



HAL
open science

Evaluation de la production de cyanotoxines dans les cultures de spiruline (*Limnospira* spp.)

Pierre-Etienne Pinchart

► **To cite this version:**

Pierre-Etienne Pinchart. Evaluation de la production de cyanotoxines dans les cultures de spiruline (*Limnospira* spp.). Biologie végétale. Université Pascal Paoli, 2024. Français. NNT : 2024CORT0020 . tel-04905985

HAL Id: tel-04905985

<https://theses.hal.science/tel-04905985v1>

Submitted on 22 Jan 2025

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



UNIVERSITE DE CORSE PASCAL PAOLI
ECOLE DOCTORALE 377 - ENVIRONNEMENT ET SOCIETE
UMR CNRS 6134 SPE

**Thèse présentée pour l'obtention du grade de
DOCTEUR EN PHYSIOLOGIE ET BIOLOGIE DES
ORGANISMES – POPULATIONS – INTERACTIONS
Mention : Biologie des Populations et Écologie**

Soutenue publiquement par

Pierre-Etienne PINCHART

le 17 décembre 2024

**Evaluation de la production de cyanotoxines dans les cultures de
spiruline (*Limnospira* spp.)**

DIRECTION DE LA THESE

Mme Vanina PASQUALINI, Professeure, Université de Corse
M Felice MASTROLEO, Directeur de Recherche, SCK CEN, Belgique

RAPPORTEURS

M Stéphan JACQUET, Directeur de Recherche, INRAE
Mme Annick WILMOTTE, Professeure, Université de Liège, Belgique

JURY

Mme Muriel GUGGER, Chargée de Recherche, Dr-HDR, Institut Pasteur
M Stéphan JACQUET, Directeur de Recherche, INRAE
M Felice MASTROLEO, Directeur de Recherche, SCK CEN, Belgique
Mme Vanina PASQUALINI, Professeure, Université de Corse
M Yann QUILICHINI, Ingénieur de Recherche CNRS, Dr-HDR, Université de Corse
M Jérémie SANTINI, Professeur, Université de Corse
Mme Annick WILMOTTE, Professeure, Université de Liège, Belgique

sck cen

*A Jean-Paul Jourdan et Ripley Fox
qui ont développé et partagé les
techniques de la culture paysanne
de spiruline.*

Préface

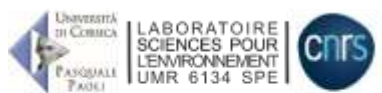
Ce doctorat a été réalisé au sein i) de l'Unité Mixte de Recherche 6134 SPE (UMR CNRS/ Université de Corse Pasquale Paoli; Science Pour l'Environnement), ii) de l'Unité d'Appui et de Recherche 3514 STELLA MARE (UAR CNRS/Università di Corsica ; Sustainable TEchnologies for Littoral Aquaculture and MARine REsearch)., iii) de l'unité microbiologie du SCK CEN (Centre d'Etude de l'Energie Nucléaire, Belgique) et iv) de l'entreprise aquacole La Spirale Verte (Corse).

Les travaux ont été réalisés dans le cadre d'une convention de recherche entre l'Université de Corse Pasquale Paoli, le SCK CEN et l'entreprise aquacole La Spirale Verte.

Les travaux ont été financés par le Gouvernement français et la Collectivité Territoriale de Corse, grâce au projet CPER Gerhyco, ainsi que par le SCK CEN et l'entreprise aquacole La Spirale Verte.

Un partenariat scientifique avec le Leibniz Institute DSMZ – German Collection of Microorganisms and Cell Cultures – a permis de réaliser les protocoles génomiques qui supportent une part importante de nos travaux.

Enfin, cette thèse a été réalisée en collaboration avec les producteurs et productrices de spiruline paysanne française. Le doctorant étant lui-même un producteur et membre de la gouvernance de la Fédération des Spiruliniers de France (FSF) qui a été également associée à cette thèse.



Pour citer cette thèse :

Pinchart, P-E., 2024. Evaluation de la production de cyanotoxines dans les cultures de spiruline (*Limnospira* spp.). Thèse de doctorat – Université de Corse Pasquale Paoli.

