**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Redes ecológicas em comunidades bacterianas da filosfera,
dermosfera e rizosfera de espécies arbóreas da Mata Atlântica**

Silvia Eugenia Barrera Berdugo

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutora em Ciências. Área de concentração: Solos
e Nutrição de Plantas

**Piracicaba
2016**

Silvia Eugenia Barrera Berdugo
Bióloga

Redes ecológicas em comunidades bacterianas da filosfera, dermosfera e rizosfera de espécies arbóreas da Mata Atlântica

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **MARCIO RODRIGUES LAMBAIS**

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutora em Ciências. Área de concentração: Solos
e Nutrição de Plantas

Piracicaba
2016

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP**

Barrera Berdugo, Silvia Eugenia

Redes ecológicas em comunidades bacterianas da filosfera, dermosfera e rizosfera de espécies arbóreas da Mata Atlântica / Silvia Eugenia Barrera Berdugo. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2016.
144 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Padrões de co-corrência 2. Rizosfera 3. Dermosfera 4. Filosfera 5. Microbioma vegetal I. Título

CDD 631.46
B272r

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

DEDICATORIA

*A mis padres Roque Barrera Celis y Eugenia
Berdugo de Barrera por su esfuerzo y apoyo
Incondicional. DEDICO.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Marcio Rodrigues Lambais, por me dar a oportunidade de trabalhar com ele, por sua orientação e confiança tanto no mestrado como no doutorado durante sete anos no Brasil.

Ao Prof. Dr. Jorge Rodrigues por me receber e me permitir trabalhar no seu laboratório na Universidade de California (UCDavis).

Ao Prof. Dr. Fernando Andreote, Dr. Adriano Reis Lucheta e Prof. Dra. Elke Jurany Cardoso pelas valiosas sugestões na qualificação.

Ao Adriano, MUITO OBRIGADA, por todos os ensinamentos, conselhos e dicas nas análises dos dados, na escrita e nas conversas sobre a vida.

Ao Ademir Durrer e Jordan Sayre pela ajuda na minha instância em Davis.

Aos meus amigos do laboratório, Adriano, Alice, Eder, Elisa, Gisele, Giselle (Uai), Kelly, Lucas, Rafa, Rafael Valadares, Sandra, Vivian, Winston, Julio e André por seus ensinamentos, por seus conselhos e os momentos vividos.

A Alice, Rafael Valadares, MUITO OBRIGADA pelas correções do português, visto que sempre se ofereceram a fazê-las antes de eu pedir pra vocês e pelas ajudas adicionais.

Aos técnicos de laboratório, Wladimir, Denise, Fernando, Nivanda pela ajuda recebida.

A Marta, secretária do programa de solos e nutrição de plantas, pela ajuda.

A CAPES e CNPq pelas bolsas concedida.

Aos meus Pais, por seus apoios à distância, desde o telefone, Skype, e pelos seus amores incondicionais.

Ao Prof. Dr. Pablo Vidal-Torrado, por sua amizade, sua ajuda, pelas correções do português, pelas conversas, por todos os seus conselhos e o mais importante, os cafés.

A meus amigos Sandra, Maryeimy, Miho, Esteban, Viviana, Stalin, Yesid, Judith, Willfrand, Nelson, Eleonora, Joice, Rafael Valadares, Silvia e Carlos Andrés pelos momentos vividos, pelas viagens e por serem minha família em Piracicaba.

Aos meus amigos e companheiros colombianos, peruanos, brasileiros, argentinos, chilenos, holandeses, japoneses, espanhóis, pelos almoços, jantares e

festas em geral (latinas ou não) e aos que estiveram em Piracicaba, mas agora encontram-se em outros lugares.

Aos meus companheiros de casa por todas as vivencias.

A todas as pessoas que me acompanharam na distância, porque nunca faltaram palavras de apoio pra me manter sempre na luta.

Aos meus amigos Benny, Anibal e Andrea que me acolheram em Davis e foram como uma família.

A todos os que não foram mencionados mas contribuíram com a realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADA!!!

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT	11
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 Mata Atlântica.....	17
2.2 MicrobiomaVegetal.....	18
2.2.1 Microbiota Associada à Filosfera, Dermosfera e Solo Rizosferico Coletado sobre a Projeção da Copa da Árvore	21
2.2.1.1 Filosfera.....	21
2.2.1.2 Dermosfera.....	24
2.2.1.3 Solo Rizosferico Coletado sobre a Projeção da Copa da Árvore	26
2.3 Avaliando as Comunidades Microbianas através de Redes Ecológicas	29
2.4 Objetivo	33
2.4.1 Objetivos Específicos	33
2.5 Metodologia.....	33
2.5.1 Áreas de estudo	33
2.5.2 Amostragem.....	35
2.5.3 Extração de DNA e Amplificação do Gene rRNA 16S para Pirosequenciamento	36
2.5.4 Análises das Sequências do Gene rRNA 16S.....	38
2.5.5 Análises Estatísticas	39
2.5.6 Análises de Co-ocorrência.....	39
2.6 Resultados e Discussão	40
2.6.1 Comunidade Microbiana Associada à Filosfera, Dermosfera e Solo Rizosferico Coletado sobre a Projeção da Copa da Árvore.....	40
2.6.2 Análises de Padrões de Co-ocorrência.....	54
2.6.2.1 Redes de Co-ocorrência na Filosfera	55
2.6.2.2 Redes de Co-ocorrência na Dermosfera	59
2.6.2.3 Redes de Co-ocorrência na Solo	62
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	118
REFERÊNCIAS.....	119
ANEXOS	135

RESUMO

Redes ecológicas em comunidades bacterianas da filosfera, dermosfera e rizosfera de espécies arbóreas da Mata Atlântica

A Mata Atlântica é uma floresta tropical úmida considerada um “hotspot” de biodiversidade e endemismo. É uma das florestas mais antigas do mundo e uma das maiores florestas da América, abrangendo aproximadamente 150 milhões de hectares em condições ambientais altamente heterogêneas. Estudos em diferentes ambientes da Mata Atlântica, nos núcleos de Picinguaba e Santa Virginia no Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), têm sido realizados para determinar a diversidade de espécies e alterações da estrutura das comunidades de bactérias, tanto na filosfera, quanto na dermosfera e solo rizosférico. No entanto, pouco se sabe sobre as funções ecológicas dessas bactérias, e sobre as interações ecológicas entre as comunidades microbianas e os ambientes onde se desenvolvem. Assim o objetivo desse trabalho foi explorar as interações entre as comunidades microbianas da filosfera, dermosfera e solo coletado sobre a projeção da copa de duas espécies arbóreas da Mata Atlântica ao longo de um gradiente altitudinal, usando análises de co-ocorrência, a partir dos dados obtidos por pirosequenciamento da região V4 do gene rRNA 16S de bactérias, para determinar padrões de associações de bactérias em diferentes níveis taxonômicos em cada microambiente. Para esse estudo, foi proposta a hipótese de que mesmo que as condições ambientais sejam diferentes em cada tipo de floresta (gradiente altitudinal), pode existir grupos de bactérias específicos que co-ocorrem na filosfera, dermosfera ou solo das plantas, funcionando como taxons chaves na estruturação das comunidades bacterianas. Com base do sequenciamento dos genes rRNA 16S, as comunidades bacterianas associadas à filosfera e dermosfera de *E. edulis* e *G. opposita* nas diferentes florestas foram mais similares entre si do que as do solo. Actinobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes e Proteobacteria foram mais abundantes em todos os microambientes estudados. Diferenças nas estruturas das comunidades bacterianas na filosfera, dermosfera e solo foram observadas ao longo do gradiente altitudinal, independente da espécie de planta. Na floresta de terras baixas, a comunidade bacteriana associada à filosfera foi mais similar entre *E. edulis* e *G. opposita*. No solo, a comunidade bacteriana foi mais similar dentro de cada tipo de floresta do que entre florestas, sugerindo um efeito da fisionomia da floresta nas comunidades de bactérias dos solos. Explorando as redes de co-ocorrência das comunidades bacterianas em cada microambiente observou-se que no nível de UTOs, cada microambiente têm diferentes táxons chaves que podem regular as interações ecológicas da comunidade. Embora táxons chaves não representam as UTOs mais abundantes em cada microambiente, eles pertencem, predominantemente às classes Alphaproteobacteria e Gammaproteobacteria, sugerindo que na filosfera, dermosfera e solo o core microbioma não pode ser definido ao nível de UTO, mas possivelmente a níveis taxonômicos mais elevados representando grandes grupos microbianos que apresentam funções redundantes.

Palavras-chave: Padrões de co-ocorrência; Rizosfera; Dermosfera; Filosfera; Microbioma vegetal

ABSTRACT

Ecological networks in bacterial communities of phyllosphere, dermosphere and rhizosphere of tree species of the Atlantic Forest

The Atlantic Forest is a rainforest considered a hotspot of biodiversity and endemism. It is one of the oldest forests in the world and one of the largest forests of America, covering approximately 150 million hectares in highly heterogeneous environmental conditions. Studies in different environments of the Atlantic forest, in the Picinguaba and Santa Virginia areas in the Serra do Mar State Park (PESM) have been conducted to determine the species diversity and changes in the structure of the bacterial communities in the phyllosphere, dermosphere and rhizosphere. However, little is known on the ecological functions of these bacteria, and on the ecological interactions between microbial communities and the environment in which they develop. The aim of this study was to explore the interactions between the microbial communities of the phyllosphere, dermosphere and rhizosphere of two tree species of the Atlantic Forest along an altitudinal gradient. Co-occurrence analysis based on data obtained by pyrosequencing of the 16S rRNA gene V4 region of bacteria to determine patterns of bacterial associations in different taxonomic levels in each microenvironment. For this study, the hypothesis that even if the environmental conditions are different in each type of forest (altitudinal gradient), there may be specific groups of bacteria that co-occur in the phyllosphere, dermosphere or rhizosphere, functioning as keystone taxa in the bacterial communities. Based on the sequencing of 16S rRNA genes, bacterial communities associated with the *E. edulis* and *G. opposita* phyllosphere and dermosphere in different forests were more similar to each other than the rhizosphere. Actinobacteria, Firmicutes, Proteobacteria and Bacteroidetes were the more abundant taxa in all studied microenvironments. Differences in the bacterial community structures in the phyllosphere, dermosphere and rhizosphere were observed along the altitudinal gradient, regardless of the plant species. In the lowland forest, the bacterial community associated with the phyllosphere was more similar between *E. edulis* and *G. opposita*. The rhizosphere bacterial community was more similar within each forest type than between forests, suggesting an effect of the forest physiognomy on the bacterial communities of the rhizosphere. Exploring the co-occurrence networks in the bacterial communities of each microenvironment it was observed that at the OTU level each microenvironment has different keystone taxa that may regulate the ecological interactions in the community. Although the keystone taxa do not represent the most abundant OTUs in each microenvironment, they belong predominantly to Alphaproteobacteria and Gammaproteobacteria classes, suggesting that in the phyllosphere, dermosphere and rhizosphere the core microbiome cannot be determined at the OTU level, but possibly at higher taxonomic levels representing microbial groups having redundant functions.

Keywords: Co-occurrence-networks; Rhizosphere; Dermosphere; Phyllosphere; Plant microbiome

1 INTRODUÇÃO

A Mata Atlântica é um bioma constituído de florestas tropicais internacionalmente reconhecido pela alta biodiversidade (1 a 2% do total de espécies conhecidas no mundo) e pela vasta quantidade de espécies endêmicas (RODRIGUES et al., 2013). Em virtude da sua riqueza biológica e níveis de ameaça, este bioma constitui uma das 25 áreas prioritárias para a conservação da biodiversidade mundial (MYERS et al., 2000). Atualmente, está reduzida a menos de 8% de seus 1.350.000 km² originais e, apesar disto, ainda é a terceira maior formação vegetal do Brasil e a segunda com maior diversidade biológica depois da região Amazônica. Por ser um dos biomas mais produtivos do mundo, a Mata Atlântica requer alta quantidade de nutrientes para manutenção da cadeia trófica. Neste contexto, os microrganismos são essenciais para a ciclagem de nutrientes e manutenção de outras atividades essenciais para o funcionamento das florestas.

Apesar de serem importantes para a estabilidade dos ecossistemas, pouco se sabe sobre a diversidade microbiana associada com as diferentes espécies vegetais em florestas tropicais, em especial na Mata Atlântica. A maioria dos estudos sobre biodiversidade microbiana nesse bioma foca na diversidade taxonômica e funcional de micro-organismos do solo (BRUCE et al 2010). Pouca informação existe sobre a microbiota associada a plantas na floresta, como filosfera e dermosfera, por exemplo. A superfície das plantas abriga uma grande diversidade microbiana, a maior parte ainda não caracterizada (LAMBAIS et al., 2006; ANDRADE, 2007; MONTENEGRO, 2012; BRAGINA 2012; LAMBAIS et al., 2014). Em estudos na Mata Atlântica, tem sido estimado que a filosfera de diferentes espécies arbóreas pode abrigar de 100 e 670 espécies bacterianas, sendo 97% delas não descritas, e que a filosfera coletiva da Mata Atlântica pode conter de 2 a 13 milhões de espécies bacterianas, a maioria ainda não descritas (LAMBAIS et al., 2014). Na dermosfera, um micro-ambiente pouco estudado, a situação é similar à da filosfera, mas com níveis de diversidade microbiana menores, em relação à filosfera (LAMBAIS et al., 2014). Já na rizosfera, sendo um ambiente mais complexo, tem sido observado que a diversidade microbiana é maior quando comparada com a filosfera, e que existe um efeito da planta sobre na seleção da comunidade microbiana associada (LAMBAIS et al., 2014). Enquanto a rizosfera é um microambiente que caracteriza-se por uma alta diversidade microbiana além de ser rico em nutrientes devido à

presença de exsudados e mucilagem da raiz (BULGARELLI et al., 2013), a filosfera é um ambiente pobre em nutrientes, exposto a altas temperatura, umidade e radiação UV (VORHOLT; 2012), de maneira similar ao que ocorre na dermosfera (ANDRADE, 2007). De uma maneira geral, o microbioma associado a plantas de florestas tropicais pode conter uma infinidade de micro-organismos, em sua maioria desconhecidos, cujos papéis na manutenção da funcionalidade dos ecossistemas não são totalmente conhecidos.

Em ecossistemas florestais, os microrganismos podem estar envolvidos na manutenção do equilíbrio dos ciclos biogeoquímicos, fluxos de gases e outros processos que determinam a sustentabilidade dos ecossistemas e as alterações climáticas globais, e são essenciais para a manutenção da vida no planeta (KIRK et al., 2004). Portanto, o estudo da diversidade microbiana é essencial para o conhecimento da distribuição de espécies e seus papéis funcionais, bem como para possíveis aplicações biotecnológicas (KENNEDY; SMITH, 1995).

Entender as interações entre táxons em uma comunidade microbiana e suas respostas a mudanças ambientais é essencial para determinar os mecanismos pelos quais os micro-organismos controlam processos biogeoquímicos em um ecossistema (MADSEN, 2011). Em condições naturais, os micro-organismos raramente ocorrem isolados, e mesmo quando isolados os indivíduos de uma mesma população interagem entre si de várias formas. Em uma comunidade microbiana complexa, vários grupos de micro-organismos se inter-relacionam formando redes de associações ecológicas complexas, cujo funcionamento é fundamental para a estabilidade funcional do ecossistema. Embora o estudo de redes ecológicas seja importante para a compreensão da macro-ecologia, a aplicação do conceito em ecologia microbiana também tem sido feito, porém em menor escala, como por exemplo nos estudo sobre ecologia do microbioma humano (FAUST;RAES, 2012; LEY et al., 2008), microbioma de ambientes marinhos (STEEL et al., 2011), microbioma do solo (ZHOU et al., 2010; BARBERÁN et al., 2012; MENDES et al., 2014; DINI-ANDREOTE, 2014; LUPATINI et al., 2014) e da filosfera (AGLER et al., 2016). A análise de redes de co-ocorrência aplicada a comunidades microbianas, pode ser importante para caracterizar a biogeografia, distribuição funcional, e/ou as interações ecológicas dos micro-organismos no nível de comunidade, e para identificar características ecológicas de grupos microbianos ainda não-caracterizados (WILLIAMS et al., 2014).

Dentro de cada rede de co-ocorrência, diferentes táxons microbianos desenvolvem associações de vários níveis e com base nelas, táxons importantes para o funcionamento dos ecossistemas, chamados centrais ou altamente conectados (“hubs”) ou chaves (“keystone”), podem ser identificados (van der HEIJDEN; HARTMANN). Táxons altamente conectados são aqueles que desenvolvem grandes números de interações com outros táxons, enquanto que táxons chaves são aqueles responsáveis pela estruturação da comunidade microbiana (AGLER et al., 2016). Usando sequenciamento em larga escala para caracterizar o microbioma da filosfera de *Arabidopsis* foi observado que tanto fatores bióticos quanto abióticos, assim como o genótipo da planta, influenciam a composição do microbioma da planta e que micro-organismos específicos estariam afetando a estrutura da rede de co-ocorrência de bactérias e fungos da filosfera (AGLER et al., 2016). Por outro lado, micro-organismos específicos que atuam como “hubs” poderiam ser influenciados pelo genótipo do hospedeiro, transmitindo esses efeitos à comunidade microbiana toda pelo grande número de interações que desenvolvem, modulando assim a interação com o hospedeiro.

O desenvolvimento de técnicas de sequenciamento em larga escala para a caracterização da estrutura de comunidade microbianas tem revolucionado os estudos sobre diversidade e ecologia de micro-organismos, permitindo a maior cobertura das populações e a detecção de grupos pouco abundantes (ROESCH et al., 2010), bem como auxiliando na compreensão das interações ecológicas em comunidades microbianas complexas em diferentes ambientes (MENDES et al., 2014). Contudo, a maioria dos estudos realizados descrevem e comparam as estruturas das comunidades microbianas com base no número de filotipos encontrados em cada amostra ou na abundância relativa dos mesmos (BARBERÁN et al., 2012).

O objetivo deste estudo é avaliar as estruturas das comunidades de bactérias na filosfera, dermosfera e o solo rizosférico coletado sobre a projeção da copa de duas espécies arbóreas (*E. edulis* e *G. opposita*) ao longo de um gradiente altitudinal na Mata Atlântica, e suas interações com fatores bióticos e abióticos, explorando redes de co-ocorrência para definir táxons chaves (“keystone”) e altamente conectados (“hubs”). Usando-se redes de co-ocorrência foram determinados como se alteram os padrões de co-ocorrência e co-exclusão de táxons da comunidade

bacteriana da filosfera, dermosfera e solo rizosferico coletado sobre a projeção da copa em relação à espécie arbórea e ao tipo de floresta ao longo de um gradiente altitudinal, assim como táxons que apresentam importantes associações em cada microambiente, como táxons altamente conectados ou possíveis táxons chaves. A hipótese de trabalho é que muito embora as condições ambientais sejam diferentes em cada tipo de floresta, pode existir um grupo de bactérias “core” que se mantém em cada uma das redes de co-ocorrência aqui testadas, assim como possíveis grupos chaves que se repetem na comunidade bacteriana associada a cada microambiente.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Mata Atlântica

A Mata Atlântica é uma floresta tropical úmida, considerada um “hotspot” de biodiversidade e endemismo (MYERS et al., 2000). É uma das florestas mais antigas do mundo, abrigando aproximadamente 2% do total global de espécies (RODRIGUES et al., 2013), e uma das maiores florestas da América, abrangendo aproximadamente 150 milhões de hectares em condições ambientais altamente heterogêneas (RIBEIRO et al., 2009). Sua vegetação é uma das mais ricas do planeta (JOLY; MARTINELLI, 2008), mas é também uma das mais ameaçadas de extinção dentre as florestas tropicais, pelas excessivas atividades de expansão de áreas agrícolas e urbanização (BRUCE et al., 2010). Este bioma, que ocorre desde o litoral da região Nordeste até o Sul do Brasil, e estende-se até Argentina, Paraguai e Uruguai, pode ser visto como um mosaico diversificado de ecossistemas, com estruturas e composições florísticas diferenciadas em função do solo, relevo e condições climáticas (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, 2008; SANTOS et al., 2014).

A maior parte dos remanescentes contínuos da Mata Atlântica localizam-se em São Paulo e Paraná, dentre eles o Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), no estado de São Paulo, é o mais protegido e preservado (NARDELLI, 2011). O PESM é um remanescente da Mata Atlântica da costa leste brasileira, e é dividido em diversas seções com denominações regionais (FAORO et al., 2010). No litoral do estado de São Paulo, a Mata Atlântica é um mosaico de ecossistemas onde a formação principal é a floresta úmida tropical, incluindo áreas de restinga (sensu stricto, SUGUIO; TESSLER, 1984; apud MARTINS, 2010) e outras diferentes fisionomias, como a floresta ombrófila de terras baixas e montana, ocorrendo de 0 m a 1.000 m de altura, em relação ao nível do mar (VELOSO et al., 1991; ASSIS et al., 2011; MORELLATO et al., 2000;). A faixa latitudinal estende-se em regiões tropicais e subtropicais, a faixa longitudinal mostra diferenças na composição da floresta e a ampla faixa altitudinal favorece a alta diversidade e endemismo de espécies vegetais e animais (RIBEIRO et al., 2009). Grande número de espécies endêmicas de vários grupos taxonômicos são encontrados nesse bioma, que abriga aproximadamente 20.000 espécies de plantas (40% são espécies arbóreas), além de várias espécies

de aves, mamíferos, répteis e anfíbios, sendo esses os grupos taxonômicos mais estudados (MITTERMEIER et al., 2005). O desmatamento da Mata Atlântica pode levar à extinção de um número incalculável de espécies, sendo que muitas podem ter sido extintas antes mesmo de serem descritas (REIS et al., 1992). Muito embora uma grande quantidade de informações sobre a diversidade vegetal esteja disponível na literatura (JOLY et al., 2012), sabe-se pouco sobre a diversidade de micro-organismos existentes na Mata Atlântica, no solo, na água, ou associados a plantas ou animais.

De uma maneira geral, a Mata Atlântica é mais exuberante do que a floresta Amazônica (JOLY; MARTINELLI, 2008). Porém, solos sob a Mata Atlântica nas encostas da Serra do Mar são pobres em N, quando comparados aos da floresta Amazônica. Para explicar a maior exuberância em diversidade vegetal da Mata Atlântica em solos pobres em N, acredita-se que seu funcionamento seja diferente daquele observado na floresta Amazônica em relação à absorção, aproveitamento e liberação de nutrientes (JOLY; MARTINELLI, 2008). Além dos contrastes entre as maiores florestas do Brasil, existem diferenças entre os ecossistemas da Mata Atlântica. Os solos das florestas presentes entre 5 e 50 m de altitude são rasos e mais pobres em nutrientes do que aqueles entre 800 e 1200 m de altitude (JOLY; MARTINELLI, 2008). Devido à textura arenosa, menor aporte de fitomassa e menor teor de N nos tecidos foliares, os solos ao nível do mar têm os menores teores de N. Além disso, a alagamento que ocorre nessas áreas faz com que o solo se torne anaeróbico, diminuindo a taxa de mineralização da matéria orgânica, em contraste com o que ocorre nas áreas que têm melhor condição de drenagem (MARTINS, 2010).

2.2 Microbioma Vegetal

As plantas abrigam uma grande diversidade de micro-organismos, tanto epifíticos quanto endofíticos, os quais podem estabelecer diferentes tipos de relações ecológicas com as mesmas, desde o mutualismo até o antagonismo (TURNER et al., 2013; LEBEIS, 2015; SCHLAEPPPI E BULGARELLI, 2015). Muitos micro-organismos associados às superfícies das plantas (filosfera e dermosfera, por exemplo) ou à rizosfera podem não exercer diretamente impactos positivos ou negativos no desenvolvimento do hospedeiro (van der HEIJDEN et al., 2016),

enquanto outros afetam positivamente, como é o caso dos fungos micorrízicos arbusculares e bactérias fixadoras de nitrogênio (van der HEIJDEN et al., 2008), ou negativamente, como é o caso de micro-organismos patogênicos (van der HEIJDEN et al., 2016). Considerando-se que a planta possui micro-ambientes altamente distintos, tais como rizosfera, dermosfera e filosfera, por exemplo, desvendar os mecanismos que regulam a distribuição espacial dos micro-organismos e suas funções nas plantas é importante para compreender as respostas das mesmas a diferentes tipos de estresses ou sua adaptação a diferentes ambientes (LEFF et al., 2015; TURNER et al., 2013; BERG et al., 2014).

O microbioma vegetal pode ser considerado o segundo genoma da planta, por isso seu estudo é de fundamental importância, muito embora as interações entre a planta e as comunidades microbianas a ela associadas sejam altamente dinâmicas e complexas (TURNER et al., 2013). O microbioma associado a parte aérea da planta (VORHOLT, 2012), à rizosfera (PHILIPPOT et al., 2013) e aos tecidos internos da planta, apresenta alto níveis de variação intra- e inter-específica, especialmente se o microbioma é visto no nível de gênero ou espécie (TURNER et al., 2013). Berg e colaboradores (2015), usando uma abordagem metagenômica em plantas medicinais, encontraram mais de 1.200 espécies de procariotos na rizosfera, com uma abundância entre 10^9 e 10^{11} células bacterianas por grama de raiz, já na filosfera encontraram uma menor diversidade do que na rizosfera, totalizando aproximadamente 900 espécies. Essas diferenças em cada microbioma foram atribuídas aos diferentes mecanismos de colonização que usam os micro-organismos para se estabelecer em diferentes microambientes (BERG et al., 2014). A comunidade microbiana associada à rizosfera de diferentes espécies arbóreas na Mata Atlântica, segundo o índice de Shannon, foi mais diversa quando comparada com a filosfera ou dermosfera da mesma espécie de planta (LAMBAIS et al., 2014). Muito embora, sejam vários os estudos que avaliam a diversidade e riqueza dos micro-organismo que compõem microbioma das plantas, os fatores que os influenciam são ainda em parte desconhecidos (ANDREOTE et al., 2014).

Sendo o microbioma da planta um componente ativo onde cada microambiente responde a condições bióticas e abióticas, é importante entender o que afeta a estrutura e composição desse microbioma (ANDREOTE et al., 2014). Fatores bióticos como idade e etapa de desenvolvimento da planta, espécie e cultivar e junto com eles vários fatores abióticos, modulam tanto a diversidade

taxonômica como funcional do microbioma da planta (BERG; SMALLA, 2009). Estudos têm mostrado que o microbioma das plantas pode ser afetado pela distância geográfica (FINKEL et al., 2011), heterogeneidade ambiental (GREEN; BOHANNAN, 2006), condições climáticas (WHIPPS et al 2008) ou pelo efeito da dispersão dos micro-organismos no ambiente (GREEN; BOHANNAN, 2006; REDFORD; FIERER, 2009). O efeito da distância geográfica sobre a comunidade microbiana tem sido observada em vários estudos conduzidos em diferentes ambientes como filosfera (FINKEL et al., 2012) e solo (CHO; TIEJDE, 2000; FRANKLIN; MILLS, 2003), onde diferenças na comunidade bacteriana associada à planta têm sido encontradas em escala regional e não em uma escala maior.

