidade). Para contornar esse problema, o método foi substituído pelo join do programa VSEARCH para máximo aproveitamento dos dados gerados no sequenciamento.

OBS2: Algumas comparações entre grupos requisitadas não puderam ser realizadas devido aos grupos estabelecidos serem formados por uma única amostra (N=1). Nesses casos, as comparações devem ser feitas utilizando as estimativas individuais das amostras disponibilizadas nos arquivos, tabelas e figuras.

## **SOBRE A BPI:**

A BPI, uma empresa do Grupo Genotyping S.A., é especializada em serviços de biotecnologia utilizando ferramentas de biologia molecular, incluindo as metodologias aplicadas e realizadas através do sequenciamento de última geração (NGS).

Sediada em Botucatu, SP, a BPI foi a primeira empresa a compor suas operações no Parque

Tecnológico da cidade. Nosso laboratório apresenta os mais modernos equipamentos e nos permite propor um completo portfólio de serviços em análises moleculares e desenvolvimento de soluções biotecnológicas que atendam às necessidades de setores variados como centros de pesquisas, indústria



farmacêutica, indústria de cosméticos, agronegócios, veterinário, etc.

Nossa equipe é multidisciplinar e altamente especializada, aliando conhecimentos específicos e disposição para discutir e propor as melhores soluções no desenvolvimento de projetos, além de toda estrutura tecnológica, know-how científico e de gestão de recursos.

---

**Caio Munhoz Theodoro**  
Responsável Técnico  
CRBM 17.333