Remerciements

En premier lieu, mes remerciements s'adressent aux membres du jury : La Pr. **Annick Wilmotte** et le DR. **Stéphan Jacquet** pour leur rôle de rapporteurs, ainsi que le Pr. **Jérémie Santini** et les Dr.s **Muriel Gugger** et **Yann Quilichini** pour leur rôle d'examineurs. Parmi ces derniers, certains ont composé mon comité de suivi de thèse : le DR. **Stéphan Jacquet**, le Pr. **Jérémie Santini**, et sa présidente, la Pr. **Annick Wilmotte**. Je les remercie donc doublement pour leur implication, leurs conseils enrichissants et leur attitude toujours positive.

Je souhaite ici exprimer mes plus vifs remerciements envers celle et celui qui ont assuré conjointement la direction de cette thèse, à savoir la Pr. **Vanina Pasqualini** et le DR. **Felice Mastroleo**. En acceptant d'encadrer cette thèse, vous m'avez permis de concrétiser un défi personnel qui n'aurait jamais vu le jour sans le crédit que vous avez accordé à ma démarche, aussi inhabituelle fut-elle. Sachez que votre bienveillance, votre disponibilité et vos encouragements ont été d'un secours précieux tout au long de ces années de recherche. Soyez remerciez de m'avoir laissé une grande autonomie tout en suivant avec constance l'avancement de ce projet et en lui insufflant les orientations les plus pertinentes. Votre rigueur, vos conseils et votre guidance dans la démarche scientifique m'ont permis de mener à bien ce projet. L'un et l'autre, individuellement et ensemble, vous avez formé un binôme remarquable. Soyez certains que vous gardez une place de choix dans mon panthéon personnel et que ma gratitude vous accompagnera avec indéfectibilité.

Je tiens aussi à remercier chaleureusement la Dr. **Amandine Leruste**, ancienne chargée de mission à la Fédération des Spiruliniers de France (FSF) qui par un heureux hasard m'a orienté vers vous. Elle est celle grâce à qui les rouages de cette aventure se sont articulés et qui m'a motivé à entamer ce projet tardif dans ma vie !

Pour m'avoir permis de réaliser ce projet de thèse à l'Université de Corse, pour l'organisation des « Journées des Doctorants (JDD) » et pour les formations multidisciplinaires proposées, je remercie l'ensemble de l'**École Doctorale** : son ancien directeur monsieur le Dr. **Alain Muselli**, ainsi que le Dr. **David Moungar** et **Anne Savossiouk**. A cette occasion, je remercie la Société d'Accélération de Transfert de Technologie (SATT Sud-Est) pour le prix dont elle a distingué mon poster présenté à la JDD 2022.

En 2023, j'ai eu le plaisir de participer à une formation au pitch qui a donné lieu à deux présentations publiques au sein du Parc Galea, partenaire de ce projet initié par l'Ecole Doctorale. Cet accompagnement m'a apporté le ressort nécessaire pour parler de mon travail et le rendre accessible au plus grand nombre. J'exprime ici ma reconnaissance envers tous les partenaires de cette initiative notamment le directeur du Parc Galea : **Fabrice Fenouillère**, ainsi que les encadrants : **Marie-Pierre Filosa**, **Alexandra Pagni**, **Marie-Françoise Saliceti** et **Pierrick Tonelli**. Ce stage a aussi été l'occasion de rencontrer et d'échanger avec mes collègues doctorants, de découvrir leurs travaux et de tisser des liens. Je souhaite ici les remercier toutes et tous pour leur amitié.

Je remercie également le Pr. **Antoine Aiello**, ancien directeur de la Plateforme Stella Mare, pour avoir accepté que j'occupe ponctuellement bureau et laboratoire. Merci aussi à la Dr. **Viviana Ligorini** d'avoir guidé avec gentillesse mes premiers pas au sein de Stella Mare.

Je remercie aussi **les équipes administratives de l'UMR SPE, de l'UAR Stella Mare et du SCK CEN** pour leur soutien logistique.

Merci également au Dr. **Sophie Vincenti** qui m'a aimablement formé à la pratique de l'analyse enzymatique au Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire de l'UCPP ainsi qu'à **Ilse Coninx** du laboratoire de microbiologie du SCK CEN qui a réalisé les extractions d'ADN sur nos échantillons et qui a eu la patience de me former à cette technique lors de mon séjour en Belgique.

Je remercie les co-auteurs des trois articles écrits durant cette thèse, les Dr.s **Henner Brinkmann, Amandine Leruste, Pia Marter, Mohamed Mysara, Yann Quilichini**, avec une mention spéciale pour le Pr. **Jörn Petersen** (Leibniz Institute DSMZ – German Collection of Microorganisms and Cell Cultures) dont les questions et commentaires ont été particulièrement constructifs. La traduction corse du résumé vulgarisé a été assurée par mon ami Guillaume Filippi que je remercie.