A filogenia das espécies vegetais também afeta a microbiota associada. Redford e colaboradores (2010) encontraram correlação entre a filogenia das espécies vegetais estudadas e a composição bacteriana da filosfera. Quanto mais relacionadas as espécies vegetais, maior a similaridade da estrutura das comunidades bacterianas. O genótipo da planta, idade, estágio de desenvolvimento e a competição entre micro-organismos por nutrientes e espaço também afetam a estrutura das comunidades microbianas associada às plantas (DELMOTTE et al., 2009). Em condições naturais, as plantas e as comunidades microbianas associadas estão expostas a grandes mudanças de temperatura, umidade (WHIPPS et al 2008), incidência de raios UV (DELMOTTE et al., 2009; VORHOLT, 2012) e pH ao longo do dia, causando alterações da composição e atividade da microbiota, direta ou indiretamente, através de mudanças no metabolismo da planta hospedeira (TURNER et al., 2013).

Os resultados obtidos nesses diversos estudos indicam que, embora se saiba como alguns fatores bióticos e abióticos afetam a composição e estrutura das comunidades microbianas associadas às plantas, pouco ainda se sabe sobre como os micro-organismos interagem entre si e com a planta, e como essas comunidades microbianas influenciam no desenvolvimento e crescimento das plantas (SCHLAEPI; BULGARELLI, 2015, BULGARELLI, et al., 2013), atuando contra patógenos (WELLER et al., 2002), contra estresses hídrico e alta salinidade, por exemplo (YANG et al., 2009), e na composição de metabólitos secundários nos tecidos vegetais (BERG et al., 2015), dentre algumas das funções mais importantes do microbioma. No entanto, o uso de diferentes abordagens moleculares, como metagenômica, metatranscritômica, metaproteômica e metabolômica, têm permitido

um melhor entendimento dessas interações e poderão ser usadas para definir as funções de cada grupo de micro-organismos no ambiente em que vivem e os mecanismos que regem as interações intra- e interespecíficas (BULGARELLI et al., 2013; 2015, SCHLAEPPI E BULGARELLI, 2015, DINSDALE et al., 2008, REMUS-EMSERMANN; VORHOLT, 2012).

2.2.1 Microbiota Associada à Filosfera, Dermosfera e Solo Rizosferico Coletado sobre a Projeção da Copa da Árvore

2.2.1.1 Filosfera

A filosfera é o habitat encontrado nas superfícies superior e inferior das folhas, a qual abriga um grande número de micro-organismos, principalmente bactérias (WELLNER et al., 2011). Além de ser considerado um ambiente hostil, pelas grandes oscilações na disponibilidade de água e nutrientes, e incidência de radiação UV, é um ambiente complexo do ponto de vista biológico. As folhas são colonizadas por bactérias, arqueas, fungos filamentosos, leveduras, protozoários e vírus, adaptados às condições estressantes da filosfera (LINDOW; BRAND, 2003; MULLER; RUPEL, 2014). As bactérias representam o grupo mais abundante de micro-organismos nas comunidades microbianas da filosfera, apresentando uma densidade de células de 10^6 a 10^7 por centímetro quadrado de tecido folhar (LINDOW; BRAND, 2003; VORHOLT, 2012).

A composição da comunidade microbiana da filosfera pode ser influenciada pelo metabolismo da planta, raios UV (VORHOLT, 2012), temperatura (DELMOTTE et al., 2009), sazonalidade (REDFORD; FIERER, 2009, HUNTER et al., 2010) ou por mudanças na disponibilidade de carboidratos (HUNTER et al., 2010) e distribuição irregular dos micro-organismos sobre a superfície da folha (REMUS-EMSERMANN, et al., 2012). Além desses fatores, a morfologia e a composição química da folha também influenciam na estruturação da comunidade microbiana na filosfera (MULLER; RUPEL, 2014). É provável que a presença de micronichos específicos na folha explique a irregularidade na distribuição espacial dos micro-organismos epifíticos, em particular estômatos, nervuras da folha e junções da parede celular da epiderme, os quais são considerados “hotspots” para a colonização da filosfera

(BEATTIE E LINDOW, 1999). É possível também que micro-organismos construam nichos na superfície da folha em resposta à interação com a planta (AGLER et al., 2016) ou que alguns micro-organismos liberem moléculas que modulam o sistema de defesa da planta, favorecendo o crescimento de táxons específicos (PIETERSE et al., 2014).

Nas florestas tropicais, a riqueza de espécies bacterianas na filosfera é alta (KIM et al., 2012), mas a diversidade de bactérias nesse ambiente é reduzida quando comparada com a diversidade de bactérias no solo rizosférico (DELMOTTE et al., 2009; LEBEIS, 2015). Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes e Firmicutes tem sido considerados como o “core” microbioma da filosfera no nível de filo (VORHOLT, 2012). As classes Alphaproteobacteria e Gammaproteobacteria, do filo Proteobacteria, têm sido reportadas como os grupos mais abundantes na filosfera em diferentes espécies vegetais (FURNKRANZ et al., 2008; JACKSON; DENNEY, 2011; KIM et al., 2012). Já no nível de gênero, *Methylobacterium*, *Sphingomonas* e *Pseudomonas* têm sido reportados como os mais abundantes neste ambiente (DELMOTTE et al., 2009). Muito embora alguns gêneros sejam encontrados em diferentes espécies de plantas, suas funções na comunidade microbiana podem ser diferentes em cada planta (VORHOLT, 2012). Na Mata Atlântica, tem sido observado que as classes Gammaproteobacteria e Alphaproteobacteria são as mais abundantes da filosfera em diferentes espécies arbóreas, enquanto no nível de gênero, *Pseudomonas* e *Sphingomonas* tem sido reportados como os mais abundantes (LAMBAIS et al., 2014, 2016-submetido para publicação). Em florestas tropicais a presença de um possível “core” microbioma foi detectado na filosfera. Alphaproteobacteria, Gammaproteobacteria, Betaproteobacteria, Sphingobacteria e Actinobacteria foram reportados como os cinco grupos mais dominantes do “core” microbioma de 57 espécies arbóreas em uma floresta de terras baixas no Panamá, sendo *Beijerinckia*, *Leptothrix*, *Stenotrophomonas*, *Niastella*, e *Spirosoma* reportados como as UTOs mais abundantes (KEMBEL et al., 2014).

Tem sido observado também que cada espécie de planta possui uma comunidade bacteriana característica em sua filosfera, e que a estrutura dessas comunidades é mais similar entre indivíduos da mesma espécie do que entre indivíduos de espécies diferentes (LAMBAIS et al., 2006, 2014). Na Mata Atlântica, avaliando a comunidade microbiana associada a filosfera de quatro espécies

arbóreas (*Mollinedia schottiana*, *Ocotea dispersa*, *Ocotea teleiandra* e *Tabebuia serratifolia*) foi observado que a estruturação da comunidade de bactérias é dependente do táxon vegetal, de modo que plantas da mesma espécie têm comunidades mais similares do que plantas de espécies diferentes. As similaridades podem ser observadas também ao nível de família e ordem (LAMBAIS et al., 2014). Esses dados sugerem uma associação entre a história evolutiva das árvores e a comunidade microbiana sobre a filosfera (REDFORD et al., 2010; LAMBAIS et al., 2014). Embora a comunidade bacteriana associada à filosfera de diferentes espécies arbóreas seja altamente diversa, no nível de proteoma elas compartilham processos metabólicos essenciais para a colonização e crescimento sobre a superfície da folha, sugerindo alta redundância funcional (LAMBAIS et al., 2016-submetido para publicação).

Efeitos da posição geográfica também podem contribuir para a estruturação das comunidades microbianas na filosfera. Ruiz (2010) observou que a similaridade entre as comunidades bacterianas da filosfera de *Maytenus robusta* diminuiu quando a distância entre as árvores aumentava em um mesmo ambiente na Mata Atlântica. Em ambientes distantes centenas de quilômetros, a similaridade entre as comunidades de bactérias na filosfera de *M. robusta* era maior entre indivíduos do mesmo ambiente, em relação a indivíduos de ambientes geograficamente mais distantes. A comunidade bacteriana associada à filosfera de *Tamarix* foi altamente similar em plantas localizadas na mesma área, onde a filosfera das árvores foi dominada por *Halomonas* e *Halobacteria*, do que em plantas de áreas com condições climáticas diferentes, nas quais a filosfera era dominada por Actinomycetales e Bacillales (FINKEL et al., 2011). Finkel e colaboradores (2012) também observaram que a distância geográfica afeta a composição da comunidade microbiana de uma mesma espécie de planta, especialmente o grupo Betaproteobacteria, nas áreas mais próximas umas das outras, onde parece haver influência do clima regional na estruturação da comunidade bacteriana.

Os mecanismos pelos quais a planta controla a estruturação das comunidades microbianas na filosfera não são conhecidos. É possível que a estruturação das comunidades seja modulada pela interação de vários fatores ambientais promovendo alterações na abundância relativa das populações microbianas em diferentes espécies de plantas. A compreensão da interação entre genótipo da planta e os genótipos dos micro-organismos da comunidade (KIM et al., 2012),

assim como a identificação de genes vegetais essenciais para a organização das comunidades microbianas na filosfera, são fundamentais para o manejo da microbiota na folha para o aumento da produção vegetal (MULLER; RUPEL, 2014).

2.2.1.2 Dermosfera

A dermosfera é definida como a região da superfície da casca, a camada mais externa do tronco das plantas lenhosas (LAMBAIS et al., 2014). Como a filosfera, também é considerado um ambiente hostil, por estar exposta a grandes variações de temperatura e umidade, radiação ultravioleta, estresse osmótico, variações morfológicas e genotípicas das plantas (ANDRADE, 2007). Além dos micro-organismos presentes na dermosfera, líquens e briófitas aumentam a complexidade biológica desse ambiente (CUSACK et al., 2009). No entanto, os mecanismos pelos quais superfícies como a casca selecionam seu microbioma, e como o microbioma é afetado por fatores ambientais, ainda não são conhecidos (LAMBAIS et al., 2014). A composição da comunidade bacteriana associada aos líquens que encontram-se associados às espécies vegetais pode ser afetada por fatores bióticos e abióticos, incluindo a posição geográfica, substrato, metabólitos secundários liberados pelo fungo (CARDINALE et al., 2006), pH (TARHANEN, 1998), idade da planta, escoamento de água pelo tronco (FRITZ et al., 2009) e umidade desse compartimento (BECKER, 1980). Em *Fagus selvatica*, micro-habitats da dermosfera com pH alto podem ter um papel importante na ocorrência de espécies epifíticas sensíveis e específicas de líquens e briófitas (FRITZ et al., 2009).

Os micro-organismos que habitam a dermosfera são pouco conhecidos, mas muitos deles podem ter aplicações biotecnológicas importantes, como produção de antibióticos e outros metabólitos secundários. Em espécies arbóreas da Mata Atlântica, assim como ocorre na filosfera, quando este microambiente foi comparado com a rizosfera, apresentou menor riqueza e diversidade de UTOs, mas as comunidades bacterianas foram mais similares às da filosfera do que rizosfera (LAMBAIS et al., 2014). Montenegro (2012) observou maior diversidade de bactérias na dermosfera quando comparada com filosfera e rizosfera, devido provavelmente à presença de epífitas associadas a este microambiente como musgos, briófitas e líquens. Amostras de casca também apresentaram maior diversidade e riqueza de

espécies de bactérias em árvores de *Ginkgo biloba*, quando comparadas com outros microambientes da planta, como folhas e ramos (LEFF et al., 2015).

Na Mata Atlântica foi observado que bactérias do filo Proteobacteria são as mais abundantes na dermosfera de *Euterpe edulis* e *Guapira opposita*, destacando-se as classes Alphaproteobacteria e Gammaproteobacteria (MONTENEGRO, 2012). Lambais e colaboradores (2014) também descreveram a classe Gammaproteobacteria como a mais abundante na dermosfera de *Ocotea dispersa*, *Ocotea teleiandra*, *Mollinedia schottiana*, *Mollinedia uleana*, *Eugenia cuprea*, *Eugenia melanogyna*, e *Tabebuia serratifolia*, sendo *Pseudomonas* o gênero mais abundante. O filo Flavobacteria e a classe Alphaproteobacteria seguiram a classe Gammaproteobacteria entre os mais abundantes. O filo Acidobacteria também foi um grupo abundante nesse compartimento (MONTENEGRO, 2012), o qual juntamente com Cyanobacteria, Actinobacteria e Bacteroidetes podem estar associados a líquens e briófitas (BATES et al., 2009; GRUBE et al., 2009). Como na filosfera, uma alta porcentagem de UTOs representam grupos taxonômicos não descritos (LAMBAIS et al., 2014), assim como grupos considerados raros, sugerindo que este microambiente pode albergar grupos bacterianos novos até agora considerados raros em outros tecidos vegetais (LEFF et al., 2015). Martins e colaboradores (2013) observaram que aproximadamente 55% dos gêneros encontrados em amostras de solo foram também encontrados na dermosfera de videiras. Os mesmos autores detectaram a presença dos gêneros *Xylella* e *Xilanimonas* como específicos da dermosfera. Leff e colaboradores (2015) encontraram que a estrutura da comunidade bacteriana associada à dermosfera de *Ginkgo biloba* foi completamente diferente da comunidade bacteriana da filosfera, e apresentou maior diversidade também.

Tem sido reportada uma grande diversidade microbiana associada à dermosfera, muito provavelmente pelas condições ambientais características, como a acumulação de detritos, solo aéreo (canopy soil) e alta umidade (BRAGINA, et al., 2011). A presença de líquens folhosos e briófitas associados à casca das árvores também oferece um habitat favorável para a comunidade bacteriana, pela presença de umidade e nutrientes orgânicos e inorgânicos necessários para o crescimento microbiano (PALMQUIST, 2000; ANDERSON, 2014). Pela heterogeneidade da dermosfera, os parâmetros bióticos e abióticos que afetam as comunidades

microbianas nesse ambiente não são os mesmos que afetam as comunidades microbianas da filosfera, muito embora vários fatores possam ser comuns aos dois ambientes (LEFF et al., 2015).

2.2.1.3 Solo Rizosferico Coletado Embaixdo da Copa da Árvore

O solo é um ambiente heterogêneo e, de uma maneira geral, oligotrófico, que pode abrigar entre 2 mil e 8,3 milhões de espécies de bactérias aproximadamente por grama (ROESCH et al., 2007). De particular interesse é o solo sob influência das raízes, chamado rizosférico, o qual representa um ambiente rico em nutrientes secretados pelas plantas na forma de exsudados principalmente (STANDING; KILLHAM, 2006). Os exsudados radiculares são compostos de baixa massa molecular, como açúcares, aminoácidos, ácidos orgânicos e metabólitos secundários solúveis (CHAPARRO et al., 2013). Porém, polissacarídeos e proteínas de alta massa molecular também podem ser secretados pelas raízes (BADRI; VIANCO, 2009). A rizosfera é considerada um “hot spot” de diversidade e atividade microbiana, além de ser um ambiente complexo e dinâmico (PHILIPPOT et al., 2013), primariamente em função de gradientes ambientais criados pelo movimento das raízes no solo (de ANGELIS et al., 2009) e da liberação de exsudados que mediam interações multitróficas ao ativar grupos de micro-organismos específicos (JONES et al., 2004).

A rizosfera, além de ter grande importância para a nutrição, saúde e qualidade da planta, desenvolve papéis essenciais para o funcionamento do ecossistema, como a ciclagem de nutrientes, por exemplo (BERG et al., 2014). A maior disponibilidade de nutrientes na rizosfera causa um incremento na população e atividade da microbiota, quando comparado com o solo não-rizosférico (PHILIPPOT et al., 2013), o que leva a alterações ambientais ao redor da raiz, como no teor de carbono disponível, na atividade enzimática (SHI et al., 2011) e no nível de oxigênio (PHILIPPOT et al., 2013), por exemplo. A seleção que a planta faz da comunidade microbiana da rizosfera permite-lhe atrair micro-organismos que contribuem com o seu desenvolvimento, assim como na proteção contra patógenos (LUVIZOTO et al., 2010; MENDES et al., 2011). Aquisição de nutrientes do solo, tolerância a estresse abiótico e produção de hormônios são mecanismos modulados

por micro-organismos da rizosfera que promovem o crescimento vegetal (SCHLAEPPI; BULGARELLI, 2015). Em solos supressivos, a comunidade microbiana pode ser selecionada na rizosfera para limitar o desenvolvimento de patógenos (ANDREOTE et al., 2014), devido à produção de antibióticos (MENDES et al., 2011). No entanto, menos do 10% das bactérias da rizosfera parecem proporcionar controle biológico (WELLER, 1988).

A microbiota associada à rizosfera desenvolve também importantes funções em diferentes ciclos biogeoquímicos (XU et al., 2013) como por exemplo, nos ciclos do carbono (metanogênese, fotossíntese, respiração), nitrogênio (fixação de nitrogênio, oxidação do amônio, nitrificação e desnitrificação), enxofre (oxidação ou redução do enxofre) e de outros elementos, mediando várias reações de oxi-redução (MADSEN, 2011). Diferenças na comunidade microbiana associada à rizosfera poderia estar relacionada a diferentes contribuições nos processos biogeoquímicos (SANTOS et al., 2014).

Altos níveis de alfa e beta diversidade da comunidade microbiana associada à rizosfera têm sido reportados em florestas tropicais (MENDES et al., 2015) incluindo a Mata Atlântica (BRUCE et al., 2010; MONTENEGRO, 2012; LAMBAIS et al., 2014; LIMA et al., 2016). Valores similares de riqueza de espécies de bactérias, segundo o estimador não-paramétrico Chao1, nas florestas de restinga e montana foram observadas na Mata Atlântica. No entanto, a maior diversidade foi observada na floresta de terras baixas, quando comparado com florestas de restinga e montana, segundo o índice de Shannon (LIMA et al., 2016), sugerindo um efeito da posição geográfica na comunidade microbiana da rizosfera. Da mesma forma, a comunidade microbiana da rizosfera é afetada pelo gradiente altitudinal onde as plantas ocorrem (MENG et al., 2013; SILES; MARGUESIN, 2016).

Bactérias, arqueas e fungos, junto com nematóides, protozoários e a macrofauna associada à rizosfera, coletivamente formam a biota do solo (NAZIR et al., 2010). No entanto, a estrutura da comunidade microbiana associada a rizosfera pode variar na mesma planta dependendo do tipo de solo (LUNDBERG et al., 2012) e dos processos que nele ocorrem (NIHORIMBERE et al., 2011). Sendo o domínio Bacteria o mais abundante no solo, os filos Acidobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Chloroflexi, Firmicutes e Proteobacteria, representam a maior diversidade do microbioma do solo (FIERER et al., 2009). Os filos Planctomycetes e Verrucomicrobia também são reportados na rizosfera mas em menor abundância

(TURNER et al., 2013). No nível taxonômico de classe, Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria e Gammaproteobacteria (Proteobacteria) representam aproximadamente 75% das bactérias encontradas no solo rizosférico (WILL et al., 2010), sendo as famílias Pseudomonadaceae (Gammaproteobacteria) e Burkholderiaceae (Betaproteobacteria) as dominantes (MENDES, 2011). Essa alta abundância do filo Proteobacteria pode estar relacionada com a habilidade de usarem diferentes compostos de carbono derivados da planta (PHILIPPOT et al., 2013). Os filos Proteobacteria e Acidobacteria já foram reportados como os filos mais abundantes em solos rizosféricos da Mata Atlântica (LIMA, 2011; BRUCE et al., 2010; ANDRADE, 2007), mostrando uma distribuição muito ampla. A alta incidência de Proteobacteria no solo também tem sido reportada em trabalhos similares usando pirosequenciamento (NACKE et al., 2011). É importante entender que o papel da diversidade microbiana na estabilidade do solo não está só ligado ao número de espécies dominantes presentes, senão também à diversidade funcional dos microrganismos (GRIFFITHS; PHILIPPOT, 2012).

Fatores como distância geográfica, altitude (FAORO et al., 2010), espécie de planta, tipo do solo, além das propriedades edáficas, como pH (LAUBER, et al., 2009), disponibilidade de nutrientes, temperatura, umidade, (JESUS et al., 2010) e potencial redox (STANDING; KILLHAM, 2006), influenciam na estrutura das comunidades microbianas. O tipo de solo é o maior reservatório de microrganismos para a planta selecionar e montar o microbioma da rizosfera (LUNDBERG et al., 2012). Cho e Tiedje (2000) encontraram que isolados de *Pseudomonas* se correlacionam negativamente com a distância geográfica em escala regional mas não em uma escala maior; pelo contrário, mudanças na comunidade bacteriana do solo em escala continental estão mais associadas às propriedades edáficas, especialmente pH (FIERER e JACKSON, 2006). Nacke e colaboradores (2011) observaram que o pH é o atributo do solo que mais influência na composição da comunidade microbiana. Foi observado também que a riqueza de espécies bacterianas no solo em locais com vegetação e características climáticas similares, na Amazônia peruana e em uma floresta decídua nos Estados Unidos, estava associada ao pH do solo (FIERER; JACKSON, 2006). Características físico-químicas do solo também influenciam na fisiologia da planta, afetando quantitativa e qualitativamente a liberação de exsudados, e consequentemente afetando a

atividade e a composição da comunidade microbiana na rizosfera (PHILIPPOT et al., 2013).

2.3 Avaliando as Comunidades Microbianas através de Redes Ecológicas

Na natureza, todas as espécies estão conectadas umas com outras por uma complexa rede de interações, as quais podem ser representados por redes de vias metabólicas, redes tróficas ou redes ecológicas, por exemplo (NEWMAN, 2003). Uma rede ecológica é uma representação de várias interações biológicas, onde diferentes espécies são conectadas por interações pareadas (MONTROYA et al., 2006; CHAFFRON et al., 2010). A análise de redes ecológicas permite obter informações da estrutura dos ecossistemas em três níveis diferentes: individual, intermediário e de grupo (RAMIREZ et al., 2010), as quais são usadas para explorar as propriedades estruturais e estatísticas de um grupo de organismos e as conexões que entre eles existem (NEWMAN, 2003). Além disso, podem ser úteis para a determinação de padrões na estrutura das comunidades, identificação de interações bióticas potenciais, fisiologias compartilhadas e habitats similares (BARBERÁN et al., 2012). As redes ecológicas são usadas, geralmente, para entender os mecanismos de resistência de comunidades nativas a um distúrbio, como a invasão de novas espécies, por exemplo (GRIFFITHS; PHILIPPOT, 2012), além da estabilidade e resiliência dessas comunidades (POISOT et al., 2014). No solo, as associações entre os táxons podem ajudar a revelar quais espaços são compartilhados no habitat pelos integrantes de uma comunidade, assim como o tipo de relação ecológica entre esses integrantes, o que pode levar a compreensão das estratégias de vida de muitos grupos microbianos que ainda são desconhecidas (JANSSEN, 2006). O estudo de redes ecológicas permite identificar padrões que são difíceis de encontrar usando somente informações de alfa e beta diversidade (PROULX et al., 2005).

Redes ecológicas avaliando interações entre plantas e polinizadores (SORENSEN et al., 2011), plantas e herbívoros (PASSMORE et al., 2012), assim como animais e insetos, são bem definidas, ao contrário das redes ecológicas entre microrganismos. Normalmente, a quantificação de interações competitivas entre diferentes espécies ou populações em um habitat determinado são dificultadas pelas limitações ao acesso à comunidade microbiana (DENG et al., 2012). No entanto, o

uso de sequenciamento em larga escala tem permitido, pelo menos parcialmente, o estudo dessas interações. Em uma comunidade microbiana, a visualização das interações entre táxons como redes de co-ocorrência permite determinar táxons ligados direta ou indiretamente, os quais podem ser importantes para a estabilidade da comunidade microbiana (LUPATINI et al., 2014). Analisando-se a topologia de redes de co-ocorrência é possível também determinar padrões de interações em um ambiente específico e determinar o quanto o ecossistema é afetado por esses padrões de interações (CUMMING et al., 2010).

Um quadro conceitual tem sido usado para caracterizar as comunidades microbianas em redes ecológicas, são as chamadas redes ecológicas moleculares (“molecular ecological networks” – MENs, ZHOU et al., 2010), onde diferentes nós, que podem ser marcadores moleculares, UTOs ou genes funcionais, estão conectados por linhas (interações) (DENG et al., 2012). Quando essas redes são construídas com base em genes funcionais são chamadas de redes ecológicas moleculares funcionais (“functional molecular ecological networks” – fMENs). Quando são construídas com base em genes marcadores filogenéticos são chamadas de redes ecológicas moleculares filogenéticas (“phylogenetic molecular ecological networks” – pMENs) (ZHOU et al., 2010).

As redes de interação microbianas são formadas por milhares de constituintes interdependentes que interagem como mutualistas, comensalistas, amensalistas, parasitas ou sinergistas, influenciando diretamente na fertilidade do solo e na regulação das interações entre micro-organismos, e desses com as plantas (van der HEIJDEN; HARTMANN, 2016). Redes ecológicas de micro-organismo têm sido amplamente aplicadas no estudo do microbioma humano (FOSTER et al., 2008; LEY et al., 2008; DURAN-PINEDO et al., 2011; FAUST et al. 2012, TROSVIK; MUINCK, 2015), em ambientes marinhos (FUHRMAN, 2009; STEEL et al., 2011; MILICI et al., 2016) e no solo (ZHOU et al., 2010, BARBERÁN et al., 2012; LUPATINI et al., 2014; BANERJEE et al., 2016; MA et al., 2016), principalmente. Recentemente, padrões de co-ocorrência foram utilizados também para identificar espécies chaves e altamente conectadas em ambientes como a filosfera (COPELAND et al., 2015; AGLER et al., 2016).

Além de descrever as interações que ocorrem nas comunidades microbianas, as análises de redes ecológicas podem ser aplicadas para estudar gradientes ambientais específicos e mudanças nas comunidades ao longo do tempo, e

entender os mecanismos que determinam os padrões de estruturação dessas comunidades (BARBERÁN et al., 2012). As redes ecológicas permitem analisar as interações entre os microrganismos e o ambiente através da correlação com medidas ambientais abióticas, provendo informação sobre as condições que estão influenciando na ocorrência dos microrganismos e vinculando-os com medidas que revelem a função que eles têm nos processos biogeoquímicos (STEEL et al., 2011; DENG et al., 2012). Em ecossistemas aquáticos, por exemplo, além de serem construídas associações entre micro-organismos também foi observado o efeito de alguns nutrientes, como fosfatos, nitratos ou nitritos, na comunidade microbiana (FUHRMAN, 2009; STEEL et al., 2011; EILER et al., 2012). Em solos agrícolas, usando redes de co-ocorrência, foi avaliado como a comunidade microbiana muda em função da decomposição da matéria orgânica e especialmente como afeta a abundância de espécies consideradas chaves entre as arqueas, bactérias e fungos (BANERJEE et al., 2016).

