

## Testing different membrane filters for 16S rRNA gene-based metabarcoding in karstic springs

Oana Teodora Moldovan <sup>1\*</sup>, Andreea Baricz <sup>2,3,4\*</sup>, Edina Szekeres <sup>2,3,4</sup>, Marius Kenesz <sup>1</sup>, Marial Alexandra Hoaghia <sup>5</sup>, Erika Andrea Levei <sup>5</sup>, Ionuț Cornel Mirea <sup>6</sup>, Ruxandra Năstase-Bucur <sup>1</sup>, Traian Brad <sup>1</sup>, Iulia Chiciudean <sup>2,3</sup>, Horia Leonard Banciu <sup>2,3</sup>

## SPRINGS

- Banpotoc
- Baita
- ▲ Rapoltel

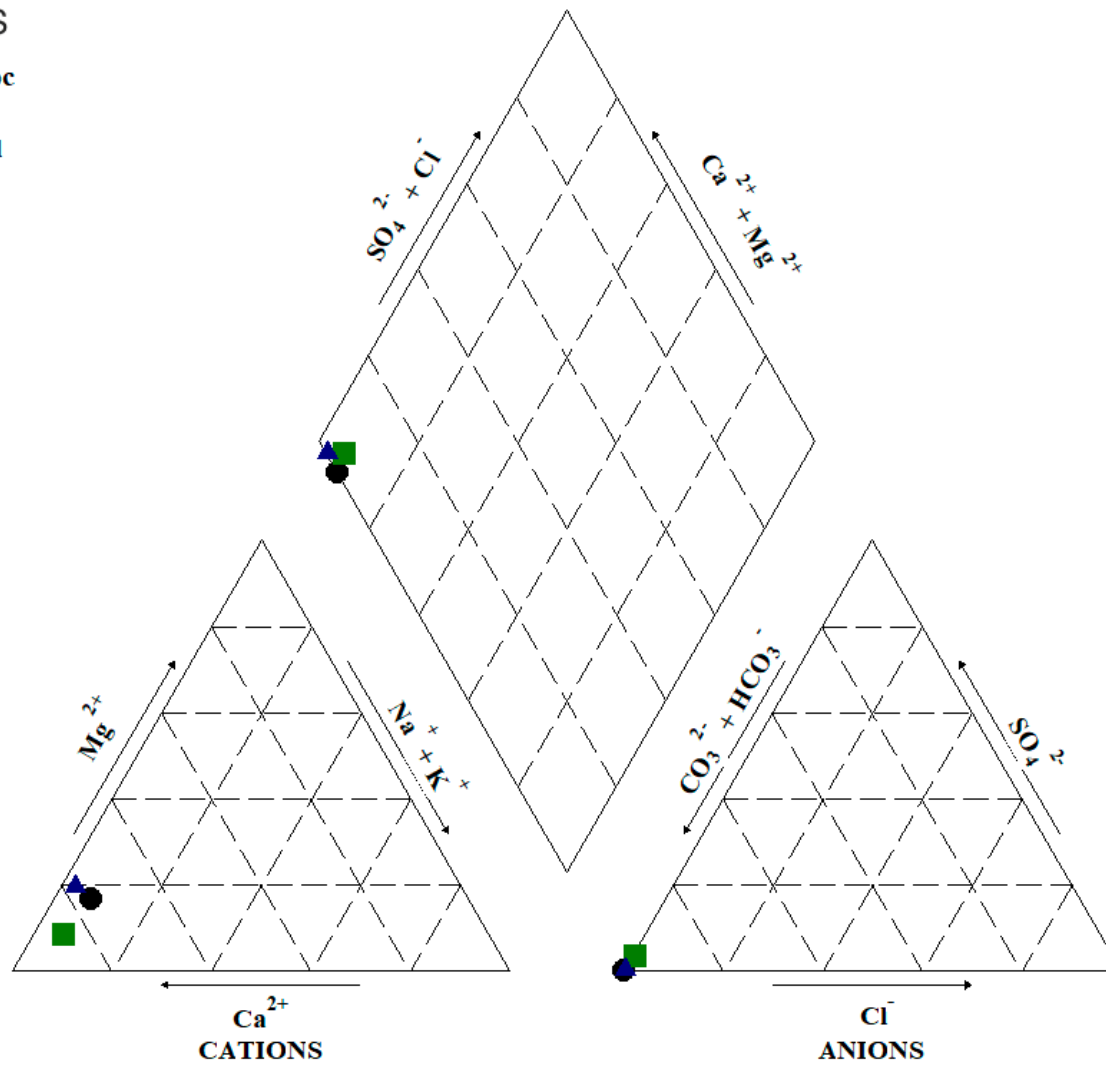
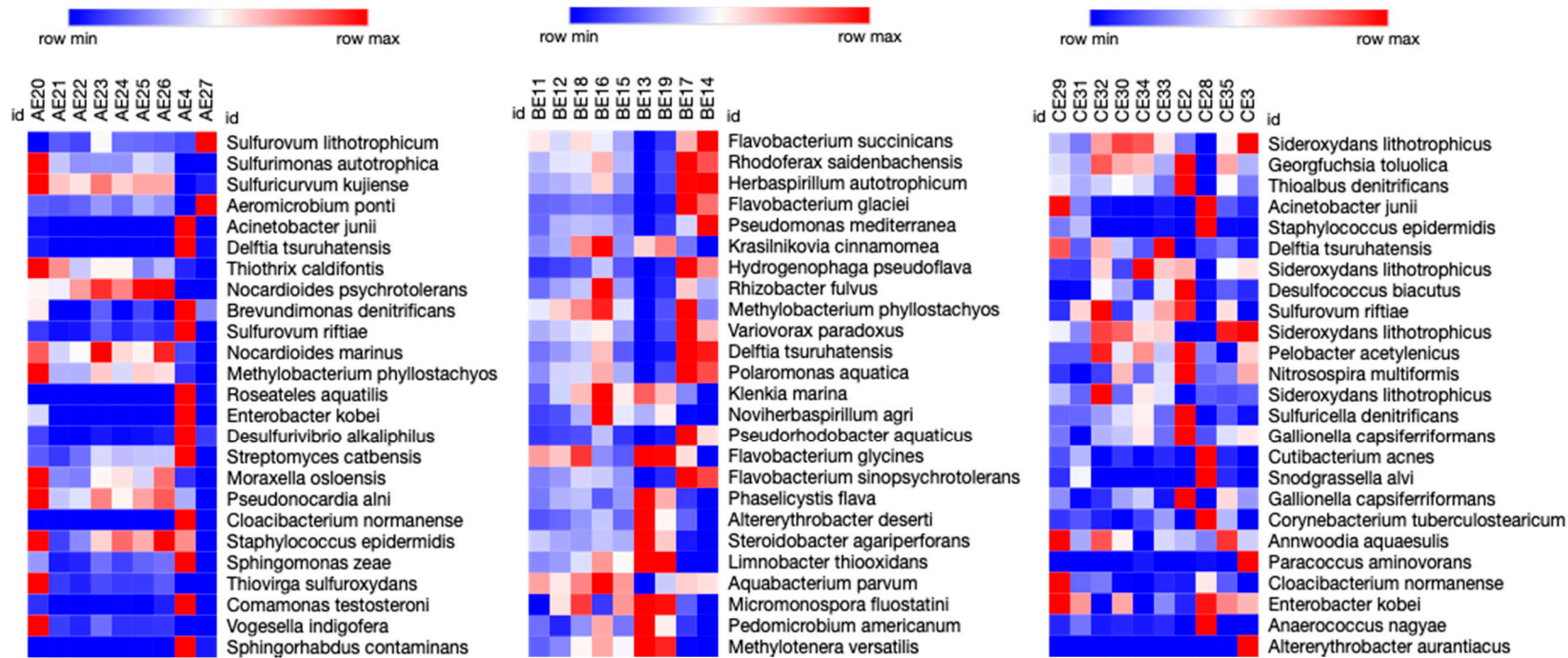