J'adresse mon amitié et mes remerciements à mes collègues productrices et producteurs de spiruline. Tout d'abord à **Estelle et Philippe Calamand** qui m'ont accueilli en 2011 sur leur ferme pour me transmettre les rudiments de la culture de spiruline. Ensuite aux membres, actuels et anciens, de la gouvernance de la FSF qui ont motivé mon engagement dans cette aventure - **Jean-Marc Auclair, Hugo Baudet, Céline Clémente, Cédric Coquet, Céline Dalonis, Camille Dameron, Nicolas Fourtouil, Emmanuel Rousseau, Vincent Libeaut, Pascal Possety, Franck Lepinay, Amandine Lecrenais, Benoit Legrain, Cédric Lelièvre, Philippe Masquelier, Sébastien Mougey, Pierre-André Morice, Séverine Poulain, Thierry Rault, Barbara Remond, Jean-Marc Robin, Emilie Rousselou, Philippe Schoeffert, Jean-Bernard Simian, Jean-François Thevenet, Suzanne Vandamme et Jean-Baptiste Vin-Ramarony** - sans oublier **Camille Liot**, coordinatrice de la FSF.

Enfin je remercie **Rémy Bosc, Olivier Charmont, Camille Dameron, Nathalie Depoix, Gilles Planchon, Vincent Rioux, Philippe Schoeffert et Robert Taton**, qui m'ont confié des échantillons de leur culture de spiruline, ainsi que l'ensemble des productrices et producteurs, adhérent(e)s de la Fédération des Spiruliniers de France, qui ont accepté de partager leurs résultats d'analyses dans une démarche très appréciable de transparence.

Reprendre des études à mon âge a été une expérience inattendue et parfois éprouvante pour mes proches, en particulier pour ma compagne ! Pendant plus de quatre ans, elle s'est adaptée aux contingences d'un quotidien parfois compliqué. Elle a su me ménager des plages de détente et m'a été d'une grande aide pour améliorer la rédaction de ce manuscrit. **Agathe**, je te remercie avec amour.

Abstract

Spirulina is the common name for edible cyanobacteria cultivated in aquaculture facilities, which are generally industrial. In France, however, production is carried out by 180 small-scale farms. Spirulina is consumed as a food or dietary supplement for its nutritional value and health benefits. However, certain cyanobacteria produce cyanotoxins and can contaminate spirulina culture. These toxins, notably microcystins (MCs), have been found in spirulina samples from various foreign markets. In addition, one spirulina species, *Limnospira fusiformis*, was suspected of toxicity following two publications on Kenyan strains. Finally, a taxonomic confusion does exist for spirulina designated by four species names, spread among two genera. It therefore appears of interest to provide information on the cyanotoxin and cyanobacteria contamination of French spirulina cultures. Moreover, it was essential to characterize the different strains cultivated by the French spirulina farmers to assess the potential risk of cyanotoxins production.

In that sense, the results of 623 analyses of spirulina for MCs using the enzymatic Adda-ELISA method complemented by five duplicate analyses using the LC-MS/MS method led to the conclusion that spirulina produced by French farmers does not present a health risk related to MCs. In addition, metagenomic and metagenetic analyses of six spirulina culture samples showed that they contained only non-toxic halo-alkalophilic cyanobacteria, including the genus *Sodalinema*, which is the most dominant and recurring contaminant. In contrast, the environmental sample of the Camargue spirulina strain contained potentially toxic cyanobacteria. These results, supported by cyanobacterial counts carried out on samples from 95 farms, revealed that the salinity and alkalinity of the growing media used in France are not promoting the development of cyanobacteria known to produce MCs.

Finally, comparing the genomes of 22 spirulina strains, including two cultivars used in France as well as the Camargue strain, showed that there are only two species of spirulina, *Limnospira maxima* and *L. platensis*, and that the names *L. fusiformis* and *L. indica* are heterotypic synonyms for *L. maxima*. A morphological character was also found to distinguish the two species. Finally, the analysis of 11 genomes of each species demonstrated the absence of genetic sequences that could be associated with cyanotoxins, thus proving their safety.