O efeito da distância geográfica sobre a comunidade microbiana no solo também tem sido avaliado a partir de redes de co-ocorrência. Comunidades de arqueas, bactérias e fungos em escala continental foram avaliadas na China para caracterizar as interações microbianas no solo em cinco regiões climáticas (MA et al., 2016). Steel e colaboradores (2011) avaliaram também interações ecológicas entre bactérias, arqueas e protozoários através do tempo, em função de parâmetros físico-químicos e biológicos em um ambiente marinho. Interações de tipo predação, competição, simbiose e parasitismo foram comuns em grupos como arqueas amônio-oxidantes, e cianobactérias, entre outros. Modelos para prever a abundância de populações microbianas em função do ambiente são mais precisos se incluírem interações biológicas. No entanto, dependendo da disponibilidade de dados ambientais, esses modelos poderiam ser usados para prever a estrutura das comunidades microbianas no tempo e no espaço (LARSEN et al., 2012; SANTOS et al., 2014).

Para detectar associações robustas e estatisticamente significativas entre os microrganismos e o ambiente que eles ocupam, é importante ter informação detalhada dos grupos detectados (BARBERÁN et al., 2012). Quando duas espécies co-ocorrem ou mostram padrões similares de abundância, é assumida uma relação positiva ou de co-ocorrência, como por exemplo, co-agregação de biofilmes, colonização do ambiente, entre outras. Em casos contrários, quando duas espécies

não ocorrem simultaneamente é assumida a existência de uma correlação negativa ou de co-exclusão, por exemplo, quando ocorre competição, relações predador-presa ou amensalismo. Porém, a relevância ecológica dessas relações não é fácil de prever (FAUST; RAES, 2012), o que é uma desvantagem desse tipo de análise. Uma das vantagens de se usar análises de co-ocorrência para avaliar interações entre micro-organismos em um ambiente específico é poder explicar como a abundância dos grupos de micro-organismos contribui para a estruturação e função da comunidade (LUPATINI et al., 2014), considerando que os grupos pouco abundantes ou raros poderiam participar significativamente dos processos do ambiente, tanto quanto os grupos dominantes (RAFRAFI et al., 2013). Além de prever relações individuais entre micro-organismos, as redes de interação ajudam a desvendar as associações microbiana ao nível de comunidade (FAUST; RAES, 2012).

Macro e micro-organismos são observados interagindo frequentemente com outros grupos de organismos, os quais são componentes importantes para manutenção da estabilidade de uma comunidade, e são chamados de táxons chaves (*“keystone”*) (LEWINSOHN; CAGNOLO, 2012; POCOCK et al., 2012). Táxons chaves formam padrões de co-ocorrência com outros táxons, e tem papel importante na estabilidade do microbioma, podendo ter efeitos regulatórios no ambiente e sobre outros membros do microbioma, além de afetar o desenvolvimento do hospedeiro (van der HEIJDEN; HARTMANN, 2016). Outros grupos microbianos que ocorrem associados a um hospedeiro e que são altamente conectados são chamados de *“hubs”*, devido a sua posição central em uma rede. As espécies *“hub”* são importantes para estruturar a comunidade microbiana em um hospedeiro, prevenir a invasão de patógenos assim como melhorar o sistema como um todo favorecendo a interação planta-microbioma. Alternativamente, espécies *“hubs”* podem ser patógenos, alterando o microbioma da planta de modo negativo (AGLER et al., 2016).

É importante considerar que grupos microbianos abundantes podem estar pobremente interconectados, assim como grupos raros podem estar altamente conectados e funcionarem como *“hubs”* (AGLER et al., 2016). Enquanto um táxon *“hub”* se caracteriza por ser um grupo altamente conectado em uma rede, um táxon chave não necessariamente é o grupo com o maior número de conexões. Mesmo assim, tanto táxons *“hub”* quanto chave desenvolvem diferentes papéis na

comunidade microbiana, podendo ser determinantes na estabilidade de um ecossistema (vander HEIJDEN; HARTMMANA, 2016) que ao serem removidos causam efeitos desestabilizadores, resultando na perda de biodiversidade e funcionalidade do ecossistema (STACHOWICZ, 2001).

2.4 Objetivo

- Explorar as interações entre as comunidades bacterianas da filosfera, dermosfera e solo sobre a projeção da copa da árvore de duas espécies arbóreas da Mata Atlântica ao longo de um gradiente altitudinal, usando análises de co-ocorrência, a partir dos dados obtidos por pirosequenciamento da região V4 do gene rRNA 16S, para observar padrões de associações em diferentes níveis taxonômicos em cada microambiente.

2.4.1 Objetivos Específicos

- Caracterizar as estruturas das redes de co-ocorrência de bactérias na filosfera, dermosfera e solo rizosferico coletado sobre a projeção da copa de duas espécies arbóreas da Mata Atlântica em um gradiente altitudinal.
- Identificar táxons bacterianos chaves e/ou altamente conectados na filosfera, dermosfera e solo rizosferico coletado sobre a projeção da copa de duas espécies arbóreas ao longo de um gradiente altitudinal, com base em redes de co-ocorrência.

2.5 Metodologia

2.5.1 Áreas de estudo

O estudo foi realizado com comunidades bacterianas amostradas no Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleos Picinguaba e Santa Virginia, litoral norte do Estado de São Paulo (Figura 1), nos municípios de Ubatuba e São Luiz de Paraitinga, respectivamente. Parcelas permanentes de 1 ha, sub-divididas em sub-parcelas de 10 x 10 metros (Anexos A1-A3), foram instaladas previamente como parte do projeto temático “Composição florística, estrutura e funcionamento da Floresta Ombrofila Densa dos Núcleos Picinguaba e Santa Virginia do Parque

Estadual da Serra do Mar, do programa BIOTA-FAPESP, coordenado por Carlos Alfredo Joly (Unicamp) e Luiz Antonio Martinelli (CENA-USP). As áreas experimentais foram: Restinga (Núcleo Picinguaba, parcela A, 9-10 m de altitude de altitude), Floresta Ombrófila Densa de Terras Baixas (Núcleo Picinguaba, parcela E, 43-69 m de altitude) e Floresta Ombrófila Densa Montana (Núcleo Santa Virgínia, parcela N, 1010-1040 m de altitude) (Tabela 1).

Entre as espécies vegetais mais abundantes ao longo do gradiente altitudinal estudado destacam-se *Euterpe edulis* e *Guapira opposita* (JOLY et al., 2012). *Euterpe edulis* (Mart.) (Arecaceae), ou palmito juçara, é uma planta que se encontra em ambientes com baixa ou alta disponibilidade de nutrientes no solo (ZANELATO, 2010), solos alagados ou com alta umidade (MATOS; WATKINSON, 1998), e caracteriza-se por ter um número alto de epífitas associadas, elevada área foliar (MANIA; MONTEIRO, 2010) e está presente em diferentes altitudes da Mata Atlântica, desde o nível do mar (Restinga), até 1000 m (Montana) (JOLY et al., 2012). *Guapira opposita* (Vell.) Reitz (Nigtinaceae), conhecida como louro branco, ocorre em ambientes que sofrem a influência da costa, podendo apresentar variações na forma e tamanho da folha dependendo da luminosidade na qual se encontra (RE-JORGE, 2010), já que uma característica importante de *G. opposita* é crescer em locais iluminados e sombreados (SANTOS et al., 2010).

Figura 1 - Localização dos Núcleos Picinguaba (parcelas A e E) e Santa Virgínia (parcela N) do Parque Estadual da Serra do Mar, no Estado de São Paulo. Fonte: Joly et al. (2012)

2.5.2 Amostragem

Amostras de folhas (filosfera), casca (dermosfera) e solo rizosférico sobre a projeção da copa das árvores foram coletadas de duas espécies arbóreas, *Euterpe edulis* e *Guapira opposita*, nas três parcelas permanentes. Foram amostrados entre 8 e 10 indivíduos por espécie arbórea, em janeiro e outubro de 2010, representando períodos alternados de alta e baixa pluviosidade, respectivamente.

Amostras de folhas maduras foram coletadas usando podão para cortar os ramos, posteriormente as folhas foram removidas dos ramos com auxílio de uma tesoura previamente desinfestada e usando luvas. No caso da dermosfera, as amostras foram coletadas removendo-se o material biológico associado à casca de uma área de 5 x 25 cm, aproximadamente a 1 m da superfície do solo usando uma faca previamente desinfestada. Amostras de solo rizosférico foram coletadas na camada de 0 a 10 cm de profundidade sob a copa da árvore, usando um tubo plástico. As amostras de folha, casca e solo foram armazenadas em sacos plásticos e mantidas em gelo para posterior desalojamento das células microbianas e/ou extração de DNA. Aproximadamente 10 a 12 folhas ou amostras de casca foram colocadas em um Becker de 500 ml com solução de lavagem (tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 7,0). As células microbianas foram desalojadas das superfícies das folhas e casca usando-se um disruptor ultrassônico (Misonix Inc., Atlantic Beach, NY) por 10 minutos a 22,5 kHz. A suspensão contendo as células microbianas foi filtrada através de membranas de nitrocelulose de 47 mm de diâmetro e 0,22 µm de porosidade (Merck Millipore, Darmstadt, Germany), usando um sistema de filtração à vácuo. As membranas foram armazenadas a -20 °C até processamento para extração de DNA.

Tabela 1 - Dados de localização, fitofisionomia e tipo de solo das 3 parcelas permanentes de 1 ha estabelecidas nos Núcleos Picinguaba e Santa Virgínia do Parque Estadual da Serra do Mar

Parcela	Fitofisionomia	Coordenadas	Altitude	Solo
A	Floresta de Restinga	23°21'22"S 44°51'03"O	9-10 m	Neossolo Quartzarênico
E	Floresta Ombrófila de Terras Baixas	23°20'05"S 44°49'55"O	43-69 m	Cambisoló háplico distrófico
N	Floresta Ombrófila Densa Montana	23°24'S 45°03'O	1010-1040 m	Cambisoló háplico distrófico

2.5.3 Extração de DNA e Amplificação do Gene rRNA 16S para Pirosequenciamento

DNA total do solo foi extraído de 0,25 g de cada amostra utilizando-se o kit Power Soil DNA (MoBio Laboratories, Carlsbad, CA), de acordo com as instruções do fabricante. Os 0,25 g de solo foram adicionados nos microtubos (PowerBead Tube) contendo uma solução tampão que contribui na dispersão das partículas do solo. Posteriormente, foi realizada uma agitação mecânica e foram adicionados 60 µl da solução C1 (SDS). Os tubos foram invertidos por alguns minutos e agitados de forma horizontal por 10 minutos a velocidade máxima e depois centrifugados por 30 segundos a 10.000 g. 500 µl do sobrenadante foram transferidos para um microtubo novo de 2ml. Na etapa seguinte foram adicionados 250 µl da solução C2, os tubos foram agitados por 5 segundos e depois incubados por 5 minutos a 4°C. Depois de centrifugar por 1 minuto a 10.000 g, 600 µl de sobrenadante, evitando o pélete, foram transferidos para um microtubo novo, e foram adicionados 200 µl da solução C3. Os microtubos foram agitados por 5 segundos e depois incubados por 5 minutos a 4°C. Depois de centrifugar por 1 minuto a 10.000 g, 750 µl de sobrenadante, evitando o pélete, foram transferidos para um microtubo novo de 2 ml. 1.200 µl da solução C4 (previamente misturada) foram adicionados ao microtubos que foram agitados por 5 minutos. 675 µl foram transferidos para um “Spinfilter” e centrifugados por 1 minuto a 10.000 g. Esse procedimento foi feito mais duas vezes. Posteriormente, foram adicionados 500 µl da solução C5, uma solução de lavagem para limpar o DNA, e centrifugou-se por 30 segundos a 10.000 g. O líquido foi descartado e foi feita mais uma centrifugação por 1 minuto a 10.000 g. O “Spinfilter” foi colocado cuidadosamente em um microtubo novo de 2 ml. 100 µl da solução C6 foi adicionada no centro do “spinfilter” e posteriormente, os microtubos foram centrifugados por 30 segundos a 10.000 g. A solução contendo o DNA total foi armazenada a -20 °C.

O DNA total da superfície das folhas e da casca foi extraído a partir da células bacterianas retidas nas membranas millipore, usando o kit Fast DNA spin filter (MP Biomedicals, Solon, USA), conforme as instruções do fabricante. As membranas com as células bacterianas foram colocadas nos microtubos de lise contendo grãos de sílica e 2 esferas de cerâmica. Posteriormente foi adicionado 1 ml da solução de lise para bactérias (CLS-TC) a cada microtubo que foi agitado em um

homogenizador Fast Prep FP 120, por 40 segundos a 4 m.s^{-1} . Depois de centrifugar a 13.000 g por 5 minutos, $600 \mu\text{l}$ do sobrenadante foram transferidos para um tubo limpo de $1,5 \text{ ml}$ e foram adicionados $600 \mu\text{l}$ da solução com a matriz de ligação ("Binding Matrix") previamente misturada, e os tubos agitados por inversão durante 5 minutos. Cada tubo foi centrifugado por 1 minuto a 13.000 g e o sobrenadante foi descartado. O pélete foi resuspenso em $500 \mu\text{l}$ de solução de lavagem ("Sews"). Essa suspensão foi transferida para um filtro ("catch tube") acoplado a um microtubo, e centrifugada duas vezes por 2 minutos a 13.000 g . Os tubos ficaram abertos por 5 minutos para evaporação do etanol. Finalmente, para eluir o DNA da matriz de ligação contida no filtro foram adicionados $80 \mu\text{l}$ da solução "DES", e depois de três minutos de incubação e um minuto de centrifugação a 13.000 g , a solução contendo DNA foi armazenada a -20°C .

A integridade do DNA foi determinada por eletroforese em gel de agarose 1% em tampão TAE 1x (Tris, ácido acético e EDTA) e depois corado com SYBR Green (Life Technologies, São Paulo, Brasil). A aquisição da imagem dos géis fez-se utilizando um densitômetro Storm (GE Healthcare, São Paulo Brasil). As imagens foram analisadas pelo programa Image Quant TL (GE Healthcare, São Paulo, Brasil). A quantidade e pureza do DNA foram determinadas por espectrofotometria UV usando um Nanodrop (Laboratório de Biologia Celular e Molecular Cena/USP).

A partir do DNA total, foi amplificado um fragmento de 270-300 pb da região V4 do gene rRNA 16S de Bacteria. Na reação de PCR foi usado o primer forward 520F (5'-AYTGGGYDTAAAGNG-3') provido de um adaptador para pirosequenciamento. O primer forward recebeu também uma sequência barcode de 8 pares de bases. No total foram usados 12 barcodes de forma repetitiva para identificação das 134 amostras sequenciadas. Na mesma reação usou-se uma mistura de 4 primers reversos 820R-1 (5'-TACCRGGGTHCTAATCC-3'), 820R-2 (5'-TACCAGAGTATCTAATTC-3'), 820R-3 (5'-CTACDSRGGTMTCTAATC-3'), 820R-4 (5'-TACNVGGGTATCTAATCC-3') (JESUS et al., 2010). A reação de PCR foi realizada em solução contendo: $5 \mu\text{L}$ de solução tampão para PCR 1X; MgCl_2 $2,5 \text{ mM}$, dNTP $2,5 \text{ mM}$, 3U de Taq DNA polimerase High-Fidelity (Invitrogen, São Paulo, BR), 10 pmol de cada primer, e entre 5 e 15 ng de DNA total, água ultra pura esterilizada para um volume final de $50 \mu\text{L}$.

Em um termociclador (Mastercycler Gradient, Eppendorf do Brasil, São Paulo, BR) realizou-se a amplificação dos fragmentos do gene rRNA 16s nas

seguintes condições: desnaturação inicial durante 3 minutos a 95°C, 30 ciclos de desnaturação a 95°C por 45 segundos, pareamento à 57°C por 1 minuto e 45 segundos, extensão a 72°C durante 4 minutos, e extensão final à 72°C durante 4 minutos. Os produtos de PCR (amplicons) foram analisados por eletroforese em gel de agarose 1%.

Os amplicons do gene rRNA 16S foram sequenciados pela empresa *Helixxa* (Campinas, São Paulo, Brasil), onde foram purificados (beads AMPure-Agencourt), quantificados (Picogreen, Invitrogen) e sequenciados em pirosequenciador GS FLX Titatium (Roche 454 GS-FLX System).

2.5.4 Análises das Sequências do Gene rRNA 16S

As sequências geradas das amostras de filosfera, dermosfera e solo rizosferico de sobre a projeção da copa da árvore, a partir do pirosequenciamento da região V4 do gene rRNA 16S (270-300 pb), foram processadas no software MOTHUR v. 1.32.2 (SCHOLSS et al., 2009). As sequências foram processadas para remover bases de baixa qualidade, barcodes e sequências com menos de 120 bp. Sequências representativas foram alinhadas usando o algoritmo NAST, contra a base de dados de bactéria do GreenGenes 16S rRNA v. 13.8 (CARPORASO et al., 2010). As sequências quiméricas foram identificadas e removidas usando o comando “chimera_uchime” do MOTHUR, e posteriormente excluídas do conjunto de dados. O agrupamento em unidades taxonômicas operacionais (UTOs) foi feito considerando-se 97% de similaridade entre as sequências. Afiliações taxonômicas foram feitas usando-se a base de dados de bactérias do GreenGenes 16S rRNA v. 13.8 (CARPORASO et al., 2010), e o algoritmo Naive Bayesian (WANG et al., 2007). Sequências afiliadas a cloroplasto e mitocôndria foram excluídas do conjunto de dados, assim como singletons globais (sequências que só ocorreram uma única vez no conjunto de dados). Depois de normalizados os dados, a riqueza de UTOs foi estimada usando-se o estimador não-paramétrico Chao1, e a alfa diversidade determinada através dos índices de diversidade de Shannon e o recíproco de Simpson, usando MOTHUR.

2.5.5 Análises Estatísticas

Diferenças na abundância relativa de táxons bacterianos ao longo do gradiente foram determinadas através da análise não-paramétrica de Kruskal Wallis, com correção de Benjamin-Hochberg. Para determinar diferenças estatísticas na abundância relativa de táxons bacterianos individuais entre espécies arbóreas, dentro do mesmo tipo de floresta, foi feito o teste não-paramétrico de White, com correção de Benjamin-Hochberg. Em ambos os casos foi usado o programa Statistical Analysis of Metagenomic Profiles (STAMP, PARKS et al., 2010).

As comunidades bacterianas associadas a cada compartimento e em cada espécie arbórea, ao longo do gradiente altitudinal, foram comparadas através de análises de coordenadas principais (PCoA), usando-se weighted UniFrac, a partir de uma matriz de distâncias filogenéticas entre as OTUs detectadas, no programa MOTHUR.

2.5.6 Análises de Redes de Co-ocorrência

Os padrões de co-ocorrência nas comunidades bacterianas da filosfera, dermosfera e solo coletado sobre a projeção da copa da árvore foram avaliados utilizando-se todas as sequências válidas através do programa Cytoscape v. 3.3.0, com o pacote CoNet. Para os níveis taxonômicos de filo, classe e gênero, as matrizes de abundância de UTOs geradas a partir do arquivo BIOM foram usadas como dados de entrada, seguido-se o protocolo disponibilizado no site do CoNet (<http://psbweb05.psb.ugent.be/conet/microbialnetworks/conet.php>). Foram definidas quatro medidas de similaridade (correlação de Sperman e Pearson, distância de Bray-Curtis e Kullbac-Kleiber) e 100 permutações. Foram geradas redes de co-ocorrência de UTOs para cada compartimento, por espécie arbórea, no nível de filo, classe e gênero. Para avaliar as redes foram considerados os seguintes parâmetros: número de nós ou grau que mensura o número de nós em uma rede; tipo de conexão, se é de co-ocorrência ou co-exclusão, e centralidade de intermediação que permite analisar quão vital é um nó na rede, seus valores variam entre 0 (menor relevância na rede) e 1 (maior relevância na rede).

2.6 Resultados e Discussão

2.6.1 Comunidade Microbiana Associada à Filosfera, Dermosfera e Solo Rizosférico Coletado sobre a Projeção da Copa da Árvore

A Mata Atlântica é um bioma que alberga uma alta diversidade de micro-organismos, como reportado anteriormente (ROMAGNOLI, 2011; MONTENEGRO, 2012; LAMBAIS et al 2014, LIMA et al 2015). No entanto, tem sido observado que cada micro-ambiente de espécies arbóreas da Mata Atlântica é colonizado por uma comunidade bacteriana distinta, dominada por alguns grupos taxonômicos específicos (LAMBAIS et al., 2014).

A partir do pirosequenciamento da região V4 do gene rRNA 16S, para acessar a comunidade microbiana associada à filosfera, dermosfera e solo rizosférico coletado sobre a projeção da copa de *E. edulis* e *G. opposita* ao longo de um gradiente altitudinal, foram obtidas 619.646 sequências válidas, sendo 210.051 da filosfera, 184.438 da dermosfera e 225.157 do solo rizosférico. Depois da afiliação taxonômica, foram obtidas 162.039, 138.676 e 176.910 sequências do domínio Bacteria, da filosfera, dermosfera e solo rizosférico, respectivamente.

As abundâncias relativas dos filos do domínio Bacteria nos três compartimentos, de cada espécie arbórea, estão apresentadas nas Figuras 2, 3 e 4. Foram detectados 33 filos na filosfera (incluindo um grupo de sequências não-classificadas), 43 filos na dermosfera e 39 filos no solo rizosférico. Desses filos, 31 foram comuns aos três compartimentos. O filo candidato SC4 foi detectado somente na filosfera. Os filos Dictyoglomi e os filos candidatos Poribacteria, Kazan-3B-28, NPL-UPA2 e OP1 foram detectados somente na dermosfera. Os filos candidatos KSB3, NKB19 e WS3 foram detectados somente na rizosfera. O filo candidato Poribacteria, detectado somente na dermosfera, tem sido reportado também em solo contaminado com arsénico (LUO et al., 2014) mas, membros desse grupo são quase exclusivos de esponjas marinhas e tem capacidade de fixar carbonovia acetil coenzima A (KAMKE et al., 2014).

Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria e Bacteroidetes representaram 94,23%, 91,62% e 91,74% das sequências totais da filosfera, dermosfera e solo rizosférico coletado sobre a projeção da copa das árvores, respectivamente. Aproximadamente 1,30%, 1,15% e 1,44% das sequências da filosfera, dermosfera e

solo sobre a projeção da copa das árvores, respectivamente, não apresentaram similares nos bancos de dados públicos e não foram classificadas. No filo Proteobacteria, a classe Gammaproteobacteria foi dominante em todos os microambientes. O filo Nitrospirae só foi encontrado associado com *E. edulis* na floresta de terras baixas. O filo Armatimonadetes foi encontrado somente na floresta de restinga associado às duas espécies arbóreas.

No nível de filo, Actinobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes e Proteobacteria, incluindo as classes Gammaproteobacteria e Alphaproteobacteria, têm sido reportados como dominantes na filosfera de diferentes espécies arbóreas, incluindo espécies da Mata Atlântica (ANDRADE, 2007; MONTENEGRO 2012; LAMBAIS et al., 2014; KEMBEL et al., 2015), assim como na filosfera de plantas agrícolas (REDFORD et al., 2010; VORHOLT, 2012; BULGARELLI et al., 2013; REMUS-ENSERMANN e VORHOLT, 2014; COPELAND et al., 2015). Na rizosfera, Actinobacteria, Firmicutes e Proteobacteria têm sido reportados como grupos dominantes (BRUCE et al., 2010; MENDES et al., 2014), e em menor abundância, Planctomycetes e Verrucomicrobia, quando comparados com os filos anteriormente mencionados (PEREIRA et al., 2006).

As sequências foram agrupadas em UTOs considerando-se 97% de similaridade como critério para definição de UTO, resultando em 4.788, 5.451 e 4.914 UTOs para a filosfera, dermosfera e solo rizosférico coletado sobre a copa da árvore, respectivamente, com uma cobertura de amostragem acima de 94% (Tabela 2).

A riqueza e diversidade de OTUs nos diferentes ambientes, ao longo do gradiente altitudinal, foi avaliada pelo estimador de riqueza não-paramétrico Chao1 e os índices de diversidade de Shannon e o recíproco de Simpson, respectivamente (Tabela 2). No geral, na filosfera de *G. opposita* e *E. edulis*, a riqueza de UTOs foi significativamente menor na floresta de terras baixas, quando comparada com a restinga e floresta montana. A diversidade da comunidade bacteriana na filosfera, determinada pelo índice de Shannon, foi estatisticamente maior em *G. opposita* na floresta de restinga, quando comparada com as florestas de terras baixas e montana, e *E. edulis* em todas as florestas (Tabela 2). O mesmo foi observado para o recíproco do índice de Simpson. Além disso, a diversidade da comunidade bacteriana na filosfera de cada espécie de planta foi estatisticamente diferente em um mesmo tipo de floresta (Tabela 2). Para visualizar as similaridades nas estruturas

das comunidades bacterianas ao longo do gradiente altitudinal foi usada a análise de coordenadas principais (PCoA), com base nos valores de weighted Unifrac. Na Figura 5 pode-se observar que as comunidades bacterianas associadas à filosfera de *E. edulis* e *G. opposita* na floresta de terras baixas são mais similares entre si do que em relação à mesma espécie arbórea nas outras duas florestas. Por outro lado, a comunidade bacteriana associada à filosfera de *G. opposita* na floresta de restinga foi mais similar à comunidade bacteriana associada à mesma espécie arbórea na floresta montana (Figura 5). Esses dados mostram que existe um efeito do tipo de floresta na estrutura da comunidade bacteriana das plantas estudadas, e que esse efeito é mais pronunciado em *E. edulis*. Nas três florestas estudadas, foram detectadas 623 UTOs compartilhadas entre as filosferas de *E. edulis*, enquanto 734 UTOs foram compartilhados entre as filosferas de *G. opposita* (Anexo C).

Aproximadamente 46% das UTOs detectadas na filosfera de *E. edulis* e *G. opposita* neste estudo foram afiliadas ao filo Proteobacteria, sendo 23,79% afiliadas à classe Gammaproteobacteria e 13,37% à classe Alphaproteobacteria, do total de UTOs da filosfera. Aproximadamente 19% das UTOs da filosfera das duas espécies de plantas estudadas foram afiliadas ao filo Firmicutes, 13% ao filo Actinobacteria e 9% ao filo Bacteroidetes. De uma maneira geral, ao longo do gradiente altitudinal, foi observado que Gammaproteobacteria foi mais abundante do que Alphaproteobacteria, com exceção de *G. opposita* na floresta de Restinga, sugerindo que a ocorrência desses grupos de bactérias é generalizada na filosferas da Mata Atlântica.