Figure S1. Piper diagram of the chemical elements for the studied springs

**Table S1.** The relative abundance of the Bacteria phyla in the analyzed membranes, with the dominant Proteobacteria (see also Figure 3).

Phylum/Percentage	BANPOTOC									BAITA								RAPOLTEL											
	AE20	AE21	AE22	AE23	AE24	AE25	AE26	AE4	AE27	BE11	BE12	BE18	BE16	BE15	BE13	BE19	BE17	BE14	CE29	CE31	CE32	CE30	CE34	CE33	CE2	CE28	CE35	CE3	
non-identified	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Acidobacteria	0,01	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01	0,01	0,15	0,00	0,96	0,86	0,85	1,08	0,83	2,32	1,95	0,39	0,21	0,00	0,00	0,21	0,14	0,00	0,20	0,10	0,07	0,08	0,08	0,00
Actinobacteria	4,05	4,68	6,59	7,00	6,96	8,37	8,08	3,20	11,37	3,75	4,55	6,78	6,58	5,72	7,74	8,28	2,97	1,40	2,28	3,65	1,04	0,52	2,16	2,24	3,59	11,54	2,98	1,14	0,00
Aquificae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Armatimonadetes	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Bacteroidetes	0,17	0,06	0,10	0,09	0,13	0,17	0,10	2,28	0,06	32,55	26,06	27,97	19,82	24,56	11,95	15,75	33,42	41,73	1,96	0,60	0,69	0,33	0,00	0,27	0,46	1,86	0,51	0,59	0,00
Caldiserica	0,07	0,06	0,05	0,06	0,06	0,04	0,06	0,69	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Calditrichaeota	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,02	0,00	0,00	0,32	0,14	0,13	0,00	0,23	0,00	0,00
Candidatus Melainabacteria	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,26	0,34	0,37	0,22	0,26	0,59	0,47	0,08	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Chlamydiae	0,00	0,01	0,02	0,02	0,02	0,00	0,01	0,00	0,00	0,40	0,31	0,34	0,52	0,45	0,56	0,55	0,07	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Chlorobi	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Chloroflexi	0,41	0,12	0,10	0,10	0,09	0,21	0,11	1,57	0,13	0,16	0,30	0,36	0,25	0,36	0,74	0,61	0,12	0,05	1,10	0,01	1,07	0,69	0,49	1,11	1,62	0,14	1,29	0,55	0,00
Cyanobacteria	0,52	0,42	0,17	0,35	0,54	0,22	0,25	0,31	0,15	0,07	0,04	0,04	0,07	0,04	0,07	0,25	0,00	0,02	0,00	0,91	0,00	0,00	0,31	0,08	0,00	0,35	0,07	0,00	0,00
Deferribacteres	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Deinococcus-Thermus	0,10	0,05	0,05	0,07	0,06	0,08	0,08	0,00	0,00	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,50	0,05	0,00	0,01	0,00	0,38	0,08	0,00	0,00
Dictyoglomi	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Elusimicrobia	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01	0,01	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Fibrobacteres	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Firmicutes	0,84	0,71	0,75	1,10	0,99	1,07	1,15	7,30	0,83	0,47	0,32	0,39	0,43	0,34	1,12	0,72	0,10	0,05	5,67	10,78	1,63	1,03	1,91	3,62	2,98	27,86	4,36	0,92	0,00
Fusobacteria	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Gemmatimonadetes	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,03	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,21
Ignavibacteriae	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01	0,01	0,25	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,02	0,00	0,00	0,30	0,12	0,82	0,00	0,26	0,15	0,23	0,00	0,29	0,00	0,00
Kiritimatiellaota	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00
Lentisphaerae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01	0,01	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,25	0,00	0,07	0,00	0,00	0,07	0,00	0,00	0,14	0,00	0,00
Nitrospinae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00

Nitrospirae	0,00	0,01	0,00	0,02	0,00	0,00	0,03	0,07	0,00	0,15	0,19	0,14	0,13	0,18	0,61	0,48	0,05	0,03	0,81	0,81	0,99	1,16	0,29	1,35	1,33	0,40	0,78	0,94
Planctomycetes	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01	0,01	0,03	0,11	0,00	0,77	0,76	0,92	1,18	1,00	2,11	1,35	0,31	0,20	0,00	0,25	0,00	0,01	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00
Proteobacteria	91,90	92,65	90,96	89,85	90,06	88,43	88,39	72,83	86,14	40,13	43,32	44,31	49,85	46,95	38,68	44,41	59,47	52,99	74,43	69,50	78,88	80,40	79,19	73,12	65,07	51,35	69,69	83,99
Rhodothermaeota	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Spirochaetes	0,03	0,13	0,14	0,06	0,10	0,13	0,14	0,55	0,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Synergistetes	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Tenericutes	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Thermodesulfobacteria	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Thermotogae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Verrucomicrobia	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,46	0,52	0,51	0,41	0,46	1,48	1,15	0,19	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,28	0,00	0,00	0,00



**Figure S2.** The heat maps of the first 25 most abundant species (number of reads) in each of the studied springs (Banpotoc, Baita and Rapoltel, from left to right). Relative abundance of species was considered in the analysis.



<i>Pseudomonas fragi</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
<i>Pseudomonas luteola</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas migulae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas putida</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ralstonia pickettii</i>	5	0	0	1	0	0	1	35	2	5	6	9	27	8	0	1	8	6	52	13	1	0	21	67	9	17	10	0	0
<i>Rickettsia canadensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Rickettsia conorii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Rickettsia japonica</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Rickettsia rhipicephali</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Serratia quinivorans</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	32	6	10	20	26	22	33	24	1	2	2	2	7	2	0	1	1	0	484	744	7	12	13	88	0	2020	69	51	0
<i>Veillonella dispar</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	71	0	21	124	0