Keywords: *Limnospira*, cyanotoxins, microcystins, cyanobacteria, *Sodalinema*

Résumé

La spiruline est le nom commun de cyanobactéries comestibles cultivées dans des exploitations aquacoles généralement industrielles. Toutefois, en France, cette production est assurée par 180 fermes paysannes. La spiruline est consommée sous forme d'aliments ou de compléments alimentaires, pour sa valeur nutritionnelle et ses effets positifs sur la santé. Cependant, certaines cyanobactéries produisent des cyanotoxines et sont susceptibles de contaminer les cultures de spiruline. Ces toxines, notamment des microcystines (MCs), avaient été détectées dans des spirulines provenant de différents marchés étrangers. De plus, une espèce de spiruline, *Limnospira fusiformis*, était soupçonnée de toxicité suite à deux publications portant sur des souches kényanes. Enfin, une confusion taxonomique concernait les spirulines désignées par quatre noms d'espèces réparties sur deux genres. Au regard de ces éléments, il apparaît nécessaire d'apporter des connaissances sur les contaminations, par des cyanotoxines et par des cyanobactéries, des cultures françaises de spiruline. En outre, il était indispensable de caractériser les différentes souches de spiruline cultivées afin d'identifier leur espèce et de vérifier si elles peuvent produire des cyanotoxines.

Les résultats de 623 analyses de MCs sur des spirulines par la méthode enzymatique Adda-ELISA et de cinq résultats de contre-analyses par la méthode LC-MS/MS ont permis de conclure que les productions de spiruline de la filière paysanne française ne présentent pas de risque sanitaire lié aux MCs. Par ailleurs, des analyses métagénomique et métagénétique réalisées sur six échantillons de culture de spiruline ont montré que ces derniers ne contiennent que des cyanobactéries halo-alcalophiles non toxiques dont le genre *Sodalinema* qui est un contaminant dominant. A contrario, l'échantillon environnemental de la souche de spiruline camarguaise contenait des cyanobactéries potentiellement toxiques. Ces résultats, étayés par les dénombrements de cyanobactéries réalisés sur des échantillons issus de 95 fermes, ont révélé que la salinité et l'alcalinité des milieux de cultures utilisés en France ne sont pas propices au développement des cyanobactéries connues pour produire des MCs.

La comparaison des génomes de 22 souches de spiruline, dont deux cultivars utilisés en France, ainsi que la souche camarguaise, a établi qu'il n'existe que deux espèces de spiruline, *Limnospira maxima* et *L. platensis*, et que les appellations *L. fusiformis* et *L. indica* sont des synonymes hétérotypes de *L. maxima*. La caractéristique morphologique permettant de distinguer ces deux espèces a également été trouvée. Enfin, l'analyse de 11 génomes de chaque espèce a démontré l'absence de séquences génétiques pouvant être associée aux cyanotoxines, prouvant par là leur innocuité.

Mots clés : *Limnospira*, cyanotoxines, microcystines, cyanobactéries, *Sodalinema*

Liste des Publications et Conférences

Publications parues

Pinchart, P. E., Leruste, A., Pasqualini, V., & Mastroleo, F. (2023). Microcystins and cyanobacterial contaminants in the french small-scale productions of spirulina (*Limnospira* sp.). *Toxins*, 15(6), 354. <https://doi.org/10.3390/toxins15060354>.

Pinchart, P.-E., Marter, P., Brinkmann, H., Quilichini, Y., Mysara, M., Petersen, J., Pasqualini, V., and Mastroleo, F. (2024). The genus *Limnospira* contains only two species both unable to produce microcystins: *L. maxima* and *L. platensis* comb. nov. *iScience*, Volume 27, Issue 9. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.110845>.

Publication en préparation

Pinchart, P.-E., Marter, P., Brinkmann, H., Quilichini, Y., Mysara, M., Petersen, J., Pasqualini, V., and Mastroleo, F. (in preparation). *Sodalinema* is a dominant non-toxic cyanobacterial contaminant of commercial spirulina (*Limnospira* spp.) cultures.

Conférences et séminaires

Journée des Doctorants, Université de Corse, Corte (France), 17 juin 2021

Pinchart P-E., Quilichini Y., Mysara M., Mastroleo F., Pasqualini V. « Etude des productions de cyanotoxines dans les cultures de spiruline » - Poster.

Journée des Doctorants, Université de Corse, Corte (France), 14 juin 2022

Pinchart P-E., Leruste A., Quilichini Y., Mysara M., Mastroleo F., Pasqualini V. « Cyanobactéries et microcystines dans les cultures de spiruline françaises » - Poster.