As UTOs mais abundantes associadas à filosfera de *E. edulis* e *G. opposita*, ao longo do gradiente altitudinal, foram afiliadas aos gêneros *Thioalkalivibrio* (Gammaproteobacteria; abundância relativa de 7,75%) e *Halomonas* (Gammaproteobacteria, abundância relativa de 7,34%). Na filosfera, *Thioalkalivibrio* foi detectada com abundância relativa de 1,60% em *E. edulis* e 0,66% em *G. opposita* na restinga, 1,36% em *E. edulis* e 1,08% em *G. opposita* na área de floresta de terras baixas, e 2,29% em *E. edulis* e 0,75% em *G. opposita* na área de floresta montana. *Thioalkalivibrio* são bactérias oxidantes do enxofre normalmente encontradas em ambientes altamente alcalinos, como a camada de sedimentos de lagos hipersalinos (SOROKIN et al., 2011). *Halomonas* representou 0,28% em *E. edulis* e 1,08% em *G. opposita* na restinga, 2,29% em *E. edulis* e 2,01% em *G. opposita* na área de floresta de terras baixas, e 0,97% em *E. edulis* e 0,62% em *G.*

opposita na área de floresta montana. Bactérias do gênero *Halomonas* têm sido detectadas em alta abundância na filosfera de *Tamarix* da região do Mediterrâneo, uma planta que caracteriza-se por crescer em desertos e secretar sal pela folha (FINKEL et al., 2011). A maioria das espécies do gênero *Halomonas* são móveis (FINKEL et al., 2011) e usam fontes de carbono como glicerol e trehalose para seu crescimento (MATA et al., 2002). *Halomonas* são encontradas também na superfície e na profundidade de colunas de água nos oceanos e em respiradouros hidrotermais de baixa temperatura (KAYE et al., 2004). A habilidade que algumas bactérias da filosfera têm para crescer usando diferentes fontes de carbono, assim como de se movimentar pela superfície das folhas à procura de nutrientes, faz com que elas sejam altamente adaptadas a esse ambiente (REMUS-ENSERMANN e VORHOLT, 2014). A alta umidade do ar e a salinidade das folhas parecem ser os fatores determinantes para o desenvolvimento de *Halomonas* na filosfera de *Tamarix* (FINKEL et al., 2011; BURCH et al., 2013). Da mesma forma, a alta umidade do ar nas florestas da Mata Atlântica poderia favorecer o crescimento de *Halomonas*, muito embora não se saiba o nível de salinidade nas folhas das árvores da Mata Atlântica, o qual pode ser influenciado por partículas em suspensão no ar vindo do mar. Em contraste, o gênero mais abundante nas filosferas de *Ocotea dispersa*, *Ocotea teleiandra*, *Mollinedia schottiana*, *Mollinedia uleana*, *Eugenia cuprea*, *Eugenia melanogyna* e *Tabebuia serratifolia* em uma floresta da Mata Atlântica de outra localidade foi *Pseudomonas* (LAMBAIS et al., 2014).

Na comunidade bacteriana associada à filosfera de *E. edulis*, os gêneros *Clostridium* (Firmicutes), *Colwellia* (Gammaproteobacteria), *Virgibacillus* (Firmicutes) e *Entomoplasma* (Tenericutes) apresentaram diferenças significativas nas abundâncias relativas ao longo do gradiente altitudinal ($p < 0,05$, teste de Kruskal-Wallis-Anexo D1). O gênero *Clostridium* (Firmicutes) foi significativamente mais abundante na floresta de restinga, quando comparado com os outros dois tipos de florestas ($p = 0,017$, Anexo E). *Clostridium* ocorre em vários ambientes, inclusive marinhos, e caracteriza-se por ser anaeróbico obrigatório (CAPONE, 1988). Na filosfera de *G. opposita*, os gêneros *Mycoplasma* (Tenericutes), *Orchrobactrum* (Alphaproteobacteria), *Parvopolyspora* (Actinobacteria), *Rhodospira* (Alphaproteobacteria) e o grupo candidato magnetite-containing (Alphaproteobacteria) apresentaram abundâncias relativas significativamente diferentes ao longo do gradiente altitudinal ($p < 0,05$, Anexo D1).

Figura 2 - Composição da comunidade bacteriana associada à filosfera de *E. edulis* e *G. opposita* na Mata Atlântica.

Figura 3 - Composição da comunidade bacteriana associada à dermosfera das espécies arbóreas *E. edulis* e *G. opposita* na Mata Atlântica

Figura 4 - Composição da comunidade bacteriana associada ao solo rizosférico coletado sobre a projeção da copa das espécies arbóreas *E. edulis* e *G. opposita* na Atlântica

Tabela 2 - Estimativas de riqueza taxonômica e diversidade de UTOs da comunidade bacteriana associada à filosfera, dermosfera e solo rizosferico coletado sobre a projeção da copa de *E. edulis* e *G. opposita*, ao longo do gradiente altitudinal

Estimador de Riqueza						
			Índices de Diversidade			
Ambiente	N seqs	N UTOs	Chao	Shannon	1/D	Amostragem
Filosfera	E. edulis					
Floresta Restinga	22428	2000	2886 (2742;3059)	5,28 (5,25;5,31)	34,21 (32,87;35,66)	0,96
Floresta Terras baixas	22428	1714	2483 (2349;2646)	5,16 (5,13;5,18)	45,72 (44,20;47,34)	0,97
Floresta Montana	22428	1987	3046 (2878;3243)	4,83 (4,80;4,87)	25,17 (24,42;25,98)	0,96
	G. opposita					
Floresta Restinga	22428	2376	3063 (2952;3194)	6,01 (5,98;6,04)	103,95 (100,40;107,76)	0,96
Floresta Terras baixas	22428	1901	2670 (2540;2827)	5,36 (5,33;5,39)	58,49 (56,78;60,31)	0,97
Floresta Montana	22428	2202	3194 (3041;3374)	5,20 (5,16;5,23)	33,64 (32,48;)34,89	0,96
Dermosfera	E. edulis					
Floresta Restinga	17727	2110	2968 (2831;3130)	5,48 (5,44;5,51)	45,73 (44,19;47,38)	0,95
Floresta Terras baixas	17727	2267	3264 (3112;3444)	5,76 (5,72;5,79)	56,27 (53,88;58,89)	0,94
Floresta Montana	17727	2145	3007 (2870;3169)	5,70 (5,66;5,73)	58,85 (56,52;61,39)	0,95
	G. opposita					
Floresta Restinga	17727	1798	2345 (2246;2467)	5,65 (5,62;5,69)	59,73 (57,17;62,53)	0,96
Floresta Terras baixas	17727	2388	3253 (3120;3410)	5,91 (5,88;5,95)	55,32 (52,80;58,09)	0,95
Floresta Montana	17727	2131	2995 (2858;3158)	5,76 (5,73;5,80)	64,69 (62,07;67,54)	0,95
Solo	E. edulis					
Floresta Restinga	23155	2038	2889 (2750;3055)	5,61 (5,58;5,64)	72,98 (70,52;75,61)	0,96
Floresta Terras baixas	23155	2167	3165 (3010;3349)	5,73 (5,70;5,76)	94,09 (91,22;97,15)	0,96
Floresta Montana	23155	2253	3263 (3105;3450)	5,95 (5,93;5,98)	110,97 (106,92;115,34)	0,96
	G. opposita					
Floresta Restinga	23155	1839	2595 (2463;2755)	5,53 (5,50;5,56)	71,97 (69,55;74,56)	0,97
Floresta Terras baixas	23155	2151	3056 (2913;3226)	5,78 (5,75;5,80)	105,13 (102,04;108,40)	0,96
Floresta de Montana	23155	2225	2969 (2849;3113)	5,98 (5,96;6,00)	120,65 (116,51;125,10)	0,96

Valores entre parêntesis representam intervalos de confiança a 95%. Os dados foram normalizados por microambiente. Foi usado o programa MOTHUR para realizar as análises. Nseqs=número de sequências válidas, Sobs=número de UTO, 1/D=Recíproca de Simpson

Comparando-se a abundância relativa de gêneros bacterianos entre as duas espécies arbóreas na mesma área, observou-se que *Clostridium* ($p=0,017$) e *Nonomuraea* (Actinobacteria, $p=0,0058$) foram significativamente mais abundantes na filosfera de *E. edulis* do que de *G. opposita* na floresta de restinga. Na floresta de terras baixas, a abundância relativa de 34 gêneros foi significativamente diferente entre a filosfera das duas espécies arbóreas avaliadas ($p<0,05$, Anexo F1). Os gêneros *Duganella* (Betaproteobacteria, $p=0,045$), *Enterobacter* (Gammaproteobacteria, $p=0,044$) e *Ochrobactrum* (Alphaproteobacteria, $p=0,023$) foram significativamente mais abundantes na filosfera de *E. edulis* do que de *G. opposita*. Os demais gêneros foram detectados somente na filosfera de *E. edulis*. Já na floresta de montana, 14 gêneros associados à filosfera das duas espécies arbóreas foram significativamente diferentes, no entanto, o gênero *Spirulina* (Cyanobacteria, $p=0,021$) foi significativamente mais abundante na filosfera de *E. edulis* do que de *G. opposita*. Os demais gêneros foram detectados somente na filosfera de *E. edulis*.

Na dermosfera, com base no estimador de riqueza não-paramétrico Chao1, com 95% de confiança, a maior riqueza de UTOs foi observada em *E. edulis* na floresta montana (Tabela 2). A riqueza de UTOs na dermosfera de *E. edulis* não apresentou diferenças significativas nas três áreas estudadas. Já na comunidade bacteriana associada à dermosfera de *G. opposita*, a riqueza de UTOs na floresta de restinga foi significativamente menor do que nas florestas de terras baixas e montana (Tabela 2). O índice de Shannon da comunidade bacteriana associada à dermosfera de *G. opposita* na floresta de terras baixas foi significativamente maior do que nas florestas montana e restinga, e em *E. edulis* em todas as florestas (Tabela 2). A recíproca do índice de Simpson da comunidade bacteriana associada à dermosfera de *G. opposita* na floresta montana foi estatisticamente maior do que na floresta de terras baixas, e do que em *E. edulis* em todas as florestas, com exceção da mesma espécie arbórea na floresta de restinga. Por outro lado, a comunidade bacteriana associada à dermosfera de *E. edulis* na floresta de restinga apresentou a menor diversidade. Na dermosfera, a análise de PCoA weighted Unifrac mostrou que as estruturas das comunidades bacterianas são muito similares entre si, independente das espécies de planta ou tipo de floresta (Figura 6). Adicionalmente, as coordenadas principais PCo1 e PCo2 explicam somente 6,2% da variabilidade dos dados, sugerindo que outros fatores podem estar influenciando a

estruturação dessas comunidades. Na dermosfera de *E. edulis* e *G. opposita* foram detectadas 727 e 641 UTOs compartilhadas, respectivamente, considerando-se as três florestas no gradiente altitudinal (Anexo C).

Das 5.451 UTOs detectadas na dermosfera, aproximadamente 47% foram afiliadas ao filo Proteobacteria, sendo 26% das UTOs deste filo afiliadas à classe Gammaproteobacteria e 14% à classe Alphaproteobacteria, do total de UTOs da dermosfera. Aproximadamente 17% das UTOs foram afiliadas ao filo Firmicutes, 13% ao filo Actinobacteria e 9% ao filo Bacteroidetes. Avaliando a comunidade bacteriana associada à parte superior e inferior da dermosfera em árvores de *Ginkgo biloba*, Leff e colaboradores (2015) encontraram que Proteobacteria e Acidobacteria foram mais abundantes na parte superior do tronco, enquanto na parte inferior a abundância desses dois grupos diminuía, aumentando a abundância de Actinobacteria.

Poucos estudos têm avaliado as estruturas das comunidades microbianas da dermosfera (MARTINS et al., 2013; LAMBAIS et al., 2014; LEFF et al., 2015), mas tem sido observado que essa superfície das plantas abriga uma grande diversidade bacteriana, a qual difere da rizosfera, filosfera e endosfera. Neste estudo, na dermosfera de *E. edulis* e *G. opposita*, a UTO mais abundante, representando 6,66% das sequênciastotais da dermosfera, foi afiliada ao gênero *Halomonas* (Gammaproteobacteria), o qual também foi um dos mais abundantes na filosfera. Na área de Restinga, *Halomonas* representou 1,04% e 1,16% das sequências da dermosfera de *E. edulis* e *G. opposita*, respectivamente. Na área de floresta de terras baixas, *Halomonas* representou 0,98% e 1,57% das sequências da dermosfera de *E. edulis* e *G. opposita*, respectivamente. Já, na área de floresta montana, *Halomonas* representou 0,84% e 1,08% das sequências da dermosfera de *E. edulis* e *G. opposita*, respectivamente. Embora *Halomonas* tenha sido o gênero bacteriano mais abundante nas dermosferas, de uma maneira geral, na dermosfera de *E. edulis* na floresta de restinga e floresta montana, e na dermosfera de *G. opposita* na floresta de terras baixas, a UTO mais abundante foi afiliada ao gênero *Gordonia* (Gammaproteobacteria), representando 1,29%, 1,57% e 1,28% das sequências, respectivamente. O gênero *Gordonia* tem sido isolado do solo e da rizosfera de manguezais e de solo contaminado com hidrocarbonetos, e é uma bactéria associada com a degradação de xenobióticos no solo (ARENSKOTTER et al., 2004).

Martins e colaboradores (2013) encontraram em videiras, em sistemas agrícolas, que 55% dos gêneros de bactérias identificados eram comuns à casca e ao solo, quando comparados com a filosfera e os frutos. No entanto, na Mata Atlântica, foi observado que a comunidade bacteriana da filosfera e da dermosfera são mais similares entre si do que com a comunidade bacteriana do solo rizosférico, e que a espécie de planta é um fator determinante na estruturação da comunidade de bactérias na dermosfera (LAMBAIS et al., 2014). Esses dados sugerem que dependendo do ambiente (agrícola ou natural) as comunidades bacterianas da dermosfera podem abrigar espécies comuns no solo ou na superfície das folhas. A presença de líquens e briófitas associados à casca das árvores oferece uma infinidade de habitats para comunidade bacteriana da dermosfera, já que proporcionam um ambiente hidratado e rico em nutrientes orgânicos e inorgânicos (PALMQUIST, 2000; ANDERSON, 2014).

No solo rizosférico coletado sobre a projeção, a riqueza de UTOs foi maior em *E. edulis* na floresta montana, em relação à restinga. Segundo o índice de Shannon, a diversidade da comunidade bacteriana associada à rizosfera de *E. edulis* e *G. opposita* na floresta montana foi significativamente maior do que nas outras florestas (Tabela 2). No solo, as estruturas das comunidades bacterianas das duas espécies vegetais, avaliadas através do PCoA weighted Unifrac, são distintas, mas são mais similares entre si em uma mesma floresta, do que em relação às outras florestas (Figura 7), muito embora as coordenadas principais PCo1 e PCo2 explicam somente 6,7% da variabilidade dos dados. Esses dados indicam que características intrínsecas de cada área, como tipo de solo, temperatura, umidade e salinidade, por exemplo, além espécie de planta, poderiam estar controlando a estruturação da comunidade bacteriana da rizosfera. Os solos sob os três tipos de floresta são diferentes entre si e estão sob florestas com fisionomias diferentes (Tabela 1). No solo foram detectadas 725 UTOs compartilhados de *E. edulis*, enquanto no solo de *G. opposita* foram detectadas 692 UTOs compartilhadas, considerando-se as três florestas no gradiente altitudinal (Anexo C).

Dos 4.914 OTUs detectadas no solo rizosférico coletado sobre a sobre a projeção da copa da árvore, aproximadamente 48% foram afiliadas ao filo Proteobacteria, sendo 24,64% das UTOs afiliadas à classe Gammaproteobacteria e 12,92 % à classe Alphaproteobacteria, do total de UTOs da rizosfera. Aproximadamente 18% das UTOs foram afiliadas ao filo Firmicutes, 12% ao filo

Actinobacteria e 8% ao filo Bacteroidetes. O filo Proteobacteria já foi reportado como o mais representativo no solo sob floresta de restinga em Ubatuba, e sob floresta ombrófila densa de terras baixas e montana (LIMA, 2011; ROMAGNOLI, 2011), sugerindo que é um grupo dominante entre os diferentes tipos de bactérias do solo da Mata Atlântica. Juntamente com o filo Proteobacteria, os filos Actinobacteria, Bacteroidetes e Firmicutes têm sido reportados como dominantes no solo, de uma maneira geral. No entanto, Bacteroidetes e Firmicutes ocorrem em menor abundância, se comparados a Proteobacteria (JANSSEN, 2006, BRUCE et al., 2010). Em solos da Mata Atlântica foi observado que a estruturação da comunidade bacteriana da rizosfera é dependente do táxon vegetal, sendo que a variabilidade intra-específica é menor do que a inter-específica, muito provavelmente devido aos exsudados liberados pela planta, sugerindo isso que perfis bioquímicos da espécie vegetal podem determinar a microbiota associada a esse micro-ambiente (LAMBAIS et al., 2014).

Embora no nível de filo, Proteobacteria tenha sido o grupo mais abundante no solo rizosférico coletado sobre a projeção da copa das árvores, a UTO mais abundante foi afiliada ao gênero *Streptomyces* (Actinobacteria), representando 3,68% das sequências do solo rizosférico. No entanto, a UTO mais abundante associada à rizosfera de *E. edulis* na floresta de restinga foi *Sinorhizobium* (Alphaproteobacteria), representando 1,03% do total de sequências. Na floresta de terras baixas, o gênero *Muricola* (Bacteroidetes) foi a UTO mais abundante na rizosfera de *G. opposita*, representando 0,62% das sequências do solo rizosférico. Já na floresta montana, o gênero *Fulvibacter* (Bacteroidetes), foi a UTO mais abundante na rizosfera de *E. edulis* e *G. opposita*, representando 0,87% e 0,74% das sequências do solo rizosférico coletado sobre a copa da árvore, respectivamente. Tanto *Muricola* quanto *Fulvibacter*, têm sido isoladas previamente de ambientes. A influência do ambiente marinho nos diferentes tipos de florestas que formam a Mata Atlântica do gradiente altitudinal estudado pode também explicar a presença de bactérias de origem marinha no solo.

A alta proporção de Proteobacteria e Actinobacteria, bem como a baixa representação de Acidobacteria no solo, como foi observado neste estudo, sugerem que uma combinação entre fatores edáficos e características da planta hospedeira moldam a comunidade bacteriana nesse ambiente (BULGARELLI et al., 2013). Actinobacteria é um grupo morfológicamente diverso que se caracteriza pela

produção de enzimas extracelulares e de metabolitos secundários, como antibióticos (POOMTHONGDEE et al., 2014). Os filos Proteobacteria e Acidobacteria já foram reportados em solos da Mata Atlântica (MATOS 2010; LIMA, 2011; BRUCE et al., 2010; ANDRADE, 2007, JANSSEN, 2006), assim como em solos da floresta Amazônica (MENDES, 2014; NAVARRETE et al., 2013), mostrando uma distribuição muito ampla. Embora a abundância de Acidobacteria no solo rizosférico seja baixa, sua ocorrência em solo rizosférico de espécies arbóreas da Mata Atlântica pode ser explicada por sua habilidade em degradar celulose e outros compostos encontrados nas florestas (WARD et al., 2009), associado a sua habilidade em crescer em solos saturados e com pH baixo (JONES et al., 2009; BRUCE et al., 2010), características comuns nos solos das florestas de restinga, de terras baixas e montana. Tem sido observado que Acidobacteria é mais abundante em solo não-rizosférico do que em solo rizosférico da Mata Atlântica (LIMA, 2011; ROMAGNOLI, 2011), provavelmente devido ao potencial de formação de biofilmes sobre as partículas do solo, resistência à dessecação, e produção de compostos antimicrobianos por alguns membros do grupo (FIERER et al., 2007; WARD et al., 2009). A maior abundância de Proteobacteria em relação a Acidobacteria em solo rizosférico coletado sobre a projeção da copa da árvore, em comparação ao solo não-rizosférico, onde predomina Acidobacteria, foi também reportada em solos de uma floresta no Arizona (DUNBAR 2002).

Para o solo, 43 gêneros associados à *E. edulis* e 77 a *G. opposita* apresentaram diferenças significativas nas abundâncias relativas ao longo do gradiente altitudinal ($p < 0,05$, Anexo D2). Não foram observadas diferenças significativas nas comunidades bacteriana associadas à dermosfera de *E. edulis* e *G. opposita* ao longo do gradiente altitudinal, corroborando resultado da PCoA Unifrac (Figura 7).

Neste estudo, diferenças significativas na composição das comunidades bacterianas da filosfera e rizosfera de *E. edulis* e *G. opposita* ao longo de um gradiente altitudinal, determinadas usando-se o programa STAMP, indicam que a estrutura das comunidades bacterianas é mais similar entre plantas da mesma espécie do que entre plantas de espécies diferentes, como observado usando PCoA Unifrac para esses dois microambientes (Figuras 6 e 8). No entanto, diferenças entre os tipos de floresta específicas de cada área, ao longo do gradiente altitudinal

influenciam nas comunidade microbianas. Quando comparadas a vegetação da floresta de restinga e da floresta de terras baixas, na restinga é um pouco mais aberta, razão pela qual, poderia haver maior exposição de luz para as plantas do que na floresta de terras baixas. Comparada com a floresta de terras baixas, a floresta de montana é mais seca, incluso considerando que mesmo com presença de nuvens e neblina, na floresta de montana, a radiação solar é mais alta do que na floresta de terras baixas (ROSADO et al., 2011). Padrões de precipitação, pressão atmosférica e temperatura do ar também são diferentes entre as florestas de montana e terras baixas (ROSADO et al., 2016).

Figura 5 - Análises de coordenadas principais (PCoA) usando distâncias weighted unifrac, com base no número total de UTOs detectadas na filosfera de *E. edulis* e *G. opposita*, ao longo do gradiente altitudinal

Figura 6 - Análises de coordenadas principais (PCoA) usando distâncias weighted unifrac, com base no número total de UTOs detectadas na dermosfera de *E. edulis* e *G. opposita*, ao longo do gradiente altitudinal.

Figura 7 - Análises de coordenadas principais (PCoA) usando distâncias weighted unifrac, com base no número total de UTOs detectadas na rizosfera de *E. edulis* e *G. opposita*, ao longo do gradiente altitudinal

2.6.2 Análises de padrões de Co-ocorrência

Diversos trabalhos desenvolvidos na Mata Atlântica têm avaliado e descrito a composição e estrutura das comunidades microbianas associadas ao solo e filosfera

de algumas espécies arbóreas (MONTENEGRO, 2012; LAMBAIS et al., 2014; LIMA-PERIM et al., 2016). No entanto, abordagens que permitam avaliar associações entre micro-organismos e sua importância para a estruturação das comunidades, como redes de co-ocorrência (BARBERAN et al., 2012; BATES et al., 2012), não têm sido usadas. Para entender melhor a estruturação das comunidades bacterianas associadas a diferentes microambientes de espécies de plantas arbóreas e para verificar as possíveis conexões existentes entre os diferentes grupos taxonômicos, no nível de filo, classe e UTO, foram feitas análises de co-ocorrência de táxons usando os dados de correlação de abundâncias obtidos a partir do pirosequenciamento da região V4 do gene rRNA 16S. As correlações (conexões) entre os táxons foram categorizadas como de co-ocorrência, quando positivas, ou de exclusão mútua, quando negativas (FAUST; RAES, 2012).

No geral, em todos os níveis taxonômicos, foram observadas grandes variações nas topologias das redes em cada ambiente e para cada espécie arbórea estudada (Figuras 8-58). Observou-se que ao nível de filo, a complexidade da rede é menor do que ao nível de gênero. Enquanto no nível de filo todos nós se conectam, já no nível de classe e UTO, formam-se componentes. Ao nível de filo, classe e UTO, o número de nós e conexões totais, assim como de correlações de co-ocorrência e exclusão mútua, para *E. edulis* e *G. opposita* nas florestas de restinga, terras baixas e montana são apresentadas nas Tabelas 5, 6 e 7. Os táxons considerados altamente conectados (“hubs”) e chaves (“keystone”) nas filosferas, dermosferas e rizosferas de *E. edulis* e *G. opposita* nas diferentes florestas, ao nível de filo, classe e UTO são apresentados nas Tabelas 8 a 15, respectivamente. Tanto ao nível de filo, quanto de classe e UTO, os táxons altamente conectados e chaves diferiram em função da espécie de planta e da fisionomia da floresta. As descrições das redes de co-ocorrência serão apresentadas por ambiente avaliado, em seguida.

2.6.2.1 Redes de Co-ocorrência na Filosfera

Na filosfera, no nível de filo bacteriano, as redes de co-ocorrência apresentaram entre 27 e 32 nós, e entre 44 e 63 conexões, sendo a maioria positivas (Tabela 3). Na filosfera de *E. edulis* na floresta de restinga, o filo *Caldithrix* apresentou o maior número de conexões (9 no total, Figura 8), enquanto que, na floresta de terras baixas, os filos mais conectados foram *Thermi* (6 conexões),

SAR406 (6 conexões) e Planctomycetes (6 conexões) (Figura 9), e na floresta montana foi Chloroflexi (8 conexões, Figura 10). Na filosfera de *G. opposita* na floresta de restinga, o filo Thermi apresentou o maior número de conexões (8 conexões, Figura 11), enquanto que, na floresta de terras baixas os filos mais conectados foram Planctomycetes e uma bactéria não-classificada (8 conexões, Figura 12), e na floresta montana foram os filos Fusobacteria, Chloroflexi, Chlorobi e Chlamydiae (7 conexões cada, Figura 13).

Na filosfera, no nível de classe bacteriana, as redes de co-ocorrência apresentaram entre 52 e 62 nós, e entre 58 e 104 conexões, sendo a maioria positivas (Tabela 4). Na filosfera de *E. edulis* nas florestas de restinga e terras baixas uma classe bacteriana não-classificadas do filo Bacteroidetes apresentou o maior número de conexões (4 e 5 conexões, respectivamente, Figura 26 e 27), enquanto que na floresta montana a classe Spirochaetes apresentou o maior número de conexões (13 conexões, Figura 28). Na filosfera de *G. opposita* nas florestas de restinga e terras baixas uma classe bacteriana não-classificada do filo Bacteroidetes apresentou o maior número de conexões (14 e 8 conexões, respectivamente, Figura 29 e 30), enquanto que na floresta montana classe Elusimicrobia apresentou o maior número de conexões (9 conexões, Figura 31).

No nível de UTOs bacterianas, as redes de co-ocorrência na filosfera apresentaram entre 85 e 128 nós, e entre 120 e 171 conexões, sendo a maioria positivas (Tabela 4). Na filosfera de *E. edulis* na floresta de restinga, a UTO afilada a *Gordonia* (Actinobacteria) apresentou o maior número de conexões (10 conexões, Figura 42), enquanto que na floresta de terras baixas a UTO afilada a *Nonomuraea* (Actinobacteria) foi a mais conectada (10 conexões, Figura 43), e na floresta montana foi a UTO afilada a *Arthrobacter* (Actinobacteria) (9 conexões, Figura 44). Na filosfera de *G. opposita* na floresta de restinga, a UTO afiliada a *Rhodospira* (Alphaproteobacteria) apresentou o maior número de conexões (11 conexões, Figura 45), enquanto que na floresta de terras baixas duas UTOs afiliadas a *Methylobacter* (Gammaproteobacteria) foram as mais conectadas (7 conexões, Figura 46), e na floresta de montana foram três UTOs afiliadas à família Bradyrhizobiaceae (Gammaproteobacteria), sendo duas delas afiliadas ao gênero *Afipia* (9 conexões, Figura 47).

As UTOs com maior número de conexões positivas ou negativas, variaram com a fisionomia da floresta. Na floresta de restinga, em *E. edulis*, OTUs afiliadas a

Thioalkalivibrio (Gammaproteobacteria) e *Stella* (Alphaproteobacteria) apresentaram o maior números de conexões positivas na filosfera (8 conexões, Figura 42), na floresta de terras baixas foram 3 UTOs afiliadas à família Alteromonadaceae (Gammaproteobacteria) e 2 UTOs *Virgibacillus* (Firmicutes) (8 conexões, Figura 43) e na floresta de montana 3 UTOs afiliadas à família Rhodospiraceae (Alphaproteobacteria) e uma UTO afiliada a *Halomonas* (Gammaproteobacteria) (9 conexões, Figura 44). Na floresta de restinga, em *G. opposita*, a UTO afiliadas a *Rhodospira* (Alphaproteobacteria) apresentou o maior números de conexões positivas na filosfera (11 conexões, Figura 45), na floresta de terras baixas foram as UTOs afiliadas a *Massilia* (Betaproteobacteria) e *Gordonia* (Actinobacteria) (7 conexões, Figura 46) e na floresta de montana a UTO afiliada ao gênero *Legionella* (Alphaproteobacteria) (8 conexões, Figura 47). Enquanto às correlações negativas, na floresta de restinga, em *E. edulis*, 7 UTOs afiliadas ao filo Chlamydiae apresentaram o maior números de conexões negativas na filosfera (7 conexões, Figura 42), na floresta de terras baixas, a UTO afiliada a *Nonomuraea* (9 conexões, Figura 43) e na floresta de montana a UTO afiliada a *Arthrobacter* (Actinobacteria) (9 conexões, Figura 44). Na floresta de restinga, em *G. opposita*, 4 UTOs afiliadas à ordem Legionales (Alphaproteobacteria) apresentaram o maior números de conexões negativas (8 conexões, Figura 45), na floresta de terras baixas, 3 UTOs afiliadas à família Bradyrhizobiaceae, sendo duas dessas UTOs afiliadas a *Afipia* (Alphaproteobacteria) (12 conexões, Figura 46) e na floresta de montana a UTO afiliada ao gênero *Ochrobactrum* (Alphaproteobacteria) (5 conexões, Figura 47).

UTOs afiliadas a *Rhodospira* e à família Rhodospirillaceae caracterizaram-se por fazer parte de vários dos componentes encontrados na filosfera de *E. edulis* e *G. opposita*. Em ambas as filosferas formaram correlações tanto positivas como negativas com outras UTOs sem serem altamente conectados ou considerados possíveis táxons chaves (Figuras 42 - 47).

Os resultados mostraram que, nas filosferas das duas espécies de plantas nas diferentes florestas, Gammaproteobacteria e Alphaproteobacteria foram os grupos com maior número de conexões, sugerindo que podem estar associadas com funções centrais na filosfera, como descrito anteriormente por Remus-Emsermann e Vorholt (2015). Embora, a estrutura das comunidades bacterianas, ao nível de UTO, não sejam os mesmos em cada filosfera e ao longo do gradiente altitudinal, pode ser que funcionalmente as diferentes espécies de bactérias desempenhem papéis

redundantes. Assim, a heterogeneidade intra- e inter-específica das redes de co-ocorrência observadas nas filosferas sugere que não existe um “core” microbioma na filosfera no nível taxonômico, e que provavelmente a estruturação das comunidades de bactérias na filosfera seja baseada em recrutamento funcional. No entanto, cada filosfera compartilha alguns gêneros bacterianos recorrentes que formam relações de co-ocorrência ou exclusão mútua, sugerindo que tanto a sobreposição de nichos quanto a competição podem ocorrer na filosfera.

Uma UTO afiliada à família Rhodospirillaceae (Alphaproteobacteria) foi detectada nas filosferas de *E. edulis* e *G. opposita*, ao longo do gradiente altitudinal, formando mais conexões positivas do que negativas, na maioria das sub-redes encontradas, e com membros de diferentes grupos taxonômicos. Uma UTO afiliada a *Halomonas* (Gammaproteobacteria) formou interações de co-ocorrência e exclusão mútua na comunidade microbiana das duas espécies arbóreas, e foi a UTO mais abundante na filosfera de *G. opposita* na floresta de restinga, e da filosfera *E. edulis* e *G. opposita* na floresta de terras baixas. OTUs afiliadas a *Gordonia* (Actinobacteria) e a *Flavobacterium* (Bacteroidetes) também formaram mais interações de co-ocorrência do que de exclusão mútua em todas as filosferas nas florestas estudadas.

Segundo a métrica centralidade de intermediação (NEWMAN, 2003), a qual permite avaliar quão vital é um nó para uma rede, diferentes táxons foram considerados grupos chaves nas filosferas de *E. edulis* e *G. opposita*, ao longo do gradiente altitudinal (Tabela 6-15). As UTOs chaves na filosfera de *E. edulis* foram afiliadas a Gammaproteobacteria: uma UTO afiliada a Gammaproteobacteria na restinga, a *Colwellia* (Gammaproteobacteria) na floresta de terras baixas, e a *Clostridium* e *Halobacillus* (Firmicutes) na floresta montana (Tabela 10). Já, na filosfera de *G. opposita* as UTOs chaves foram afiliadas a *Zobellella* (Gammaproteobacteria) na floresta de restinga, *Xenorhabdus* (Gammaproteobacteria) na floresta de terras baixas, e *Colwellia* (Gammaproteobacteria) e *Streptomyces* (Actinobacteria) na floresta montana (Tabela 11). Muito embora, a maioria das UTOs chaves nas filosferas estudadas sejam afiliadas à classe Gammaproteobacteria, eles não representam as UTOs mais abundantes, e em alguns casos apresentam mais conexões de exclusão mútua do que de co-ocorrência com outros integrantes de rede, como por exemplo *Clostridium*, *Halobacillus* e uma Gammaproteobacteria na filosfera de *E. edulis*, e *Zobellella*, *Xenorhabdus*-Otu00361, *Colwellia*, *Streptomyces* e uma

Gammaproteobacteria na filosfera de *G. opposita* (Tabelas 11). Assim, de uma maneira geral as UTOs chaves nas filosferas pertencem a diferentes espécies, em sua maioria de Gammaproteobacteria, sugerindo que esse grupo de bactérias pode ter maior importância para a estruturação da comunidade bacteriana na filosfera.

Enquanto a fisionomia da floresta e a espécie de planta explicaram uma pequena parte da variabilidade das estruturas das comunidades de bactérias, como visto pela PCoA, outros fatores abióticos podem também afetar a estrutura do microbioma da filosfera. Adicionalmente, parte das alterações nos microbiomas observadas podem ser explicadas pelas variações que ocorrem em espécies microbianas chaves em uma rede ecológica. Espécies bacterianas altamente conectadas (“hubs”) afetam a abundância de outras espécies bacterianas atuando diretamente sobre elas ou via planta hospedeira (AGLER et al., 2016). Assim, é possível que a planta hospedeira em diferentes condições ambientais selecione diferentes “hubs” para controlar seu microbioma.

2.6.2.2 Redes de Co-ocorrência na Dermosfera

Na dermosfera, no nível de filo bacteriano, as redes de co-ocorrência apresentaram entre 29 e 37 nós, e entre 39 e 170 conexões, sendo a maioria positivas (Tabela 3). Na floresta de restinga, todas as correlações foram positivas. Na floresta de terras baixas, na dermosfera de *E. edulis*, foi observado que o número de correlações negativas foi maior (126) do que de correlações positivas (44). Na dermosfera de *E. edulis* na floresta de restinga, os filos candidatos NPL-UPA e WWE1 apresentaram o maior número de conexões (8 no total, Figura 14), enquanto que, na floresta de terras baixas, os filos mais conectados foram AC1 (20 conexões), NPL-UPA (20 conexões) e OP8 (20 conexões) (Figura 15), e na floresta montana foram Kazan-3B-28-Chloroflexi-Lentisphaerae, WWE1 (20 conexões, Figura 16). Na dermosfera de *G. opposita* na floresta de restinga, o filo Chlorobi apresentou o maior número de conexões (13 conexões, Figura 17), enquanto que, na floresta de terras baixas os filos mais conectados foram Thermi e Spirochaetes (13 conexões, Figura 18), e na floresta montana foram os filos Chlorobi e um filo bacteriano não classificado (7 conexões, Figura 19).

Na dermosfera, no nível de classe bacteriana, as redes de co-ocorrência apresentaram entre 62 e 71 nós, e entre 114 e 194 conexões, sendo a maioria

positivas (Tabela 4). Na dermosfera de *E. edulis* na floresta de restinga uma Cyanobacteria não-classificada, apresentou o maior número de conexões (19 conexões, Figura 32). Já, na floresta de terras baixas a classe GN05 (Spirochaetes) (13 conexões, Figura 33) e na floresta de montana a classe VC2-1-Bac22 (Bacteroidetes) (13 conexões, Figura 34) apresentaram o maior número de conexões. Na dermosfera de *G. opposita* na floresta de terras baixas, uma classe de Firmicutes não-classificada apresentou o maior número de conexões (20 conexões, Figura 35) e na floresta de montana uma classe de Acidobacteria e uma classe do grupo candidato Hyd24-12, ambas não-classificadas, e as classes WM88 (Hyd24-12) e Chrysiogenetes (Chrysiogenetes) foram as que apresentaram o maior número de conexões (9 conexões, Figura 36).

Na dermosfera, no nível de UTO bacteriana, as redes de co-ocorrência apresentaram entre 37 e 124 nós, e entre 93 e 159 conexões, sendo a maioria positivas (Tabela 5). Na dermosfera de *E. edulis* na floresta de restinga, uma OTU não-classificada apresentou o maior número de conexões (14 conexões, Figura 48), enquanto na floresta de terras baixas uma UTO afiliada a *Sulfitobacter* (Alphaproteobacteria) (11 conexões, Figura 49) e na floresta montana uma UTO afiliada a *Microchaete* (Cyanobacteria) (10 conexões Figura 50) foram as mais conectadas. Na dermosfera de *G. opposita* na floresta de terras baixas, 3 UTOs afiliadas a *Flavivirga* (Bacteroidetes), uma UTO da família Lachnospiraceae (Firmicutes) e uma UTO afiliada a *Chroococcidiopsis* (Cyanobacteria) apresentaram o maior número de conexões (8 conexões, Figura 51). Já, na floresta montana uma UTO afiliada à família Peptostreptococcaceae (10 conexões Figura 52) foi a mais conectada.

Como observado para a filosfera, as UTOs com maiores números de conexões positivas ou negativas na dermosfera variaram com a espécie de planta e fisionomia da floresta. Na floresta de restinga, em *E. edulis*, uma UTO não-classificada apresentou o maior número de correlações positivas (14 conexões, Figura 48). Na floresta de terras baixas uma UTO afiliada a *Sulfitobacter* (Alphaproteobacteria) (11 conexões, Figura 49), e na floresta montana uma UTO afiliada a *Microchaete* (Cyanobacteria) (10 conexões, Figura 50) foram as UTOs com mais conexões positivas. Na floresta de terras baixas, em *G. opposita*, uma UTO afiliada a *Chroococcidiopsis* (Cyanobacteria) (8 conexões, Figura 51), e na floresta montana 5 UTOs afiliadas ao filo Fusobacteria e uma UTO afiliada a Fulvibacter

(Bacteroidetes) (8 conexões, Figura 52) foram as UTOs com mais conexões positivas. Em relação às correlações negativas, na floresta de restinga, em *E. edulis*, uma UTO afiliada à classe Gammaproteobacteria apresentou o maior número de conexões negativas (7 conexões, Figura 48). Já, na floresta de terras baixas uma UTO afiliada a Legionella (Gammaproteobacteria) (8 conexões, Figura 49), e na floresta de montana uma UTO afiliada a *Natronocella* (Gammaproteobacteria) (4 conexões, Figura 50) apresentaram o maior número de correlações negativas. Na floresta de terras baixas, em *G. opposita*, 3 UTOs afiliadas a Flavivirga (Bacteroidetes) e uma UTOS afiliada à família Lachnospiraceae (8 conexões, Figura 51), e na floresta montana uma UTO afiliada à família Peptostreptococcaceae (Firmicutes) (10 conexões, Figura 52) foram as que apresentaram mais conexões de exclusão mútua.

De uma maneira geral, as relações de exclusão mútua da dermosfera são mais frequentes do que na filosfera, sugerindo que a dermosfera é um ambiente relativamente menos favorável ao crescimento de bactérias do que a filosfera. Micro-organismos altamente conectados através de conexões de exclusão mútua com outros membros da comunidade microbiana são importantes, pois podem limitar a alfa diversidade. Esses micro-organismos poderiam também atuar como patógenos, parasitas ou predadores de outros microrganismos, alterando a estrutura da comunidade microbiana em condições específicas. É possível que a comunidade de líquens e briófitas associadas à casca das espécies arbóreas também exerçam alguma influência na comunidade bacteriana da dermosfera, recrutando bactérias que tenham a habilidade de competir eficientemente com outras e que promovam seu crescimento.

Usando a mesma métrica de centralidade de intermediação (NEWMAN, 2003) usada para a filosfera, diferentes táxons foram considerados chaves nas dermosferas de *E. edulis* e *G. opposita*, ao longo do gradiente altitudinal (Tabela 6-15). As UTOs chaves na dermosfera de *E. edulis* foram afiliados a *Poriferibacter* (Bacteroidetes) na restinga, *Enhydrobacter* (Alphaproteobacteria) na floresta de terras baixas, e a *Ochrobactrum* (Alphaproteobacteria) na floresta montana (Tabela 10). Já, na dermosfera de *G. opposita*, as UTOs chaves foram afiliados a *Rhodospira* (Alphaproteobacteria) e *Poriferibacter* (Bacteroidetes) na floresta de terras baixas, e a uma Proteobacteria não-classificada na floresta montana (Tabela 11).

2.6.2.3 Redes de Co-ocorrência no Solo

No solo coletado embaixo da copa das árvores, no nível de filo bacteriano, as redes de co-ocorrência apresentaram entre 27 e 32 nós, e entre 24 e 51 conexões, sendo a maioria positivas (Tabela 3). Na floresta de terras baixas, no solo coletado embaixo da copa de *E. edulis*, foi encontrado que o número de correlações negativas (33 conexões) foi maior do que as correlações positivas (12 conexões). Em *E. edulis* na floresta de restinga, o filo Chloroflexi apresentou o maior número de conexões (8 no total, Figura 20), enquanto que, na floresta de terras baixas, o filo candidato TA06 (12 conexões, Figura 21), e na floresta de montana os filos Synergistetes e Cyanobacteria (5 conexões, Figura 22) foram os mais conectados. No solo coletado embaixo da copa de *G. opposita* na floresta de restinga, o filo Lentisphaerae apresentou o maior número de conexões (6 conexões, Figura 23), enquanto que, na floresta de terras baixas os filos mais conectados foram Actinobacteria e Lentisphaerae (5 conexões, Figura 24) e na floresta de montana foram os filos candidatos OctSPA1 e NC10 (6 conexões, Figura 25).

No nível de classe bacteriana, as redes de co-ocorrência apresentaram entre 45 e 59 nós, e entre 62 e 229 conexões, sendo a maioria positivas (Tabela 4). Em *E. edulis* na floresta de restinga Chrysiogenetes (Chrysiogenetes), apresentou o maior número de conexões (7 conexões, Figura 37) enquanto na floresta de terras baixas a classe Verrucomicrobiae (Verrucomicrobia) (11 conexões, Figura 38), e na floresta de montana a classe Chloroflexi (Chloroflexi) (12 conexões, Figura 39) apresentaram o maior número de conexões. Em *G. opposita* na floresta de restinga, uma classe de Firmicutes não-classificada, (22 conexões, Figura 40), e na floresta de montana Chloroflexi (Chloroflexi) (17 conexões, Figura 41) apresentaram o maior número de conexões.

No nível de UTO bacteriana, as redes de co-ocorrência apresentaram entre 82 e 141 nós, e entre 75 e 183 conexões, sendo a maioria positivas (Tabela 5). Na rizosfera de *E. edulis* na floresta de restinga, uma UTO afiliada a *Halomonas* (Gammaproteobacteria) apresentou o maior número de conexões (18 conexões, Figura 53), enquanto na floresta de terras baixas UTOs afiliadas ao gênero *Stenotrophomonas* e às famílias Xanthomonadaceae (Gammaproteobacteria), Enterobacteriaceae (Gammaproteobacteria) e Anaerolinaceae (Chloroflexi) foram as mais conectadas (7 conexões, Figura 54). Na floresta Montana, uma UTO afiliada a

Xenorhabdus (Gammaproteobacteria) foi a mais conectada (6 conexões Figura 55). Em *G. opposita* na floresta de restinga, uma UTO afiliada a *Isochromatium* apresentou o maior número de conexões (9 conexões, Figura 56), enquanto na floresta de terras baixas uma UTO afiliada a *Propionispora* (9 conexões, Figura 57), e na floresta montana uma UTO afiliada a *Tropicibacter* (Gammaproteobacteria) (10 conexões Figura 58) foram as mais conectadas.

As UTOs com maior número de conexões positivas ou negativas no solo coletado embaixo da copa também variaram com a espécie de planta e a fisionomia da floresta, como na filosfera e dermosfera. Na floresta de restinga, em *E. edulis*, uma UTO afiliada a *Halomonas* (Gammaproteobacteria) apresentou o maior número de conexões positivas (8 conexões, Figura 53). Na floresta de terras baixas, 4 UTOs afiliados à família Sulfolobaceae (Firmicutes) e uma UTO afiliada a *Chromohalobacter* (Gammaproteobacteria) (6 conexões, Figura 54), e na floresta de montana, uma UTO afiliada a *Xenorhabdus* (Gammaproteobacteria) (10 conexões, Figura 55) apresentaram o maior número de conexões positivas. Na floresta de restinga, em *G. opposita*, uma UTO afiliada a *Isochromatium* (Gammaproteobacteria) (9 conexões, Figura 56), na floresta de terras baixas, uma UTO afiliada a *Xenorhabdus* (Gammaproteobacteria) (8 conexões, Figura 57), e, na floresta montana, uma UTO afiliada a *Tropicibacter* (Alphaproteobacteria) (8 conexões, Figura 58) apresentaram o maior número de conexões positivas. Quanto a correlações negativas, na floresta de restinga, em *E. edulis*, 5 UTOs afiliadas à ordem Thermodesulfobacterales (Deltaproteobacteria) e uma UTO afiliada a *Shigella* (Gammaproteobacteria) (7 conexões, Figura 53) apresentaram o maior número de conexões negativas. Na floresta de terras baixas, uma UTO afiliada a *Xenorhabdus* (Gammaproteobacteria) (7 conexões, Figura 54), e na floresta montana, uma UTO afiliada a *Muricola* (Bacteroidetes) (7 conexões, Figura 55) foram aquelas que apresentaram maior número de relações de exclusão mútua. Na floresta de restinga, em *G. opposita*, as UTOs afiliadas a *Propionispora* (Firmicutes) e *Vibrio* (Gammaproteobacteria) apresentaram o maior número de conexões negativas (uma conexão, Figura 56), enquanto que, na floresta de terras baixas, 2 UTOs afiliadas à família Pseudoalteromonadaceae (Gammaproteobacteria) (6 conexões, Figura 57), e na floresta montana, UTOs afiliadas a *Pasteura* (Firmicutes) e *Muricola* (Bacteroidetes) e 3 UTOs afiliadas a *Stella* (Alphaproteobacteria) (4

conexões, Figura 58) foram as que apresentaram maior número de conexões negativas.

Usando a métrica centralidade de intermediação (NEWMAN, 2003), diferentes UTOs foram consideradas chaves nas em *E. edulis* e *G. opposita*, nas diferentes florestas (Tabela 6-15). Tanto em *E. edulis* como *G. opposita*, diferentes UTOs foram caracterizadas chaves na comunidade microbiana. No entanto, a maioria das UTOs chaves foram afiliados às classes Alphaproteobacteria e Gammaproteobacteria, do filo Proteobacteria. As UTOs chaves no solo coletado embaixo da copa de *E. edulis* foram afiliados a *Tropicibacter* (Alphaproteobacteria) na restinga, *Gordonia* (Actinobacteria), *Rhodospira* (Alphaproteobacteria) e uma OTU não-classificada afiliada à ordem Rhodospirillales (Alphaproteobacteria) na floresta de terras baixas, e *Clostridium* (Firmicutes) e *Streptomyces* (Actinobacteria) na floresta montana (Tabela 10). Já, na floresta de *G. opposita* as UTOs chaves foram afiliados à ordem Bacillales e a *Isochromatium* (Gammaproteobacteria) na floresta de restinga, *Sihorhizobium* (Alphaproteobacteria) e uma espécie não-classificada de *Isochromatium* (Gammaproteobacteria) na floresta de terras baixas, e *Clostridium* (Firmicutes), *Streptomyces* (Actinobacteria) e *Gluconacetobacter* (Alphaproteobacteria) na floresta montana (Tabela 11).

Em solos de floresta em três biomas brasileiros, Lupatini e colaboradores (2014) determinaram os gêneros dos filos Proteobacteria, Actinobacteria Firmicutes, Bacteroides e Chloroflexi como possíveis grupos chaves na comunidade microbiana. Da mesma forma que nesse estudo, espécies-chaves variaram com o local de amostragem. Em ambientes altamente complexos como o solo, é possível que ocorra vários grupos filogenéticos com um número alto de associações, assim como muitas espécies-chaves determinando a estrutura da comunidade microbiana e suas funções no ecossistema (EILER et al., 2012). Mendes e colaboradores (2015), comparando padrões de co-ocorrência de bactérias em solo rizosférico e não-rizosférico, encontraram que o solo rizosférico apresenta menor complexidade quando comparado com solo não-rizosférico, sugerindo que o solo não-rizosférico seja fonte de micro-organismos para que a planta selecione um microbioma específico para sua rizosfera. O efeito que as espécies-chaves tem sobre a comunidade microbiana depende também do tipo de interação que essas desenvolvem com os membros da comunidade. Avaliando o efeito da ausência de espécies-chaves em redes de co-ocorrência, têm sido observado que os membros

da comunidade que intergem positivamente com as espécies chaves são os mais afetados (BERRY; WIDDER 2014).

Alguns padrões de co-ocorrência podem revelar relações ecológicas entre táxons que não são normalmente estudadas, pela baixa abundância dos organismos, por exemplo (BARBERAN et al., 2012). Têm sido observado que enquanto muitos micro-organismos formam poucas conexões em uma rede ecológica, poucos são os micro-organismos altamente conectados. Ou seja, táxons mais abundantes podem sofrer perturbações, fazendo com que espécies raras passem a ocupar os nichos que foram abertos ao diminuir a abundância daqueles táxons dominantes, resultando em grandes alterações na estrutura da comunidade microbiana e suas funções (AGLER et al., 2016). Assim, micro-organismos raros podem ter um maior impacto em funções essenciais para um ecossistema, podendo contribuir de forma significativa para os processos biogeoquímicos do solo e a estabilidade do ecossistema (ZHANG et al., 2013).

Faust e colaboradores (2012) sugerem que padrões de co-ocorrência e co-exclusão podem ser explicados pelas relações evolutivas e a similaridade funcional, ou seja, micro-organismos mais proximamente relacionados, competem por recursos limitados, enquanto micro-organismos complementares funcionalmente, poderiam ser mutualistas. No entanto, observaram que associações positivas devem se a similaridade tanto filogenética como funcional entre os micro-organismos, e que associações negativas ocorrem por diferentes mecanismos, além da competição, como produção de toxinas, antibióticos, mudanças no ambiente, entre outros fatores.

Tanto na filosfera, quanto na dermosfera e solo de *E. edulis* e *G. opposita*, em todos as fisionomias florestais, diferentes sub-redes ou componentes foram observadas no nível de OTU, sugerindo que consórcios bacterianos podem se formar através das interações entre as bactérias para desenvolver funções específicas nos diferentes ambientes.