5e JILO, Corte (France), 10-13 octobre 2022

Pinchart P-E., Quilichini Y., Mysara M., Mastroleo F., Pasqualini V. « Caractérisation d'une cyanobactérie contaminante des cultures de spiruline (*Limnospira* spp.) » - Communication orale.

5e JILO, Corte (France), 10-13 octobre 2022

Pinchart P-E., Leruste A., Quilichini Y., Mastroleo F., Pasqualini V. « Cyanobactéries et microcystines dans les cultures de spiruline françaises » - Communication orale.

Journée des Doctorants, Université de Corse, Corte (France), 15 juin 2023

Pinchart P-E., Pia Marter, Quilichini Y., Jörn Petersen, Mastroleo F., Pasqualini V. « Caractérisation morphologique et génomique de *Limnospira fusiformis* » - Poster.

Journée des Doctorants, Université de Corse, Corte (France), 13 juin 2024

Pinchart P-E., Pia Marter, Quilichini Y., Mysara M., Jörn Petersen, Mastroleo F., Pasqualini V. « De la culture de spiruline à la taxonomie des cyanobactéries » - Communication orale.

Diffusion grand public

Parc Galea, 29 octobre 2023. La spiruline, comestible ou toxique ? « L'Enquête Corse ».

Diffusion à la profession

Rencontre annuelle de la Fédération des Spiruliniers de France (FSF), 20-22 novembre 2023. Caractérisation génétique des *Limnospira* spp. et de *Sodalinema* sp.

Table des matières

Introduction générale	3
1. La Spiruline.....	3
1.1. Présentation générale	3
1.2. La production de spiruline en France	5
1.3. Allégations nutritionnelles et de santé	7
1.4. Réglementation	10
1.5. Taxonomie	11
2. Cyanotoxines.....	14
2.1. Nomenclature, toxicité et structures	14
2.1.1. Microcystines	14
2.1.2. Nodularines.....	16
2.1.3. Anatoxines	16
2.1.4. Saxitoxines.....	16
2.1.5. Cylindrospermopsines.....	17
2.1.6. Guanitoxine.....	17
2.1.7. Aetokthonotoxine	17
2.1.8. BMAA et isomères	17
2.2. Réglementation relative aux cyanotoxines	17
2.3. Méthodes d'analyses.....	19
2.4. Cyanotoxines dans l'alimentation	20
2.5. Cyanotoxines dans les compléments alimentaires BGAS.....	21
2.6. Cyanobactéries productrices de cyanotoxines.....	22
2.7. La toxicité supposée de <i>Arthrospira fusiformis</i>	24
3. Objectifs et organisation de la thèse	26
Chapitre I : Microcystins and Cyanobacterial Contaminants in the French Small-Scale Productions of Spirulina (<i>Limnospira</i> sp.)	31
Contexte général et résumé	32
1. Introduction.....	34
2. Material and Methods	35
2.1. Data Collection.....	35
2.2. Microcystin Analyses.....	37
2.3. Cyanobacteria Enumeration	37
2.4. Review of MCs in Spirulina Products.....	37

2.5. Data Analysis	37
3. Results	38
3.1. Microcystins in Spirulina Products and Cultures	38
3.2. Cyanobacterial Contaminants	41
4. Discussion	46
Chapitre II : The genus <i>Limnospira</i> contains only two species both unable to produce microcystins: <i>L. maxima</i> and <i>L. platensis</i> comb. nov.	53
Contexte général et résumé	54
1. Introduction.....	56
2. Methods.....	57
2.1. Spirulina strains.....	57
2.2. Microscopy	58
2.3. DNA isolation	58
2.4. 16S rRNA gene amplicon sequencing	59
2.5. Metagenome sequencing and binning.....	59
2.6. Phylogenomic analyses.....	59
2.7. Genome comparison	59
2.8. Toxinogenesis analysis	60
3. Results	61
3.1. 16S rRNA gene amplicon sequencing	61
3.2. Morphology and ultrastructure.....	63
3.3. Metagenome assembly and binning of spirulina	66
3.4. Phylogenomic analyses.....	67
3.5. Average Nucleotide Identity analysis	69
3.6. Digital DNA-DNA Hybridization (dDDH).....	70
3.7. Toxinogenesis	71
4. Discussion	71
4.1. Taxonomy	71
4.2. Taxonomic considerations on the genus <i>Limnospira</i>	73
4.3. <i>Limnospira</i> toxinogenesis	74
5. Limitations of the study	74
Chapitre III : <i>Sodalinema</i> is a dominant non-toxic cyanobacterial contaminant of commercial spirulina (<i>Limnospira</i> spp.) cultures	77
Contexte général et résumé	78
1. Introduction.....	80