Tabela 3- Números de nós e co-ocorrências positivas e negativas encontradas ao nível de filo na comunidade bacteriana associada à filosfera, dermosfera e solo coletado embaixo da copa das espécies arbóreas *E. edulis* e *G. opposita*

		Co-ocorrência	Co-exclusão	Total	Nós
Filosfera					
F. Restinga	<i>E. edulis</i>	30	20	50	27
F. Restinga	<i>G. opposita</i>	38	25	63	27
F. Terras Baixas	<i>E. edulis</i>	28	16	44	29
F. Terras Baixas	<i>G. opposita</i>	35	17	52	32
F. Montana	<i>E. edulis</i>	31	18	49	30
F. Montana	<i>G. opposita</i>	37	23	60	32
Dermosfera					
F. Restinga	<i>E. edulis</i>	57	0	57	32
F. Restinga	<i>G. opposita</i>	68	43	111	33
F. Terras Baixas	<i>E. edulis</i>	44	126	170	37
F. Terras Baixas	<i>G. opposita</i>	70	54	124	36
F. Montana	<i>E. edulis</i>	20	19	39	29
F. Montana	<i>G. opposita</i>	30	14	44	31
Solo					
F. Restinga	<i>E. edulis</i>	30	21	51	29
F. Restinga	<i>G. opposita</i>	32	15	47	30
F. Terras Baixas	<i>E. edulis</i>	12	33	45	27
F. Terras Baixas	<i>G. opposita</i>	19	5	24	26
F. Montana	<i>E. edulis</i>	25	17	42	32
F. Montana	<i>G. opposita</i>	17	22	39	29

Tabela 4 - Números de nós e co-ocorrências positivas e negativas encontradas ao nível de classe na comunidade bacteriana associada à filosfera, dermosfera e solo coletado embaixo da copa das espécies arbóreas *E. edulis* e *G. opposita*

	Espécie arbórea	Co-ocorrência	Co-exclusão	Total	Nós
Filosfera					
F. Restinga	<i>E. edulis</i>	39	19	58	52
F. Restinga	<i>G. opposita</i>	65	39	104	61
F. Terras Baixas	<i>E. edulis</i>	55	22	77	52
F. Terras Baixas	<i>G. opposita</i>	62	18	80	55
F. Montana	<i>E. edulis</i>	35	34	69	59
F. Montana	<i>G. opposita</i>	55	29	84	62
Dermosfera					
F. Restinga	<i>E. edulis</i>	118	76	194	68
F. Restinga	<i>G. opposita</i>	-	-	-	-
F. Terras Baixas	<i>E. edulis</i>	104	32	136	63
F. Terras Baixas	<i>G. opposita</i>	85	66	151	71
F. Montana	<i>E. edulis</i>	67	47	114	64
F. Montana	<i>G. opposita</i>	75	39	114	62
Solo					
F. Restinga	<i>E. edulis</i>	43	27	70	53
F. Restinga	<i>G. opposita</i>	116	113	229	59
F. Terras Baixas	<i>E. edulis</i>	65	29	94	57
F. Terras Baixas	<i>G. opposita</i>	-	-	-	-
F. Montana	<i>E. edulis</i>	44	18	62	45
F. Montana	<i>G. opposita</i>	45	30	75	49

Tabela 5 - Números de nós e co-ocorrências positivas e negativas encontradas ao nível de gênero na comunidade bacteriana associada à filosfera, dermosfera e solo coletado embaixo da copa das espécies arbóreas *E. edulis* e *G. opposita*

		Co-ocorrência	Co-exclusão	Total	Nós
Filosfera	Espécie arbórea				
F. Restinga	<i>E. edulis</i>	87	59	146	85
F. Restinga	<i>G. opposita</i>	90	59	149	88
F. Terras Baixas	<i>E. edulis</i>	92	79	171	128
F. Terras Baixas	<i>G. opposita</i>	90	33	123	118
F. Montana	<i>E. edulis</i>	79	41	120	107
F. Montana	<i>G. opposita</i>	93	57	150	108
Dermosfera					
F. Restinga	<i>E. edulis</i>	86	7	93	37
F. Restinga	<i>G. opposita</i>				
F. Terras Baixas	<i>E. edulis</i>	95	53	148	124
F. Terras Baixas	<i>G. opposita</i>	70	73	143	110
F. Montana	<i>E. edulis</i>	98	26	124	97
F. Montana	<i>G. opposita</i>	100	59	159	101
Solo					
F. Restinga	<i>E. edulis</i>	102	81	183	141
F. Restinga	<i>G. opposita</i>	74	1	75	82
F. Terras Baixas	<i>E. edulis</i>	78	72	150	127
F. Terras Baixas	<i>G. opposita</i>	103	36	139	126
F. Montana	<i>E. edulis</i>	101	38	139	103
F. Montana	<i>G. opposita</i>	70	34	104	103

Tabela 6 - Táxons altamente conectados e possíveis táxon-chaves associados à filosfera, dermosfera e solo coletado embaixo da copa de *E. edulis* e *G. opposita* no nível de gênero

Habitat	Restinga		Terras Baixas		Montana	
	<i>E. edulis</i>	<i>G. opposita</i>	<i>E. edulis</i>	<i>G. opposita</i>	<i>E. edulis</i>	<i>G. opposita</i>
Filosfera						
<i>Táxons chaves</i>	Spirochaetes	não-classificada	SAR406, Thermi, Planctomycetes	Planctomycetes	Chloroflexi	OctSPA1-106
<i>Altamente conectados</i>	Caldithrix	Thermi	SAR406	Planctomycetes, não-classificada	Chloroflexi	Fusobacteria, Chloroflexi, Chlorobi, Chlamydiae
Dermosfera	<i>E. edulis</i>	<i>G. opposita</i>	<i>E. edulis</i>	<i>G. opposita</i>	<i>E. edulis</i>	<i>G. opposita</i>
<i>Táxons chaves</i>	Synergistetes	Chlorobi	AC1, OP8	Spirochaetes	Aquificae-Chloroflexi	Chlorobi
<i>Altamente conectados</i>	NPLUPA2,WWE1	Chlorobi	AC1, NPL-UPA2, OP8	Thermi, Spirochaetes	Kazan-3B-28, Chloroflexi, Lentisphaerae	Chlorobi, não-classificada
Rizosfera	<i>E. edulis</i>	<i>G. opposita</i>	<i>E. edulis</i>	<i>G. opposita</i>	<i>E. edulis</i>	<i>G. opposita</i>
<i>Táxons chaves</i>	Chloroflexi	Lentisphaerae	WWE1	Lentisphaerae	Synergistetes	Lentisphaerae
<i>Altamente conectados</i>	Chloroflexi	Lentisphaerae	TA06	Lentisphaerae, Actinobacteria	Synergistetes e Cyanobacteria	OctSPA1-106, NC10

Tabela 7 - Táxons altamente conectados e possíveis táxon-chaves associados à filosfera, dermosfera e solo coletado embaixo da copa de *E. edulis* e *G. opposita* no nível de classe

Habitat	Restinga		Terras Baixas		Montana	
Filosfera	<i>E. edulis</i>	<i>G. opposita</i>	<i>E. edulis</i>	<i>G. opposita</i>	<i>E. edulis</i>	<i>G. opposita</i>
<i>Táxons chaves</i>	Acidobacteria-6	Lentisphaerae-Proteobacteria	Verrucomicrobia-Methylacidiphilae	Firmicutes-não-classificada	4C0d-2, HDBW-WB69, OP11-2	Elusimicrobia
<i>Altamente conectados</i>	Bacteroidetes-não-classificada	Bacteroidetes-não-classificada	Bacteroidetes-não-classificada	Bacteroidetes-não-classificada	Spirochaetes-Spirochaetes	Elusimicrobia
Dermosfera	<i>E. edulis</i>	<i>G. opposita</i>	<i>E. edulis</i>	<i>G. opposita</i>	<i>E. edulis</i>	<i>G. opposita</i>
<i>Táxons chaves</i>	Cyanobacteria-não-classificada	OP8	Chrysiogenetes-Chrysiogenetes		Bacteroidetes-VC2-1-Bac22	Planctomycetes-ODP123
<i>Altamente conectados</i>	Cyanobacteria-não-classificada	Chlorobi	Spirochaetes-GN05		Bacteroidetes-VC2-1-Bac22	Hyd2412,Chrysiogenetes-Chrysiogenetes, Hyd24-12-WM88
Rizosfera	Euterpe	Guapira	Euterpe	Guapira	Euterpe	Guapira
<i>Táxons chaves</i>	Chrysiogenetes-Chrysiogenetes	Firmicutes-não-classificada	Acidobacteria-iii1-8		Chloroflexi-Chloroflexi	Chloroflexi-Chloroflexi
<i>Altamente conectados</i>	Chrysiogenetes-Chrysiogenetes	Firmicutes-não-classificada	Verrucomicrobia-Verrucomicrobiae		Chloroflexi-Chloroflexi	Chloroflexi-Chloroflexi

Tabela 8- Números de nós e correlações positivas e negativas encontradas ao nível de gênero na comunidade bacteriana associada à filosfera de *E. edulis*

		Classificação	Total	Positivo	Negativo
Floresta de restinga	<i>Altamente conectado</i>	Actinobacteria-Actinobacteria-Actinomycetales-Tsukamurellaceae- <i>Gordonia</i>	10	4	6
	<i>Táxons chaves</i>	Proteobacteria-Gammaproteobacteria	2	0	2
Floresta de terras baixas	<i>Altamente conectado</i>	Actinobacteria-Actinobacteria-Actinomycetales-Streptosporangiaceae- <i>Nonomuraea</i>	9	0	9
	<i>Táxons chaves</i>	Proteobacteria-Gammaproteobacteria-Alteromonadales-Colwelliaceae- <i>Colwellia</i>	2	2	0
Floresta de montana	<i>Altamente conectado</i>	Actinobacteria-Actinobacteria-Actinomycetales-Micrococcaceae- <i>Arthrobacter</i>	9	0	9
	<i>Táxons chaves</i>	Firmicutes-Clostridia-Clostridiales-Peptostreptococcaceae	2	0	2
		Firmicutes-Bacilli-Bacillales-Bacillaceae- <i>Halobacillus</i>	2	0	2

Tabela 9 - Números de nós e correlações positivas e negativas encontradas ao nível de gênero na comunidade bacteriana associada à filosfera de *G. opposita*

		Classificação	Total	Positivo	Negativo
Floresta de restinga	<i>Altamente conectado</i>	Proteobacteria-Alphaproteobacteria-Rhodospirillales-Rhodospirillaceae-Rhodospira	11	11	0
	<i>Táxons chaves</i>	Proteobacteria-Gammaproteobacteria-Aeromonadales-Aeromonadaceae-Zobellella	4	0	4
Floresta de terras baixas	<i>Altamente conectado</i>	Proteobacteria-Gammaproteobacteria-Methylococcales-Methylococcaceae-Methylobacter	7	4	3
		Proteobacteria-Gammaproteobacteria-Methylococcales-Methylococcaceae-Methylobacter-OTU00135	7	4	3
	<i>Táxons chaves</i>	Proteobacteria-Gammaproteobacteria-Enterobacteriales-Enterobacteriaceae-Xenorhabdus-OTU00361	2	0	2
		Proteobacteria-Gammaproteobacteria-Enterobacteriales-Enterobacteriaceae-Xenorhabdus-OTU00167	2	2	0
Floresta de montana	<i>Altamente conectado</i>	Proteobacteria-Alphaproteobacteria-Rhizobiales-Bradyrhizobiaceae-Afipia	12	0	12
		Proteobacteria-Alphaproteobacteria-Rhizobiales-Bradyrhizobiaceae	12	0	12
		Proteobacteria-Alphaproteobacteria-Rhizobiales-Bradyrhizobiaceae-Afipia	12	0	12
	<i>Táxons chaves</i>	Proteobacteria-Gammaproteobacteria-Alteromonadales-Colwelliaceae-Colwellia	2	0	2
		Actinobacteria-Actinobacteria-Actinomycetales-Streptomycetaceae-Streptomyces	2	0	2
		Proteobacteria-Gammaproteobacteria	2	0	2

Tabela 10 - Números de nós e co-ocorrências positivas e negativas encontradas ao nível de gênero na comunidade bacteriana associada à dermosfera de *E. edulis*

		Classificação	Total	Positivo	Negativo
Floresta de restinga	<i>Altamente conectado</i>	<u>Não-classificada-OTU_Otu00070</u>	14	14	0
	<i>Táxons chaves</i>	<u>Bacteroidetes-Flavobacteriia-Flavobacteriales-Flavobacteriaceae- Poriferibacter</u>	4	4	0
Floresta de terras baixas	<i>Altamente conectado</i>	<u>Proteobacteria-Alphaproteobacteria-Rhodobacterales-Rhodobacteraceae- Sulfitobacter</u>	11	11	0
	<i>Táxons chaves</i>	<u>Proteobacteria-Alphaproteobacteria-Rhodospirillales-Rhodospirillaceae- Enhydrobacter</u>	3	3	0
Floresta de montana	<i>Altamente conectado</i>	<u>Cyanobacteria-Nostocophycideae-Nostocales-Nostocaceae-<i>Microchaete</i></u>	10	10	0
	<i>Táxons chaves</i>	<u>Proteobacteria-Alphaproteobacteria-Rhizobiales-Brucellaceae-<i>Ochrobactrum</i></u>	2	0	2

Tabela 11 - Números de nós e co-ocorrências positivas e negativas encontradas ao nível de gênero na comunidade bacteriana associada à dermosfera de *G. opposita*

		Classificação	Total	Positivo	Negativo
Floresta de terras baixas	<i>Altamente conectado</i>	Firmicutes-Clostridia-Clostridiales-Lachnospiraceae-Clostridium	8	0	8
		Cyanobacteria-Oscillatoriothycideae-Chroococcales-Xenococcaceae-Chroococcidiopsis	8	8	0
		Bacteroidetes-Flavobacteriia-Flavobacteriales-Flavobacteriaceae-Flavivirga	8	0	8
		Bacteroidetes-Flavobacteriia-Flavobacteriales-Flavobacteriaceae-Flavivirga	8	0	8
		Bacteroidetes-Flavobacteriia-Flavobacteriales-Flavobacteriaceae-Flavivirga	8	0	8
	<i>Táxons chaves</i>	Proteobacteria-Alphaproteobacteria-Rhodospirillales-Rhodospirillaceae-Rhodospira	4	4	0
		Bacteroidetes-Flavobacteriia-Flavobacteriales-Flavobacteriaceae-Poriferibacter	4	4	0
Floresta de montana	<i>Altamente conectado</i>	Firmicutes-Clostridia-Clostridiales-Peptostreptococcaceae	10	0	10
	<i>Táxons chaves</i>	Proteobacteria	2	2	0

Tabela 12 - Números de nós e correlações positivas e negativas encontradas ao nível de gênero na comunidade bacteriana associada ao solo coletado embaixo da copa de *E. edulis*

		Classificação	Total	Positivo	Negativo
Floresta de restinga	<i>Altamente conectado</i>	Proteobacteria-Gammaproteobacteria-Oceanospirillales-Halomonadaceae- <i>Halomonas</i>	8	8	0
	<i>Táxons chaves</i>	Proteobacteria-Alphaproteobacteria-Rhodobacterales-Rhodobacteraceae- <i>Tropicibacter</i>	2	2	0
		Bacteroidetes-Flavobacteriia-Flavobacteriales-Flavobacteriaceae- <i>Muricola</i>	2	2	0
Floresta de terras baixas	<i>Altamente conectado</i>	Proteobacteria-Gammaproteobacteria-Xanthomonadales-Xanthomonadaceae- <i>Stenotrophomonas</i> -OTU_Otu00241	7	1	6
		Proteobacteria-Gammaproteobacteria-Xanthomonadales-Xanthomonadaceae- <i>Stenotrophomonas</i>	7	1	6
		Chloroflexi-Anaerolineae-Anaerolineales-Anaerolinaceae- <i>Thermanaerotherix</i>	7	2	5
		Proteobacteria-Gammaproteobacteria- <i>Xanthomonadales</i>	7	1	6
		Proteobacteria-Gammaproteobacteria-Xanthomonadales-Xanthomonadaceae- <i>Stenotrophomonas</i>	7	1	6
		Proteobacteria-Gammaproteobacteria-Enterobacteriales-Enterobacteriaceae- <i>Xenorhabdus</i>	7	0	7
		Proteobacteria-Gammaproteobacteria-Xanthomonadales-Xanthomonadaceae	7	1	6
	<i>Táxons chaves</i>	Actinobacteria-Actinobacteria-Actinomycetales-Tsukamurellaceae- <i>Gordonia</i>	2	2	0
		Proteobacteria-Alphaproteobacteria-Rhodospirillales-Rhodospirillaceae- <i>Rhodospira</i>	2	0	2
		Proteobacteria-Alphaproteobacteria-Rhodospirillales	2	0	2
Floresta de montana	<i>Altamente conectado</i>	Proteobacteria-Gammaproteobacteria-Enterobacteriales-Enterobacteriaceae- <i>Xenorhabdus</i>	6	6	0
	<i>Táxons chaves</i>	Firmicutes-Clostridia-Clostridiales- - <i>Clostridium</i>	2	0	2
		Actinobacteria-Actinobacteria-Actinomycetales-Streptomycetaceae- <i>Streptomyces</i>	2	0	2

Tabela 13 - Números de nós e correlações positivas e negativas encontradas ao nível de gênero na comunidade bacteriana associada ao solo coletado embaixo da copa de *G. opposita*

		Classificação	Total	Positivo	Negativo
Floresta de restinga	<i>Altamente conectado</i>	Proteobacteria-Gammaproteobacteria-Chromatiales-Chromatiaceae- <i>Isochromatium</i>	9	9	0
	<i>Táxons chaves</i>	Proteobacteria-Gammaproteobacteria-Chromatiales-Chromatiaceae- <i>Isochromatium</i> -OTU_Otu00295	3	3	0
		Firmicutes-Bacilli-Bacillales	3	3	0
Floresta de terras baixas	<i>Altamente conectado</i>	Firmicutes-Clostridia-Clostridiales-Veillonellaceae- <i>Propionispora</i>	10	6	4
	<i>Táxons chaves</i>	Proteobacteria-Alphaproteobacteria-Rhizobiales-Rhizobiaceae- <i>Sinorhizobium</i>	2	0	2
		Proteobacteria-Gammaproteobacteria-Chromatiales-Chromatiaceae- <i>Isochromatium</i>	2	2	0
Floresta de montana	<i>Altamente conectado</i>	Proteobacteria-Gammaproteobacteria-Enterobacteriales-Enterobacteriaceae- <i>Xenorhabdus</i>	10	10	0
	<i>Táxons chaves</i>	Firmicutes-Clostridia-Clostridiales- <i>Clostridium</i>	6	6	0
		Actinobacteria-Actinobacteria-Actinomycetales-Streptomycetaceae- <i>Streptomyces</i>	2	0	2
		Proteobacteria-Alphaproteobacteria-Rhodospirillales-Acetobacteraceae- <i>Gluconacetobacter</i>	2	0	2

Figura 8 - Redes de co-ocorrência no nível de filo mostrando as interações dos táxons bacterianos associados à filosfera de *E. edulis* na floresta de restinga. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões

Figura 9 - Redes de co-ocorrência no nível de filo mostrando as interações dos táxons bacterianos associados à filosfera de *E. edulis* na floresta de terras baixas. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões

Figura 10- Redes de co-ocorrência no nível de filo mostrando as interações dos táxons bacterianos associados à filosfera de *E. edulis* na floresta de montana. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões

Figura 11 - Redes de co-ocorrência no nível de filo mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à filosfera de *G. opposita* na floresta de restinga. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões

Figura 12 - Redes de co-ocorrência no nível de filo mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à filosfera de *G. opposita* na floresta de terras baixas. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões

Figura 13 - Redes de co-ocorrência no nível de filo mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à filosfera de *G. opposita* na floresta de montana. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões

Figura 14 - Redes de co-ocorrência no nível de filo mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à dermosfera de *E. edulis* na floresta de restinga. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões

Figura 15 - Redes de co-ocorrência no nível de filo mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à dermosfera de *E. edulis* na floresta de terras baixas. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões

Figura 16- Redes de co-ocorrência no nível de filo mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à dermosfera de *E. edulis* na floresta de montana. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões

Figura 17 - Redes de co-ocorrência no nível de filo mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à dermosfera de *G. opposita* na floresta de restinga. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões

Figura 18 - Redes de co-ocorrência no nível de filo mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à dermosfera de *G. opposita* na floresta de terras baixas. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões

Figura 19 - Redes de co-ocorrência no nível de filo mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à dermosfera de *G. opposita* na floresta de montana . Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões

Figura – 20 Redes de co-ocorrência no nível de filo mostrando as interações da comunidade bacteriana associada ao solo coletado embaixo da copa de *E. edulis* na floresta de restinga. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões

Figura 21 - Redes de co-ocorrência no nível de filo mostrando as interações da comunidade bacteriana associada ao solo coletado embaixo da copa de *E. edulis* na floresta de terras baixas. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões

Figura 22 - Redes de co-ocorrência no nível de filo mostrando as interações da comunidade bacteriana associada ao solo coletado embaixo da copa de *E. edulis* na floresta de montana. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões

Figura 23 - Redes de co-ocorrência no nível de filo mostrando as interações da comunidade bacteriana associada ao solo coletado embaixo da copa de *G. opposita* nas florestas de restinga. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões

Figura 24 - Redes de co-ocorrência no nível de filo mostrando as interações da comunidade bacteriana associada ao solo coletado embaixo da copa de *G. opposita* na floresta de terras baixas. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões

Figura 25 - Redes de co-ocorrência no nível de filo mostrando as interações da comunidade bacteriana associada ao solo coletado embaixo da copa de *G. opposita* na floresta de montana. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões

Figura 26 - Redes de co-ocorrência no nível de classe mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à filosfera de *E. edulis* na floresta de restinga. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho.

Figura 27 - Redes de co-ocorrência no nível de classe mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à filosfera de *E. edulis* na floresta de terras baixas. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho.

Figura 28 - Redes de co-ocorrência no nível de classe mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à filosfera de *E. edulis* na floresta de montana. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho.

Figura 30 - Redes de co-ocorrência no nível de classe mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à filosfera de *G. opposita* na floresta de terras baixas. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho.

Figura 31 - Redes de co-ocorrência no nível de classe mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à filosfera de *G. opposita* na floresta de montana. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho.

Figura 32 - Redes de co-ocorrência no nível de classe mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à dermosfera de *E. edulis* na floresta de restinga. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho.

Figura 33 - Redes de co-ocorrência no nível de classe mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à dermosfera de *E. edulis* na floresta de terras baixas. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho

Figura 34 - Redes de co-ocorrência no nível de classe mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à dermosfera de *E. edulis* na floresta de montana. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho

Figura 35 - Redes de co-ocorrência no nível de classe mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à dermosfera de *G. opposita* na floresta de terras baixas. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho

Figura 36 - Redes de co-ocorrência no nível de classe mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à dermosfera de *G. opposita* na floresta de montana. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho

Figura 37 - Redes de co-ocorrência no nível de classe mostrando as interações da comunidade bacteriana associada ao solo coletado embaixo da copa de *E. edulis* na floresta de restinga. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho

Figura 38 - Redes de co-ocorrência no nível de classe mostrando as interações da comunidade bacteriana associada ao solo coletado embaixo da copa de *E. edulis* na floresta de terras baixas. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho.

Figura 39 - Redes de co-ocorrência no nível de classe mostrando as interações da comunidade bacteriana associada ao solo coletado embaixo da copa de *E. edulis* na floresta de montana. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho

Figura 40 - Redes de co-ocorrência no nível de classe mostrando as interações da comunidade bacteriana associada ao solo coletado embaixo da copa de *G. opposita* na floresta de restinga. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho

Figura 41 - Redes de co-ocorrência no nível de classe mostrando as interações da comunidade bacteriana associada ao solo coletado embaixo da copa de *G. opposita* na floresta de montana. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões

Figura 42 - Redes de co-ocorrência no nível de gênero mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à filosfera de *E.edulis* na floresta de restinga . Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões. Roxo=Proteobacteria, Azul=Actinobacteria, Amarelo=Firmicutes, Verde=Bacteroidetes

Figura 43 - Redes de co-ocorrência no nível de gênero mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à filosfera de *E. edulis* na floresta de terras baixas. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões. Roxo=Proteobacteria, Azul=Actinobacteria, Amarelo=Firmicutes, Verde=Bacteroidetes

Figura 44 - Redes de co-ocorrência no nível de gênero mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à filosfera de *E.edulis* na floresta de montana. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões. Roxo=Proteobacteria, Azul=Actinobacteria, Amarelo=Firmicutes, Verde=Bacteroidetes

Figura 45 - Redes de co-ocorrência no nível de gênero mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à filosfera de *G. opposita* na floresta de restinga. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões. Roxo=Proteobacteria, Azul=Actinobacteria, Amarelo=Firmicutes, Verde=Bacteroidetes

Figura 46 - Redes de co-ocorrência no nível de gênero mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à filosfera de *G. opposita* na floresta de terras baixas. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões. Roxo=Proteobacteria, Azul=Actinobacteria, Amarelo=Firmicutes, Verde=Bacteroidetes

Figura 47 - Redes de co-ocorrência no nível de gênero mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à filosfera de *G. opposita* na floresta de montana. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões. Roxo=Proteobacteria, Azul=Actinobacteria, Amarelo=Firmicutes, Verde=Bacteroidetes

Figura 48 - Redes de co-ocorrência no nível de gênero mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à dermosfera de *E.edulis* na floresta de restinga . Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões. Roxo=Proteobacteria, Azul=Actinobacteria, Amarelo=Firmicutes, Verde=Bacteroidetes

Figura 49 - Redes de co-ocorrência no nível de gênero mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à dermosfera de *E. edulis* na floresta de terras baixas. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões. Roxo=Proteobacteria, Azul=Actinobacteria, Amarelo=Firmicutes, Verde=Bacteroidetes

Figura 50 - Redes de co-ocorrência no nível de gênero mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à dermosfera de *E. edulis* na floresta de montana. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões. Roxo=Proteobacteria, Azul=Actinobacteria, Amarelo=Firmicutes, Verde=Bacteroidetes

Figura 51 - Redes de co-ocorrência no nível de gênero mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à dermosfera de *G. opposita* nas florestas de terras baixas. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões. Roxo=Proteobacteria, Azul=Actinobacteria, Amarelo=Firmicutes, Verde=Bacteroidetes.

Figura 52 - Redes de co-ocorrência no nível de gênero mostrando as interações da comunidade bacteriana associada à dermosfera de *G. opposita* nas florestas de montana. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões

Figura 53 - Redes de co-ocorrência no nível de gênero mostrando as interações da comunidade bacteriana associada ao solo coletado embaixo da copa de *E. edulis* nas florestas de restinga. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões

OTU-C0.0003 OTU-C0.0023 OTU-C0.0027 OTU-C0.00211

Figura 55 - Redes de co-ocorrência no nível de gênero mostrando as interações da comunidade bacteriana associada ao solo coletado embaixo da copa de *E. edulis* na floresta de montana. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões

Figura 56 - Redes de co-ocorrência no nível de gênero mostrando as interações da comunidade bacteriana associada ao solo coletado embaixo da copa de *G. opposita* nas florestas de restinga. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões

Figura 57 - Redes de co-ocorrência no nível de gênero mostrando as interações da comunidade bacteriana associada ao solo coletado embaixo da copa de *G. opposita* na floresta de terras baixas. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões

Figura 58 - Redes de co-ocorrência no nível de gênero mostrando as interações da comunidade bacteriana associada ao solo coletado embaixo da copa de *G. opposita* na floresta de montana. Interações de co-ocorrência foram marcadas em verde e de co-exclusão em vermelho. O tamanho dos símbolos é proporcional a o número de conexões

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As estruturas das comunidades de bactérias da filosfera, dermosfera e rizosfera variaram com a espécie de planta e fisionomia da floresta. Os filos Actinobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes e Proteobacteria foram dominantes em termos de abundância relativa ao longo do gradiente altitudinal, em todos os microambientes de *E. edulis* e *G. opposita* estudados. Dentre esses, Proteobacteria destaca-se pelo fato de Gammaproteobacteria ter sido mais abundante em todos os ambientes. No entanto, Alphaproteobacteria formou mais conexões de co-ocorrência do que de exclusão mútua quando associada à *E. edulis*. O gênero *Halomonas* foi o mais abundante nas filosferas avaliadas, assim como na dermosfera. Já no solo, uma UTO afiliada ao gênero *Streptomyces* foi a mais abundante. As diferenças observadas nas estruturas das comunidade bacterianas ao longo do gradiente altitudinal mostraram que na rizosfera houve um efeito geográfico, já que a estrutura da comunidade bacteriana foi mais similar entre as plantas de um mesmo tipo de floresta do que entre tipos de florestas diferentes (posição geográficas diferentes). Explorando as redes de co-ocorrência das comunidades bacterianas em cada microambiente observa-se que no nível de UTO, cada microambiente têm diferentes táxons chaves que podem regular as interações da comunidade microbiana, e embora esses táxons chaves não sejam as UTOs mais abundantes em cada microambiente, é possível que eles desenvolvam funções metabólicas importantes que podem ser redundantes nos diferentes ambientes

REFERÊNCIAS

- AGLER, M.T.; RUHE, J.; KROLL, S.; MORHENN, C.; KIM, S.T.; WEIGEL, D.; KEMEN, E. M. Microbial Hub Taxa Link Host and Abiotic Factors to Plant Microbiome Variation. **PLoS Biology**, San Francisco, DOI:10.1371/journal.pbio.1002352, 2016.
- ANDERSON, O.R. Microbial Communities Associated with Tree Bark Foliose Lichens: A Perspective on their Microecology. **The Journal Eukaryotic Microbiology**, v. 61, p. 364–370, 2014.
- ANDRADE, M.R. **Diversidade e biogeografia de filosfera, Dermosfera e solo sob a projeção da copa de espécies árvores da Mata Atlântica**. 2007. 126 p. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.
- ANDREOTE, F.D.; GUMIERE, T.; DURRER, A. Exploring interactions of plant microbiomes. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 71, n. 6, p. 528-539, <https://dx.doi.org/10.1590/0103-9016-2014-0195>, 2014.
- ARENSKÖTTER, M.; BRÖKER, D.; STEINBÜCHEL, A. Biology of the Metabolically Diverse Genus *Gordonia*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 70, n. 6, p. 3195-3204, 2004.
- ASSIS, M.A.; PRATA, E.; PEDRONI, P.; SANCHEZ, M.; EISENLOHR, P.V.; MARTINS, F.R.; DOS SANTOS, F.A.; TAMASHIRO, J.Y.; ALVES, L.; VIEIRA, S.A.; PICCOLO, M.C.; MARTINS, S.; CAMARGO, P.B.; CARMO, J.B.; SIMÕES, E.; MARTINELLI, JOLY, C.A. Florestas de restinga e de terras baixas na planície costeira do sudeste do Brasil: vegetação e heterogeneidade ambiental. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 11, n. 2, p. 103-121, 2011.
- BADRI, D.V.; VIVANCO, J.M. Regulation and function of root exudates. **Plant, Cell & Environment**, Logan, v. 32, p. 666–681, doi:10.1111/j.1365-3040.2009.01926.x, 2009.
- BANERJEE, S.; KIRKBY, C.A.; SCHMUTTER, D.; BISSETT, A.; KIRKEGAARD, J.A.; RICHARDSON, A.E. Network analysis reveals functional redundancy and keystone taxa amongst bacterial and fungal communities during organic matter decomposition in an arable soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, 97, 188–198. 2016.
- BARBERÁN, A.; BATES S.T.; CASAMAYOR, E.O.; FIERER, N. Using network analysis to explore co-occurrence patterns in soil microbial communities. **The Isme Journal**, New York, v.6, p. 343-351, 2012.
- BATES, S.T.; CROPSEY, G.W.G.; CAPORASO, J.G. KNIGHT, R.; FIERER, N. Bacterial communities associated with 1 the lichen symbiosis. **Environmental Microbiology**, Washington, v. 77, n. 4, p. 1309-1314, 2011.
- BEATTIE, G.A.; LINDOW, S.E. Bacterial colonization of leaves: A Spectrum of strategies. **The American Phytopathological Society**, Davies, v. 89, n. 5, 1999.

BECKER, V.E. Nitrogen fixing lichens in forest of the Southern Appalachian Mountains of North Carolina. **The Briologist**, Boston, v. 83, n. 1, p. 29-39, 1980.

BERG, G.; GRUBE, M.; SCHLOETER, M.; SMALLA, K. Unraveling the plant microbiome: looking back and future perspectives, **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 5: 1-7, 2014.

BERG, G.; SMALLA, K. Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 68, p. 1-13, doi:10.1111/j.1574-6941.2009.00654.x, 2009.

BERRY, D.; WIDDER, S. Deciphering microbial interactions and detecting keystone species with co-occurrence networks. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 5, p. 219, <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2014.00219>, 2014.

BRAGINA, A.; MAIER, S.; BERG, C.; MÜLLER, H.; CHOBOT, V.; HADACEK, F.; BERG, G. Similar diversity of *Alphaproteobacteria* and nitrogenase gene amplicons on two related Sphagnum mosses. **Terrestrial Microbiology**, Aberdeen, v. 2, p. 1-10, 2011.

BRUCE, T.; MARTINEZ, I.B.; NETO, O.M.; VICENTE, A.C.P.; KRUGER, H.; THOMPSON, F. Bacterial community diversity in the Brazilian Atlantic Forest soils. **Microbial Ecology**, New York, v.60, p.840-841, 2010.

BULGARELLI D, SCHLAEPPI K, SPAEPEN S, VER LOREN VAN THEMAAT E, SCHULZE-LEFERT P. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. **Annual Review of Plant Biology**, Palo, Alto, v. 64, p.807-838, 2013.

BULGARELLI, D.; GARRIDO-OTER, R.; MÜNCH, P. C.; WEIMAN, A.; DRÖGE, J.; PAN, Y.; McHARDY, A.C.; SCHULZE-LEFERT, P. Structure and Function of the Bacterial Root Microbiota in Wild and Domesticated Barley. **Cell Host & Microbe**, Cambridge, v. 17, n. 3, p. 392–403, 2015.

BURCH, A.Y.; FINKEL, O.M.; CHO, J.K.; BELKIN, S.; LINDOW, S. Diverse Microhabitats Experienced by *Halomonas variabilis* on Salt-Secreting Leaves. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 79, n.3, p. 845-852, 2013.

CAPORASO, J.G.; KUCZYNSKI, J.; STOMBAUGH, J.; BITTINGER, K.; BUSHMAN, F.D.; COSTELLO, E.K.; FIERER, N.; GONZALEZ, A.; GOODRICH, J.K.; GORDON, J.I.; HUTTLEY G.A.; KELLEY, S.T.; KNIGHTS, D.; KOENING, J.E.; LEY, R.E.; LOZUPONE, C.A.; McDONALD, D.; MUEGGE, B.D.; PIRRUNG, M.; REEDER, J.; SEVINSKY, J.R.; TURNBAUGH, P.J.; WALTERS, W.A.; WIDMANN, J.; YATSUNENKO, T.; ZANEVELD, J.; KNIGHT, R. QIIME allows analysis of high throughput community sequencing data, **Nature Methods**, New York, v.7, p.335-336, 2010.

CARDINALE, B.J.; SRIVASTAVA, D.S.; DUFFY, J.E.; WRIGHT, J.P.; DOWNING, A.L.; SANKARAN, M.; JOUSEAU, C. Effects of biodiversity on the functioning of trophic groups and ecosystems. **Nature**, London, v. 443, p. 989-992, 2006.

CHAFFRON, S.; REHRAUER, H.; PERNTHALER, J.; VON MERING, C. A global network of coexisting microbes from environmental and whole-genome sequence data. **Genome Research**, Cold Spring, v. 20, n. 7, 947–959, 2010.

CHAPARRO, J.M.; BADRI, D.V.; BAKKER, M.G.; SUGIYAMA, A.; MANTER, D.K.; VIVANCO, J.M. Root exudation of phytochemicals in *Arabidopsis* follows specific patterns that are developmentally programmed and correlate with soil microbial functions. **PLoS One**, San Francisco, v. 8, p. e55731, 2013.

CHO, J.-C.; TIEDJE, J.M. Biogeography and degree of endemism of fluorescent *Pseudomonas* strains in soil. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 12, p. 5448–5456, 2000.

COPELAND, J.K.; YUAN, L.; LAYEGHIFARD, M.; WANG, P. W.; GUTTMAN, D. S. Seasonal community succession of the phyllosphere microbiome. **Molecular Plant-Microbe Interaction Journal**, Blacksburg, v. 28, p. 274–285, 2015.

CUMMING, G.S.; BODIN, Ö.; ERNSTSON, H.; ELMQVIST T. Network analysis in conservation biogeography: challenges and opportunities. **Diversity and Distribution**, Tempe, v. 16, p. 414–425, 2010.

CUSACK, D.F.; SILVER, W.; McDOWELL, H. Biological nitrogen fixation in two tropical forest: ecosystem-level patterns and effects of nitrogen fertilization. **Ecosystem**, Wisconsin, v.12, p. 1299-1315, 2009.

DELMOTTE, N.; KNIEF, C.; CHAFFRON, S.; INNEREBNER, G.; ROSCHITZKI, B.; SCHLAPBACH, R.; von MERING, C.; VORHOLT, J. Community proteogenomics reveals insights into the physiology of phyllosphere bacteria. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 106, p. 16428-16433, 2009.

DENG, Y.; JIANG, Y.H.; YANG, Y.; HE, Z.; LUO, F.; ZHOU, J. Molecular ecological network analyses. **BMC Bioinformatics**, London, v.13, p.1-20, 2012.

DINI-ANDREOTE, F.; SILVA, M.C.P; TRIADÓ-MARGARIT, X. CASAMAYOR, E.; VAN ELSAS, J.D.; SALLES, J.F. Dynamics of bacterial community succession in a salt marsh chronosequence: evidences for temporal niche partitioning. **The ISME Journal**, New York, v. 8, p. 1989–2001, 2014.

DeANGELIS, K.M.; BRODIE, E.L.; DESANTIS, T.Z.; ANDERSEN, G.L.; LINDOW S.E.; FIRESTONE, M.K. Selective progressive response of soil microbial community to wild oat roots. **The ISME Journal**, New York, v. 3, p. 168–178, 2009.

DINSDALE, E.A.; EDWARDS, R.A.; HALL, D.; ANGLY, F.; BREITBART, M.; BRULC, J.M.; FURLAN, M.; DESNUES, C.; HAYNES, M. LI, L.; MCDANIEL, L.; MORAN, M.A.; NELSON, K.E.; NILSSON, C.; OLSON, R.; PAUL, J.; BRITO, B.R.; RUAN, Y.; SWAN, B.K.; STEVENS, R. VALENTINE, D.L.; THURBER, R.V.; WEGLEY, L.; WHITE, B.A.; ROHWER, F. Functional metagenomic profiling of nine biomes. **Nature**, London, v. 452, p. 629-632, 2008.

DURAN-PINEDO, A.E.; PASTER, B.; TELES, R.; FRIAS-LOPEZ, J. Correlation Network Analysis Applied to Complex Biofilm Communities. **PLoS One**, San Francisco, v. 6, n. 12, p. e28438.

EILER, A.; HEINRICH, F.; BERTILSSON, S. Coherent dynamics and association networks among lake bacterioplankton taxa. **The ISME Journal**, New York, v. 6, p. 330–342, 2012.

FAORO H, ALVES AC, SOUZA EM, RIGO LU, CRUZ LM, et al. Influence of soil characteristics on the diversity of Bacteria in the southern Brazilian Atlantic forest. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.76, p. 4744–4749, 2010.

FAUST, K.; RAES, J. Microbial interactions: from networks to models **Nature Reviews Microbiology**, London, v.10, p. 538-550, 2012.

FIERER, N.; JACKSON, R.B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. **Proceedings of National Academic of Science**, Washington, v.103, p. 626-631, 2006.

FIERER, N.; BREITBART, M.; NULTON, J.; SALAMON, P.; LOZUPONE, C.; JONES, R.; ROBESON, M.; EDWARDS, R.A.; FELTS, B.; RAYHAWK, S.; KNIGHT, R.; ROHWER, F.; JACKSON, R.B. Metagenomic and Small-Subunit rRNA Analyses Reveal the Genetic Diversity of Bacteria, Archaea, Fungi, and Viruses in Soil. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 73, n. 21, p. 7059–7066, 2007.

FIERER, N.; GRANDY, A.S.; SIX, J.; PAUL, E.A. Searching for unifying principles in soil ecology. **Soil Biology & Biochemistry**, San Diego, v. 41, p. 2249-2256, 2009.

FINKEL, O.M.; BURCH, A.Y.; LINDOW, S.E.; POST, A.F.; BELKIN, S. Geographical location determines the population structure in phyllosphere microbial communities of a salt-excreting desert tree, **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 77, p. 21, p. 7647-7655, 2011.

FINKEL, O.M.; BURCH, A.Y.; ELAD, T. Distance-decay relationships partially determine diversity patterns of phyllosphere bacteria on Tamarix trees across the Sonoran Desert [corrected]. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.78, p. 6187–93, 2012.

FOSTER, J.A.; KRONE, S.M.; FORNEY, L.J. Application of ecological network theory to the human microbiome. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, Cairo, 839501, doi:10.1155/2008/839501, 2008.

FRANKLIN, R.B; MILLS, A.L. Multi-scale variation in spatial heterogeneity for microbial community structure in an eastern Virginia agricultural field. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 44, p. 335-346, doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-6496\(03\)00074-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-6496(03)00074-6), 2003.

FRITZ, Ö.; CALDIZ, M.; BRUNET, J. Interacting effects of tree characteristics on the occurrence of rare epiphytes in a Swedish beech forest area. **The Bryologist**, Boston, v. 112, p. 488–505, 2009.

FUHRMAN, J.A. Microbial community structure and its functional implications. **Nature**, London, v. 459, p. 193–199, 2009.

FURNKRANZ, M.; WANEK, W.; RICHTER, A.; ABELL, G.; RASCHE, F.; SESSITSCH, A. Nitrogen fixation by phyllosphere bacteria associated with higher plants and their colonizing epiphytes of a tropical lowland rainforest of Costa Rica. **The Isme Journal**, New York, v. 2, p. 561-570, 2008.

GRIFFITHS, B.S.; PHILIPPOT, L. Insights into the resistance and resilience of the soil microbial community. **FEMS Microbiology Reviews**, Oxford, v. 37, p. 2, 112–129, 2012.

GRUBE, M.; CARDINALE, M.; DE CASTRO, J.; MULLER, H.; BERG, GABRIELE. Species-specific structural and functional diversity of bacterial communities in lichen symbioses. **The ISME Journal**, New York, v. 3, p. 1105-1115, 2009.

HUNTER, P.J.; HAND, P.; PINK, D.; WHIPPS, J.M.; BENDING, G.D. Both leaf properties and microbe-microbe interactions influence within-species variation in bacterial population diversity and structure in the lettuce (*Lactuca* species) phyllosphere. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 76, p. 8117–8125, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVAVEIS. **Ecossistemas brasileiros: Mata Atlântica**. Brasília, 2008. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/mata_atlantica.html>. Acesso: 02 jan. 2012.

JACKSON, C.R.; DENNEY, W.C. Annual and Seasonal Variation in the Phyllosphere Bacterial Community Associated with Leaves of the Southern Magnolia (*Magnolia grandiflora*). **Microbial Ecology**, New York, 61, p. 113-122, 2011.

JANSSEN, P.H. Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.72, p. 1719-1728, 2006.

JESUS, E.; SUSILAWATI, E.; SMITH, E.; WANG, Q. CHAI, B.; FARRIS, R.; RODRIGUES, J.L.; THELEN, K.; TIEDJE, J. Bacterial communities in the rhizosphere of biofuel crops grown on marginal lands as evaluated by 16S rRNA gene pyrosequences. **Bioenergy Research**, New York, v. 3, p. 20-27, 2010.

JOLY, C.A.; MARTINELLI, L.A. A floresta inesperada. **Pesquisa FAPESP**, 154: 86-87, 2008.

JOLY, C.A.; ASIS, M.C.; BERNACCI, L.C.; TAMASHIRO, J.Y.; CAMPOS, M.C.; GOMES, J.A.M.A.; LACERDA, M.C.; SANTOS, F.A.M.; PEDRONI, F.; PEREIRA, L.S.; PADGURSCHI, M.C.G.; PRATA, E.M.B.; RAMOS, E.; TORRES, R.B.; ROCHELLE, A.; MARTINS, F.R.; ALVES, L.F.; VIEIRA, S.A.; MARTINELLI, L.A.; CAMARGO, P.B.; AIDAR, M.P.M.; EISENLOHR, P.V.; SIMÕES, E.; VILLANI, J.P.; BELINELLO, R. Florística e fitossociologia em parcelas permanentes da Mata Atlântica do sudeste do Brasil ao longo de um gradiente altitudinal. **Biotica Neotropica**, 12(1): 1-23, 2012. ISSN 1676-0603 (on-line), Disponível em: <<http://www.biotaneotropica.org.br/v12n1/pt/abstract?article+bn01812012012>>.

JONES, D.L.; HODGE, A.; KUZYAKOV, Y. Plant and mycorrhizal regulation of rhizodeposition. **New Phytologist**, London, v. 163, p. 459–480, 2004.

JONES, R.T.; ROBESON, M.S.; LAUBER, C.L.; HAMADY, M.; KNIGHT, R.; FIERER, N. A comprehensive survey of soil acidobacterial diversity using pyrosequencing and clone library analyses. **The ISME Journal**, New York, v. 3, p. 4, 442–453, 2009.

KAMKE, J.; RINKE, C.; SCHWIENTEK, P.; MAVROMATIS K.; IVANOVA N.; SCZYRBA A.; WOYKE, T.; HENTSCHEL, U. The candidate phylum Poribacteria by single-cell genomics: new insights into phylogeny, cell-compartmentation, eukaryote-like repeat proteins, and other genomic features. **PLoS One**, San Francisco, v. 9, n. 1, e87353, doi: 10.1371/journal.pone.0087353, 2014.

KAYE, J.Z.; SYLVAN, J.B.; EDWARDS, K.J.; BAROSS, J.A. *Halomonas* and *Marinobacter* ecotypes from hydrothermal vent, seafloor and deep-sea environments. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 75, p. 123-133, 2011.

KEMBEL, S.W.; O'CONNOR, T.K.; ARNOLD, H.K.; HUBBELL, S.P.; S. WRIGHT, J.; GREEN, J.L. Relationships between phyllosphere bacterial communities and plant functional traits in a neotropical forest. **Proceedings of National Academic of Science**, Washington, v. 111, n. 38, p. 13715-13720, 2014.

KENEDY, A.C.; SMITH, K.L. Soil microbial diversity and the sustainability of agriculture soils. *Plant Soil*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.170, n. 1, p. 75-86, 1995.

KIM, M.; SINGH, D.; LAI-HOE, A.; GO, R.; RAHIM, R.A.; AINUDDIN, A.N.; CHUN, J.; ADAMS, J.M. Distinctive phyllosphere bacterial communities in tropical trees. **Microbial Ecology**, New York, 63: 674-681, 2012.

KIRK, J.L.; BEAUDETTE, L.E.; HART, M.; MOUTOGLIS, P.; KLIRONOMOS, J.N.; LEE, H.; TREVORS, J.T. Methods of studying soil microbial diversity. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v.58, p.169-188, 2004.

LAMBAIS, M.R.; CROWLEY, D.E.; CURY, J.C.; BULL, R.C.; RODRIGUES, R.R. Bacterial diversity in tree canopies of the Atlantic Forest. **Science**, Washington, p. 312-1917, 2006.

LAMBAIS, M. R.; LUCHETA, A. R.; CROWLEY, D. E. Bacterial Community Assemblages Associated with the Phyllosphere, Dermosphere, and Rhizosphere of Tree Species of the Atlantic Forest are Host Taxon Dependent. **Microbial Ecology**, New York, p. 567–574, doi:10.1007/s00248-014-0433-2, 2014.

LARSEN, P.E.; FIELD, D.; GILBERT, J.A. Predicting bacterial community assemblages using an artificial neural network approach. **Nature Methods**, New York, v. 9, p.621-627, 2012.

LAUBER, C.; STRICKLAND, M.S.; BRADFORD, M.A.; FIERER, N. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use-types. **Soil biology and biochemistry**, Oxford, v.40, p. 2407–2415. 2008.

LEBEIS, S.L. Greater than the sum of their parts: characterizing plant microbiomes at the community-level, **Current Opinion in Plant Biology**, New York, v. 24, p. 82-86, 2015.

LEFF, J.W.; TREDICI, P.; FRIEDMAN, W.E; FIERER, N. Spatial structuring of bacterial communities within individual Ginkgo biloba trees **Environmental Microbiology**, Washington, v. 17, n.7, p. 2352–2361, 2015.

LEWINSOHN, T.M.; CAGNOLO, L. Keystones in a tangled bank. **Science**, Washington, v. 335, p. 1449-1451, 2012.

LEY, R.E.; HAMADY, M.; LOZUPONE, C.; TURNBAUGH, P.; RAMEY, R. R.; BIRCHER, J. S., SCHLEGEL, M.L.; TUCKER, T.T; SCHRENZEL, M.D.; KNIGHT, R; GORDON, J.I. Evolution of mammals and their gut microbes. **Science**, New York, v. 320, n. 5883, p. 1647–1651. 2008.

LIMA, J. **Diversidade de bactéria e Achaia em solos de mata atlântica no Estado de São Paulo**. 83 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

LIMA-PERIM, J.E.; ROMAGNOLI, E.M.; DINI-ANDREOTE, F.; DURRER, A.; CAVALCANTE, A.F.D; ANDREOTE, F.D. Linking the composition of bacterial and archaeal communities to characteristics of soil and flora composition in the atlantic rainforest. **PloS One**, San Francisco, v. 11, n. 1 e0146566, doi:10.1371/journal.pone.0146566, 2016.

LINDOW, S.E.; BRANDL, M.T. Microbiology of the Phyllosphere. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 69, p. 4, 1875–188, 2003.

LUNDBERG, D.S.; LEBEIS, S.L.; PAREDES, S.H.; YOURSTONE, S.; GEHRING, J.; MALFATTI, S.; TREMBLAY, J.; ENGELBREKTSON, A.; KUNIN, V.; GLAVINA DEL RIO, T.; EDGAR, R.C.; EICKHORST, T.; LEY, R.E.; HUGENHOLTZ, P.; TRINGE,

S.G.; DANGL, J.L. Defining the core *Arabidopsis thaliana* root microbiome. **Nature**, London, v. 488, n. 7409, p. 86–90, 2012.

LUO, J.; BAI, Y.; LIANG, J.; QU, J. Metagenomic Approach Reveals Variation of Microbes with Arsenic and Antimony Metabolism Genes from Highly Contaminated Soil. **PloS One**, San Francisco, v. 9, n. 10, e108185, 2014a.

LUPATINI, M.; SULEIMAN, A.; JACQUES, R.; ANTONIOLLI, Z.; FERREIRA, A.; KURAMAE, E.; ROESCH, L.F.W. Network topology reveals high connectance level and few key microbial genera within soils. **Frontiers in Environmental Science**, Lausanne, v.2, p.1-11, 2014.

LUVIZOTTO, D.M.; MARCON, J.; ANDREOTE, F.D.; DINI-ANDREOTE, F.; NEVES, A.A.C.; ARAÚJO, W.L.; PIZZIRANI-KLEINER, A.A. Genetic diversity and plant-growth related features of *Burkholderia* spp. from sugarcane roots. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 26, p. 1829-1836, 2010.

MA, B.; WANG, H.; DSOUZA, M.; LOU, J.; HE, Y.; DAI, Z.; BROOKES, P.C.; XU, J.; GILBERT, J.A. Geographic patterns of co-occurrence network topological features for soil microbiota at continental scale in eastern China. **The ISME Journal**, New York, v. 10, p. 1891-1901, 2016.

MADSEN E.L. Microorganisms and their roles in fundamental biogeochemical cycles. **Current Opinion in Biotechnology**, Madrid, v. 22, n. 3, p. 456-64, 2011.

MANIA, L.F.; MONTEIRO, R. Florística e ecologia de epífitas vasculares em um fragmento de floresta de restinga, Ubatuba, SP, Brasil. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v.61, p 705-713, 2010.

MADSEN, E.L. Microorganisms and their roles in fundamental biogeochemical cycles. **Current Opinion in Biotechnology**, New York, v. 22, n. 3, p. 456-464, 2011.

MARTINS, S.C. **Caracterização dos solos e serrapilheira ao longo do gradiente altitudinal da Mata Atlântica, Estado de São Paulo**. 155 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

MARTINS, G.; LAUGA, B.; MIOT-SERTIER, C.; MERCIER, A.; LONVAUD, A.; SOULAS, M-L, MASNEUF-POMARÈDE, I. Characterization of Epiphytic Bacterial Communities from Grapes, Leaves, Bark and Soil of Grapevine Plants Grown, and Their Relations. **PloS One**, San Francisco, v. 8, n. 8, e73013, doi:10.1371/journal.pone.0073013, 2013.

MATA, J.A.; MARTINEZ-CANOVAS, J.; QUESADA, E.; BÉJAR V. A detailed phenotypic characterisation of the type strains of *Halomonas* species. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 25, p. 360–375, 2002.

MATOS, D.M.; WATKINSON, A.R. The fecundity, seed, and seedling ecology of the edible palm *Euterpe edulis* in southeastern Brazil. **Biotropica**, Malden, v.4, p. 595-603, 1998.

MATOS, E.R. **Diversidade e biogeografia de fungos no solo sob a projeção da copa de espécies arbóreas da Mata Atlântica**. 2010. 93 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, 2010.

MENDES, L.W.; KURAMAE, E.E.; NAVARRETE, A.A.; VAN VEEN, J.A.; TSAI, S.M. Taxonomical and functional microbial community selection in soybean rhizosphere. **The ISME Journal**, New York, v.8, p. 1577–1587, 2014.

MENDES, L.W.; TSAI, S.M.; NAVARRETE, A.A. HOLLANDER, M.; VAN VEEN, J.A.; KURAMAE, E.E. Soil-Borne microbiome: Linking Diversity to function. **Microbial Ecology**, New York, v. 70, p. 255. doi:10.1007/s00248-014-0559-2, 2015.

MENDES, R.; KRUIJT, M.; BRUIJN, I.; DEKKERS, E.; VOORT, M. VAN DER; SCHNEIDER, J.H.M; PICENO, Y.M.; SANTIS, T.Z.; ANDERSEN, G.L.; BAKKER, P.A.H.M.; RAAIJMAKERS, J.M. Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. **Science**, Washington, v. 332, p. 1097-1100, 2011.

MENG, H.; KE, L.; NIE, M. WAN, I.R.; QUAN, Z.X.; FANG, C.M.; CHEN, J.K.; GU, J.D.; LI, B. Responses of bacterial and fungal communities to an elevation gradient in a subtropical montane forest of China. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 97, p. 2219–2230, 2013.