2.	Materials and methods	81
2.1.	Samples and spirulina cultivation	81
2.2.	Microscopy	82
2.3.	DNA isolation	82
2.4.	16S rRNA gene amplicon sequencing analysis	83
2.5.	16S rRNA gene sequence analysis	83
2.6.	Metagenome sequencing and binning	83
2.7.	Genome comparison	84
2.8.	Genomic analysis	84
2.9.	Nitrogen source competition assay	84
3.	Results	85
3.1.	16S rRNA gene amplicon sequencing	85
3.2.	Cyanobacterial 16S rRNA gene sequence	91
3.3.	Metagenome assembly and binning	92
3.4.	Average Nucleotide Identity and digital DNA-DNA Hybridization analysis	93
3.5.	Morphology and ultrastructure	94
3.6.	Genomic analysis – Secondary metabolites	95
3.7.	Genomic analysis – Nitrogen metabolism	96
3.8.	Nitrogen source competition assay	96
4.	Discussion	97
4.1.	Taxonomy considerations	97
4.2.	Cyanobacterial contaminants	98
4.3.	Heterotrophic bacteria	99
4.4.	Nitrogen sources	100
5.	Data availability statement	101
	Discussion et Perspectives	105
1.	Espèces des souches de spiruline et leur toxicité supposée	105
1.1.	Taxonomie des spirulines	105
1.2.	Non toxicité de <i>Limnospira maxima</i> (syn. <i>L. fusiformis</i>)	107
1.3.	La souche de spiruline camarguaise	109
2.	Cyanosphère des cultures de spiruline	110
2.1.	Cyanobactéries contaminantes des cultures de spiruline	110
2.2.	Toxicité des contaminants	112
2.3.	Origine des contaminants	113

2.4. Contrôle des contaminations	113
2.5. Approches méthodologiques de taxonomie	115
3. Microcystines dans les produits spirulines	116
3.1. Interprétation des résultats d'analyse	116
3.2. Evaluation du risque microcystine (hépatotoxique) des productions françaises de spiruline.....	119
3.3. Limitations de l'étude.....	119
4. Recommandations.....	120
Conclusion Générale.....	121
Références Bibliographiques	123
ANNEXES.....	147
Annexe I – Supplementary Material (Chapitre II)	148
Annexe II – Supplementary Material (Chapitre III)	156

Liste des abréviations

ADDA	Acide (2S,3S,8S,9S)-3-amino-9-méthoxy-2,6,8-triméthyl-10-phényldéca-4,6-diénoïque
AETX	Aetokthonotoxine
AGL	Acide γ -linoléinique
ANI	Average Nucléotide Identity
ANSES	Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation de l'Environnement et du Travail (France)
ATX	Anatoxine
AW	Active water (eau active)
BGAS	Blue Green Algae Supplement
BMAA	β -N-methylamino-L-alanine
bp	Paire de base (nucléotide)
BW	Body weight (poids corporel)
CYN	Cylindrospermopsine
dDDH	digital DNA-DNA hybridization
DW	Dry weight (poids sec)
EFSA	Autorité européenne de sécurité des aliments
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
EPA	Environmental Protection Agency (Etats Unis)
FAO	Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture
FDA	Food and Drug Administration (Etats-Unis)
FSF	Fédération des spiruliniers de France
FW	Fresh weight (poids frais)
GBPH	Guide des bonnes pratiques et d'hygiène
GNT	Guanitoxine
GRAS	Generally Recognized as Safe
GTDB	Genome taxonomy database
ICN	International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants
ICNP	International Code of Nomenclature of Prokaryotes
ITS	Internal Transcribed Spacer
LC-MS/MS	Liquid chromatography - Tandem mass spectrometry
LM	Light microscopy (microscopie optique)
LPSN	List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature
LQ	Limite de quantification
MAG	Meta assembled genome
MC	Microcystine
NCBI	National Center for Biotechnology Information (Etats-Unis)
NOD	Nodularine
NRPS	Non-ribosomal peptide synthetase
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
OrthoANI	Average orthologous nucleotide identity
OTU	Unité taxonomique opérationnelle
PCR	Polymerase Chain Reaction
PKS	Polyketide synthetase
ppb	Partie par milliard
ppm	Partie par million
PSTs	Paralytic Shellfish Toxins
rRNA	ARN ribosomique
SEM	Scanning electronic microscopy (microscopie électronique par balayage)

STX	Saxitoxine
TEM	Transmission electronic microscopy (microscopie électronique par transmission)
UE	Union Européenne
UHPLC- MS/MS	Ultra High Performance LC-MS/MS
USP	United States Pharmacopeial Convention
UV	Ultra violet
VNR	Valeur nutritionnelle de référence
VTR	Valeur toxicologique de référence
WHO	Organisation Mondiale de la Santé

Introduction générale

En 2018, trois producteurs français de spiruline cultivant une souche provenant de Camargue ont été contraints de vider et de nettoyer leurs bassins de culture. Cela faisait suite à l'alerte émise par un laboratoire privé qui avait identifié cette spiruline comme étant une *Arthrospira fusiformis*, une espèce classée toxique suite à une publication scientifique de 2005 stipulant que cette espèce pouvait produire des microcystines^{1,2}. La profession qui considérait qu'il n'y avait qu'une seule espèce de spiruline, *Arthrospira platensis* réputée comestible, apprenait l'existence d'une autre espèce soupçonnée de toxicité.

Dans cette introduction, nous proposons d'abord une présentation de la spiruline avec un focus particulier sur la production française, la réglementation et la taxonomie. Suivra une présentation des cyanotoxines dans le contexte de l'alimentation avec un point sur la réglementation, les méthodes d'analyses et les contaminations dans la spiruline et d'autres aliments. Les questions posées et les objectifs de cette thèse terminent cette section.

1. La Spiruline

1.1. Présentation générale

Spiruline est le nom vernaculaire et commercial d'une cyanobactérie, de l'ordre des Oscillatoriales, qui a successivement été assignée aux genres *Arthrospira*, *Spirulina* et *Limnospira* (voir 1.4. ci-après). Elle doit son nom à sa forme généralement spiralée (Figure 1). Dans la suite de ce document, nous utiliserons ce nom vernaculaire ou l'une des nomenclatures scientifiques en fonction du contexte.



Figure 1. Spirulines en microscopie optique. Barre d'échelle = 100 µm.

Ses filaments, appelés trichomes, de diamètres généralement compris entre 6 et 12 μm , sont composés de cellules cylindriques plus courtes que larges et sont généralement coiffés d'un calypstre aux extrémités (Figure 2).

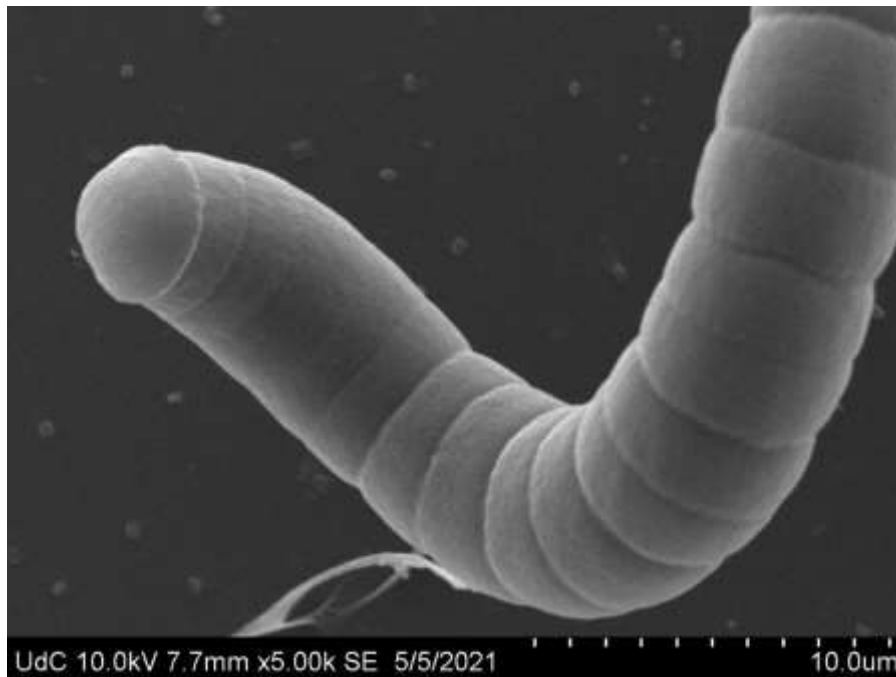


Figure 2. Extrémité calyptrée d'un trichome de spiruline au microscope électronique à balayage.