MILICI, M.; TOMASCH, J.; WOS-OXLEY, M.L. DECELLE, J.; JÁUREGUI, R.; WANG, H.; DENG, Z.L.; PLUMEIER, I. GIEBEL, H.A.; BADEWIEN, T.H.; WURST, MASCHA, P.; DIETMAR, H.; SIMON, M.; WAGNER-DÖBLER, I. Bacterioplankton biogeography of the Atlantic ocean: A case study of the Distance-Decay relationship. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 7, <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2016.00590>, 2016.

MITTERMEIER, R.; da FONSECA, G.A.B.; RYLANDS, A.B. BRANDON, K. A. Brief History of Biodiversity Conservation in Brazil. **Conservation Biology**, v. 19, n. 3, p. 1523-1739, 2005.

MONTENEGRO, S. **Diversidade de bactérias diazotróficas e fixação biológica do nitrogênio na Mata Atlântica**. 112 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

MONTOYA, J.M; PIMM, S.L.; SOLÉ, R.V. Ecological networks and their fragility. **Nature**, London, v.442, p. 259-264, 2006.

MORELLATO, P.; TALORA, D.C.; TAKAHASI, A.; BENCKE, C.C.; ROMERA, E.C.; ZIPPARRO, V.P. Phenology of Atlantic Rain forest trees: a comparative study. **Biotropica**, Malden, v.324, p. 811–823, 2000.

MÜLLER, T.; RUPPEL, S. Progress in cultivation-independent phyllosphere microbiology. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 87, p. 2–17, 2014.
 MYERS, N.; MITTERMEIER, R.A.; MITTERMEIER, C.G.; FONSECA, G.A.B. da; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, London, V.43, p. 853-858, 2000.

NACKE, H.; THURMER, A.; WOLLHERR, A.; WILL, C.; HODAC, L.; HEROLD, N.; SCHONING, I.; SCHRUMPF, M.; DANIEL, R. Pyrosequencing-based assessment of bacterial community structure along different management types in German forest and grassland soils. **Plos One**, San Francisco, v.6, p. e17000, 2011.

NARDELLI, N. **Diversidade de cianobacterias na filosfera da mata atlântica do Estado de São Paulo**. 86 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

NAVARRETE, A.A.; KURAMAE, E.E.; DE HOLLANDER, M.; PIJL, A.S.; VAN VEEN, J.A.; TSAI, S.M. Acidobacterial community responses to agricultural management of soybean in Amazon forest soils. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 83, n. 3, 607-621, 2013.

NAZIR, R.; WARMINK, J.A.; BOERSMA, H.; ELSAS, J.D. Mechanisms that promote bacterial fitness in fungal-affected soil microhabitats. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v.71, p. 169-185, 2010.

NEWMAN, M.E.J. The structure and function of complex networks. **SIAM review. Society for Industrial and Applied Mathematics**, Philadelphia, p.45, p.167-256, 2003.

NIHORIMBERE, V.; ONGENA, M.; SMARGIASSI, M.; THONART, P. Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant growth and health. **Biotechnologie Agronomie Société Environnement**, Gembloux, v. 15, n. 2, p. 327–337, 2011.

PALMQVIST, K.; SUNDEBERG, B. Light use efficiency of dry matter gain in five macro-lichens: relative impact of microclimate conditions and species-specific traits. **Plant, Cell and Environment**, New York, v. 23, p. 1-14, 2000.

PARKS, D.H.; TYSON, G.W.; HUGENHOLTZ, P.; BEIKO, R.G. STAMP: statistical analysis of taxonomic and functional profiles. **Bioinformatics**, Oxford, v. 30, n. 21, p. 3123–3124, 2014.

PASSMORE, H.A.; BRUNA, E.M.; HEREDIA, S.M.; VASCONCELOS, H.L. Resilient Networks of Ant-Plant Mutualists in Amazonian Forest Fragments. **PloS ONE**, San Francisco 7, 2012.

PEREIRA, R.M.; SILVEIRA, E.L. SCAQUITTO, D.C. PEDRINHO, E.A.N; VAL-MORAES, S.P.; WICKERT, E.; CARARETO-ALVES, L.M.; LEMOS, E.G.M. Molecular characterization of bacterial populations of different soils. **Brazilian Journal of Microbiology**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 4, 439–447, 2006.

PIETERSE C.M.; VAN DER DOES D.; ZAMIOUDIS C.; LEON-REYES A.; VAN WEES S.C. Hormonal modulation of plant immunity. **Annual Reviews Cell and Developmental Biology**, Palo Alto, v. 28, p. 489–521, 2012.

PHILIPPOT, L.; RAAIJMAKERS, J.M. LEMANCEAU, P.; van der PUTTEN, W. H. **Nature Reviews Microbiology**, London, 11, n. 11, p. 789-799, 2013.

POCOCK, M.J.O.; EVANS, D.M.; MEMMOTT, J. The robustness and restoration of a network of ecological networks. **Science**, Washington, v. 335, p. 973–977, 2012.

POISOT, T.; CANARD, E.; MOUQUET, N.; HOCHBERG M. E. A comparative study of ecological specialization estimators. **Methods in Ecology and Evolution**, Sheffield, v. 3, p. 537–544, 2012.

POOMTHONGDEE, N.; DUANGMAL, K.; PATHOM-AREE, W. Acidophilic actinomycetes from rhizosphere soil: diversity and properties beneficial to plants. **The Journal of Antibiotics**, London, v. 68, p. 106-114, 2015.

PROULX, S.R. PROMISLOW D.E.; PHILLIPS, P.C. Network thinking in ecology and evolution. **Trends in Ecology and Evolution**, London, v. 20, p.345-353.2005.

RAFRAFI, Y.; TRABLY, E.; HAMELIN, J.; LATRILLE, E.; MEYNIAL-SALLES, I.; BENOMAR, S.; GIUDICI-ORTICONI, M.T.; STEYER, J.P. Sub-dominant bacteria as keystone species in microbial communities producing biohydrogen. **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v. 38, p. 4975–4985, 2013.

REDFORD, A.; BOWERS, R.M.; KNIGHT, R.; LINHART, Y.; FIERER, N. The ecology of the phyllosphere: geographic and phylogenetic variability in the distribution of bacteria on tree leaves. **Environmental microbiology**, Oxford, v. 12, n. 11, p. 2885-2893, 2010.

REDFORD, A.J.; FIERER, N. Bacterial succession on the leaf surface: A novel system for studying successional dynamics. **Microbial Ecology**, New York, v. 58, p. 189-198, 2009.

REIS, M.S.; FANTINI, A.C.; NODARI, R.O.; GUERRA, M.P.; REIS, A. Sustainable yield management of *Euterpe edulis* Martius (Palmae): a tropical palm tree from the Atlantic Tropical Forest – Brazil **Journal of Sustainable Forestry**, New Haven, v.11, p. 1–17, 2000.

RE-JORGE, L. **Plasticidade fenotípica e herbivoria na uvira, *Guapira opposita* (Nyctaginaceae) em ambiente de duna e restinga.** Disponível em: <http://ecologia.ib.usp.br/curso/2007/pdf/individuais/l_leonardo_re_jorge.pdf>. Acesso em: 15 jan. 2012.

REMUS-EMSERMANN, M.N.P.; TECON, R.; KOWALCHUK, G.A.; LEVEAU, J.H.J. Variation in local carrying capacity and the individual fate of bacterial colonizers in the phyllosphere. **The Isme Journal**, New York, v.6, p.756-765, 2012.

REMUS-EMSERMANN, M.N.P.; VORHOLT, J.A. Complexities of Microbial Life on Leaf Surfaces. **Microbe Magazine**, Washington, v. 9, n. 11, p. 448-452, 2014.

RIBEIRO, M.C.; METZGER, J.P.; MARTENSEN, A.C.; PONZONI, F.J.; HIROTA, M.M. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, New York, v.142, p.1141-1153, 2009.

ROESCH, L.F.W.; FULTHORPE, R.R.; JACQUES, R.; BENTO, F.; CAMARGO, F.A. Biogeography of diazotrophic bacteria in soils. **World Journal Microbiology of Biotechnology**, Oxford, v.26, p.1503-1508, 2010.

ROESCH, L.F.W.; FULTHORPE, R.R.; RIVA, A.; CASELLA, G.; HADWIN, A.K.M.; KENT, A.D.; DAROUB, S.H. CAMARGO, F.A.O.;FARMERIE, W.G.;TRIPLETT, E.W. Pyrosequencing enumerates and contrast soil microbial diversity. **The Isme Journal**, New York, v.1, p.283-290, 2007.

RODRIGUES, J. L.; PELLIZARI, V. H.; MULLER, R.; BAEK, K.; JESUS, E. D. C.; PAULA, S. F. Conversion of the Amazon rainforest to agriculture results in biotic homogenization of soil bacteria communities. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.10, p.49, 2013.

ROMAGNOLI, N. **Diversidade e abundância de fixadores de N de vida livre e micro-organismos amônio-oxidantes em solos de mata atlântica do Estado de São Paulo**. 2012. 76 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

ROSADO, B.H.P. **Ecologia Funcional de Árvores da Mata Atlântica: O Papel de Atributos Morfológicos, Grau de Exposição da Copa e Altitude sobre o Uso de Água das Espécies**. 2011. 163p. Tese (Doutorado em Biologia) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

ROSADO, B.H.P.; JOLY C.A.; BURGESS, S. S. O.; OLIVEIRA, R.S.; AIDAR, M.P.M. Changes in plant functional traits and water use in Atlantic rainforest: evidence of conservative water use in spatio-temporal scales. **Trees**, Berlin, v. 30, p. 47–61, 2016.

RUIZ, W.F. **Biogeografia de bactérias da filosfera de *Maytenus robusta* na Mata Atlântica**. 2010. 108p. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

SANTOS, M.; FERMINO, P.C.P.; VAILATI, M.G.; PAULILO, M.T.S. Aspectos estruturais de folhas de indivíduos de *Guapira opposita* (Vell) Reitz (Nyctaginaceae) Ocorrentes em restinga e na Floresta Ombrófila Densa Revista de Botânica, **Journal of Botany INSULA**, Florianópolis, n. 39, p. 59-78. 2010.

SANTOS, E.C.; ARMAS, E.D.; CROWLEY, D.; LAMBAIS, MR. Artificial neural network modeling of microbial community structures in the Atlantic Forest of Brazil. **Soil biology & biochemistry**, Oxford, v.69, p.101-109, 2014.

SCHLAEPPI, K.; BULGARELLI, D. The plant microbiome at work. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, Saint Paul, v. 28, p.212-217, 2015.

SCHLOSS, P.D.; WESTCOT, S.L.; RYABIN, T.; HALL, J.R.; HARTMANN, M.; HOLLISTER, E.B. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 75, p. 7537-7541, 2009.

SHI, J.Y.; YUAN, X.F.; LIN, H.R.; YANG, Y.Q.; LI, Z.Y. Differences in soil properties and bacterial communities between the rhizosphere and bulk soil and among different production areas of the medicinal plant *Fritillaria thunbergii*. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 12, p. 3770-3785, 2011.

SILES, J.A.; MARGESIN, R. Abundance and Diversity of Bacterial, Archaeal, and Fungal Communities Along an Altitudinal Gradient in Alpine Forest Soils: What Are the Driving Factors? **Microbial Ecology**, New York, v. 72, p. 207-220, 2016.

SORENSEN, P.B.; DAMAGAARD, C.F.; STRANDBERG, B.; DUPONT, Y.L.; PEDERSON, M.B.; CARVALHEIRO, L.G.; BIESMEIJER, J.C.; OLSEN, J.M.; HAGEN, M.; POTTS, S.G. A method for under-sampled ecological network data analysis: plant-pollination as case study. **Journal of Pollination Ecology**, Ontario, v. 6, p. 129–139, 2011.

SOROKIN, D.Y.; KUENEN, J.G.; MUYZER, G. The Microbial Sulfur Cycle at Extremely Haloalkaline Conditions of Soda Lakes. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 2, 44, doi:10.3389/fmicb.2011.00044, 2011.

STACHOWICZ, J. Mutualism, Facilitation, and the Structure of Ecological Communities, **BioScience**, Oxford, v. 51, n. 3, p. 235-246, 2001.

STEELE, J.A.; COUNTWAY, P.D.; XIA, L.; VIGIL, P.D.; BEMAN, J.M.; KIM, D.; CHOW, C.T.; SACHDEVA, R.; JONES, A.C; SCHWALBACH, M.S.; ROSE, J.; HEWSON, I.; PATEL, A.; SUN, F.; CARON, D.A.; FUHRMAN, J.A. Marine bacterial, archaeal and protistan association networks reveal ecological linkages, **The ISME Journal**, New York 5: 1414-1425, 2011.

STANDING, D.B.; KILLHAM, K. Soil as a microbial habitat. In: Van Elsas, D.; Jansson, J.; Trevors, J.T. (eds) **Modern soil microbiology**, 2nd ed. Taylor & Francis, New York, pp 1–22, 2006.

TARHANEN, S. Ultrastructural Responses of the Lichen *Bryoria fuscescens* to Simulated Acid Rain and Heavy Metal Deposition. **Annals of Botany**, Oxford, v. 82, p. 735–746, 1998.

TROSVIK, P.; MUINCK, J.E. Ecology of bacteria in the human gastrointestinal tract—identification of keystone and foundation taxa, **Microbiome**, London, v. **3**, p. 44, doi: 10.1186/s40168-015-0107-4, 2015.

TURNER, T.; JAMES, E.; POOLE, P. The plant microbiome. **Genome Biology**, London, v.14, p.209, 2013.

VAN DER HEIJDEN, M.G.A; HARTMANN, M. Networking in the Plant. **PLOS Biology**, DOI:10.1371/journal.pbio.1002378, 2016.

VELOSO, H.P.; RANGEL FILHO, A.L.R.; LIMA, J.C.A. Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal. **IBGE**, Rio de Janeiro. 1991.

VORHOLT, J. Microbial life in the phyllosphere. **Nature**, London, v.10, p. 828-840, 2012.

WARD, N.; CHALLACOMBE, J. et al. Three genomes from the phylum Acidobacteria provide insight into the lifestyles of these microorganisms in soils. **Applied and Environmental Microbiology**, New York, v. 75, p. 2046-2056, 2009.

WANG, Q.; GARRITY, G. M.; TIEDJE, J. M.; COLE, J. R. Naïve Bayesian Classifier for Rapid Assignment of rRNA Sequences into the New Bacterial Taxonomy **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 73, p. 16, 5261–5267, 2007.

WELLER, D.M.; RAAIJMAKERS, J.M.; MCSPADDEN GARDNER, B.B.; THOMASHOW, L.S. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 40, p. 308–348, 2002.

WELLER, D.M. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 26, p 279-407, 1988.

WHIPPS, J.M.; HAND, P.; PINK, D.; BENDING, G.D. Phyllosphere microbiology with special reference to diversity and plant genotype. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v.105, p.1744-1755, 2008.

WILL, C.; THURMER, A.; WOLLHERR, A.; NACKE, H.; HEROLD, N.; SCHRUMPF, M.; GUTKNECHT, J.; WUBET, T.; BUSCOT, F.; DANIEL, R. Horizon-Specific Bacterial Community Composition of German Grassland Soils, as Revealed by Pyrosequencing-Based Analysis of 16S rRNA Genes. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.76, p.6751–6759, 2010.

WILLIAMS, R.J.; HOWE, A.; HOFMOCKEL, K.S. Demonstrating microbial co-occurrence pattern analyses within and between ecosystems. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 5, p. 358, 2014.

XU, L.; MYNENI, R.B.; CHAPIN III, F.S.; CALLAGHAN, T.V.; PINZON, J.E.; TUCKER, C.J.; ZHU, Z.; BI, J.; CIAIS, P.; TOMMERVIK, H.; EUSKIRCHEN, E.S.; FORBES, B.C.; PIAO, S.L.; ANDERSON, B.T.; GANGULY, S.; NEMANI, R.R.; GOETZ, S.J.; BECK, P.S.A.; BUNN, A.G.; CAO, C.; STROEVE, J.C. Temperature

and vegetation seasonality diminishment over northern lands. **Nature Climate Change**, London, v. 3, p. 581-586, 2013.

YANG, J.; KLOEPPER, J.W.; RYU C.-M. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. **Trends in Ecology & Evolution**, London, v. 14, p. 1–4, 2009.

ZANELATO, D. **A alocação de biomassa entre parte aérea e raízes de *Euterpe edulis* (arecaceae) depende da disponibilidade de nutrientes?** Disponível em: <<http://ecologia.ib.usp.br/curso/2010/pages/pdf/PI/relatorios/Daniela.pdf>>. Acesso em: 15 jan. 2012.

ZHANG, X.; LIU, W.; SCHLOTTER, M.; ZHANG, G.; CHEN, Q.; HUANG, J.; LI, L.; ELSER, J.J.; HAN, X. Response of the abundance of key soil microbial nitrogen-cycling genes to multi-factorial global changes. **PloS ONE**, San Francisco, v. 8, e76500, doi: 10.1371/journal.pone.0076500, 2013.

ZHOU, J.; DENG, Y.; LUO, F.; HE, Z.; TU, Q.; ZHI, X. Functional molecular ecological networks. **mBIO**, Washington, v.1, p. e00169-10, 2010.

ANEXOS

Anexo A

Figura A1 - Parcela A Floresta de Restinga

Figura A2 - Parcela E Floresta de Terras Baixas

Figura A3 -Parcela N Floresta de Montana

Anexo B1 - Iniciadores diretos usados na PCR junto com a sequência adaptadora e a sequência *tag* (JESUS et al., 2010)

	Adaptador	Tag	Iniciador
520F-Mid1	CGTATCGCCTCCCTCGCGCCATCAG	AGAGAGAG	AYTGGGYDTAAAGNG
520F-Mid2	CGTATCGCCTCCCTCGCGCCATCAG	ATGAGAGC	AYTGGGYDTAAAGNG
520F-Mid3	CGTATCGCCTCCCTCGCGCCATCAG	CATCTCTG	AYTGGGYDTAAAGNG
520F-Mid4	CGTATCGCCTCCCTCGCGCCATCAG	AGCATGAG	AYTGGGYDTAAAGNG
520F-Mid5	CGTATCGCCTCCCTCGCGCCATCAG	CAGAGAGC	AYTGGGYDTAAAGNG
520F-Mid6	CGTATCGCCTCCCTCGCGCCATCAG	ATCAGATC	AYTGGGYDTAAAGNG
520F-Mid7	CGTATCGCCTCCCTCGCGCCATCAG	CTCAGCAG	AYTGGGYDTAAAGNG
520F-Mid8	CGTATCGCCTCCCTCGCGCCATCAG	AGATCATC	AYTGGGYDTAAAGNG
520F-Mid9	CGTATCGCCTCCCTCGCGCCATCAG	ATGCTCTC	AYTGGGYDTAAAGNG
520F-Mid10	CGTATCGCCTCCCTCGCGCCATCAG	AGCAGAGC	AYTGGGYDTAAAGNG
520F-Mid11	CGTATCGCCTCCCTCGCGCCATCAG	CATGCATG	AYTGGGYDTAAAGNG
520F-Mid12	CGTATCGCCTCCCTCGCGCCATCAG	CTGAGCTG	AYTGGGYDTAAAGNG

Anexo B2 - Iniciadores reversos usados na PCR junto com a sequência adaptadora (JESUS et al., 2010)

	Adaptador	Iniciadores
820R-1	CTATGCGCCTTGCCAGCCCGCTCAG	TACCRGGGTHTCTAATCC
820R-2	CTATGCGCCTTGCCAGCCCGCTCAG	TACCAGAGTATCTAATTC
820R-3	CTATGCGCCTTGCCAGCCCGCTCAG	CTACDSRGGTMTCTAATC
820R-4	CTATGCGCCTTGCCAGCCCGCTCAG	TACNVGGGTATCTAATCC

Anexo C – Diagrama de Venn mostrando o número de UTOs compartilhadas na filosfera (A), dermosfera (B) e rizosfera (C) de *E. edulis* e *G. opposita*, para a floresta de restinga, terras baixas e montana

Anexo D1 - Filosfera Gradiente Kruskal-Wallis

G. opposita		
Filo	Genero	p-values (corrected)
	<i>magnetite-containing</i>	0,038250134
	<i>Mycoplasma</i>	0,043805904
	<i>Ochrobactrum</i>	0,048133623
	<i>Parvopolyspora</i>	0,044010084
	<i>Rhodospira</i>	0,044536935
E. edulis		
Filo	Genero	p-values (corrected)
	<i>Clostridium</i>	0,016981607
	<i>Colwellia</i>	0,047393705
	<i>Entomoplasma</i>	0,025077647
	<i>Virgibacillus</i>	0,045886446

Anexo D2- Lista de gêneros com diferenças estatisticamente significativas na rizosfera de *E. edulis* e *G. opposita* ao longo do gradiente altitudinal.

(continua)

<i>G. opposita</i>	Genero	p-values (corrigidos)
	<i>Acidovorax</i>	0,029273496
	<i>Actinomyces</i>	0,025153148
	<i>Algoriphagus</i>	0,048544384
	<i>Anaerobacillus</i>	0,026710649
	<i>Arthrobacter</i>	0,024199125
	<i>Cellulophaga</i>	0,028765402
	<i>Chelativorans</i>	0,021320716
	<i>Chitinibacter</i>	0,025752338
	<i>Chromohalobacter</i>	0,028344002
	<i>Chroococcidiopsis</i>	0,031077693
	<i>Citricoccus</i>	0,026768712
	<i>Clostridium</i>	0,022843417
	<i>Colwellia</i>	0,040000486
	<i>Desulfovibrio</i>	0,02182542
	<i>Echinicola</i>	0,022189465
	<i>Fulvibacter</i>	0,049124732
	<i>Gordonia</i>	0,027345905
	<i>Kineosphaera</i>	0,045439555
	<i>Lysinibacillus</i>	0,018560557
	<i>Magnetananas</i>	0,029596702
	<i>magnetite-containing</i>	0,026882945
	<i>Maribaculum</i>	0,028188048
	<i>Nonomuraea</i>	0,039048021
	<i>Ochrobactrum</i>	0,02727076
	<i>Pasteuria</i>	0,045856671
	<i>Pseudomonas</i>	0,026771488
	<i>Rhodospira</i>	0,02836677
	<i>Rhodothermus</i>	0,040361513
	<i>Ruegeria</i>	0,02180452
	<i>Serinicoccus</i>	0,047927524
	<i>Sinorhizobium</i>	0,021030163
	<i>Sporosarcina</i>	0,028117542
	<i>Stella</i>	0,04765158
	<i>Streptomyces</i>	0,022647137
	<i>Syntrophococcus</i>	0,027279835
	<i>Syntrophorhabdus</i>	0,02396057
	<i>Thermanaerotherix</i>	0,023145658
	<i>Thermodesulfatator</i>	0,026332208
	<i>Thermodesulfobium</i>	0,026577176
	<i>Thioalkalivibrio</i>	0,039479601

(continuação)

	<i>Xenorhabdus</i>	0,040579864
	<i>Zimmermannella</i>	0,027180089
	<i>Zobellia</i>	0,025076762
<i>E. edulis</i>	Genero	p-values (corrigidos)
	<i>Acidovorax</i>	0,000641531
	<i>Actinomyces</i>	0,001407836
	<i>Aeromonas</i>	0,020556011
	<i>Algoriphagus</i>	0,016123371
	<i>Alicyclobacillus</i>	0,041244737
	<i>Anaerobacillus</i>	0,001460413
	<i>Aquamonas</i>	0,017136904
	<i>Aquimarina</i>	0,020907252
	<i>Arthrobacter</i>	0,000103906
	<i>Cellulophaga</i>	0,001029062
	<i>Chelativorans</i>	0,000238202
	<i>Chitinibacter</i>	0,000440645
	<i>Chromohalobacter</i>	4,29E-05
	<i>Citricoccus</i>	0,000127797
	<i>Clostridium</i>	0,000113964
	<i>Colwellia</i>	0,005096091
	<i>Curvibacter</i>	0,040829822
	<i>Desulfopila</i>	0,004016851
	<i>Desulfovibrio</i>	0,000103594
	<i>Dethiosulfovibrio</i>	0,00196337
	<i>Echinicola</i>	0,009344146
	<i>Endowatersipora</i>	0,016993437
	<i>Fulvibacter</i>	0,000641711
	<i>Gordonia</i>	0,016045756
	<i>Hermiimonas</i>	0,046198059
	<i>Isochromatium</i>	0,027625075
	<i>Kutzneria</i>	0,011666021
	<i>Lysinibacillus</i>	0,000113648
	<i>Magnetananas</i>	0,001621869
	<i>magnetite-containing</i>	0,001951916
	<i>Maribaculum</i>	8,16E-05
	<i>Marmoricola</i>	0,019011886
	<i>Massilia</i>	0,012318703
	<i>Microlunatus</i>	0,005375916
	<i>Muricola</i>	0,002264265
	<i>Natronocella</i>	0,014956401
	<i>Nocardiosis</i>	0,002266164
	<i>Nonomuraea</i>	0,009375552

	(conclusão)
<i>Ochrobactrum</i>	0,0016
<i>Pasteuria</i>	0,001017555
<i>Poriferibacter</i>	0,042733514
<i>Porticoccus</i>	0,00360627
<i>Pseudoalteromonas</i>	0,045801456
<i>Pseudomonas</i>	9,46E-05
<i>Psychrobacter</i>	0,003635333
<i>Rheinheimera</i>	0,014159382
<i>Rhodospira</i>	0,032285707
<i>Ruegeria</i>	0,009345963
<i>Singulisphaera</i>	0,020812368
<i>Sinorhizobium</i>	9,22E-05
<i>slope</i>	0,005470075
<i>Smaragdicoccus</i>	0,015199922
<i>Spongiispira</i>	0,014245074
<i>Sporosarcina</i>	0,004530345
<i>Stella</i>	0,03616703
<i>Stenotrophomonas</i>	0,047735843
<i>Streptococcus</i>	0,012406601
<i>Streptomyces</i>	8,47E-05
<i>Succinimonas</i>	0,020675153
<i>Sulfobacillus</i>	0,036974968
<i>Syntrophococcus</i>	0,009432258
<i>Syntrophorhabdus</i>	0,000351181
<i>Tamlana</i>	0,010039155
<i>Terriglobus</i>	0,010014317
<i>Thermanaerotherix</i>	0,000251091
<i>Thermoactinomyces</i>	0,040704212
<i>Thermocrispum</i>	0,011216232
<i>Thermodesulfatator</i>	0,023298556
<i>Thermodesulfobium</i>	0,000512111
<i>Thioalkalivibrio</i>	0,003466985
<i>Unclassified</i>	0,00983321
<i>Verrucomicrobium</i>	0,032307838
<i>Vibrio</i>	0,033372778
<i>Weissella</i>	0,014082258
<i>Xenorhabdus</i>	0,000684783
<i>Zimmermannella</i>	0,011807852
<i>Zobellia</i>	0,000255103

Anexo E

Figura E1