La spiruline est naturellement présente dans des eaux saumâtres, alcalines, riches en carbonates, bicarbonates, nitrates, phosphates et fer. On la trouve principalement dans les régions intertropicales avec une large répartition géographique (Afrique, Asie, Amériques) mais également en Europe du Sud. En France, une souche de spiruline a été trouvée dans l'étang de Monro en Camargue ³.

Considérée comme comestible, la spiruline était consommée par les Aztèques, qui la récoltaient dans le lac Texcoco, à l'époque de la conquête espagnole (XVI^e siècle) ⁴. La consommation traditionnelle de la spiruline récoltée au nord du lac Tchad par les Kanembou a conduit à la découverte de la richesse nutritionnelle de cette cyanobactérie dans les années 1960 ⁴.

Cette valeur nutritive exceptionnelle a amené l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) à considérer la spiruline comme un aliment d'intérêt majeur contre la malnutrition pour la sécurité alimentaire et la réponse aux situations d'urgence alimentaire ⁵.

Selon les statistiques publiées par la FAO ⁶ 56.000 t (poids frais) de spiruline ont été mondialement produites en 2019. La Chine, avec une production de 54.650 t est le principal pays producteur. Ces statistiques sont toutefois incomplètes car n'y figurent pas des pays hébergeant des productions industrielles de spiruline (ex. Earthrise et Cyanotech aux Etats-Unis).

La spiruline est utilisée pour l'alimentation humaine et animale et par les industries cosmétique et pharmaceutique. La spiruline trouve également des applications dans l'espace en intégrant un compartiment du système MELiSSA (Micro-Ecological Life Support System Alternative) développé par l'Agence spatiale européenne (ESA) pour le recyclage des déchets et la production de nourriture et oxygène lors des longs voyages spatiaux ^{7,8}.

1.2. La production de spiruline en France

Le marché français de la spiruline se caractérise par un maillage de petites fermes aquacoles, comprenant environ 180 unités, dont la taille moyenne est de 600 m² de bassins pour un équivalent temps plein ⁹. Cette situation est l'héritage de la présence en France de deux chercheurs, Ripley Fox et Jean-Paul Jourdan, qui ont développé des méthodes de cultures paysannes adaptées aux petites exploitations, en particulier pour les pays en voie de développement. La première ferme de spiruline a été créée dans le département de l'Hérault en 1998 par Estelle et Philippe Calamand (<https://spiruline.acapitelle.com>). Selon le ministère de l'agriculture 223 t de spiruline (biomasse égouttée) ont été produites en 2022 ¹⁰.

Les méthodes de culture, de récolte et transformation sont dérivées de celles décrites par Jean-Paul Jourdan dans son « Manuel de culture artisanale de spiruline »¹¹.

La spiruline est cultivée dans des bassins placés sous serres (Figures 3a et 3b). Sauf exception, les bassins et les serres ne sont pas chauffés ce qui rend la production saisonnière.



Figure 3. Bassins de culture de spiruline sous serres (a, b).

Crédits photos : La Spirale Verte (a), Spiruline Tolosane (b).

Les récoltes se font par filtration non forcée sur des filtres à plat ou rotatifs de mailles comprises entre 20 et 50 μm (Figures 4a et 4b). La biomasse est généralement amenée au filtre par pompage directement dans la colonne d'eau ou par écrémage de la couche flottante de spiruline.

Le rétentat de spiruline est ensuite pressé pour éliminer le milieu de culture résiduel. Ce pressage peut être réalisé mécaniquement ou par aspiration sous vide (Figure 5a). A l'issue de cette étape, une pâte de spiruline (supposée 100% spiruline) de la consistance d'une pâte à modeler est obtenue (Figure 5b).

A l'aide d'un poussoir, cette pâte est alors mise en forme de spaghetti (diamètre 1 à 2 mm) sur des claies pour être ensuite séchée (Figure 5c).



Figure 4. Filtres rotatif (a) et à plat (b).
Crédits photos : P&P Pourquoi Pas (a), La Spirale Verte (b)



Figure 5. Presse sous vide (a). Pâte pressée de spiruline (b). Mise en forme de la pâte en spaghetti (d). Crédits photos : P&P Pourquoi Pas (a, b), Manjolive (c).

Le séchage se réalise par ventilation forcée d'un air asséché par chauffage ou par déshumidification thermodynamique (Figure 6a, 6b). La température de séchage se situe entre 30 et 50°C et sa durée varie de 4 à 12 heures pour obtenir une mesure de l'eau active (AW) inférieure à 0,5. A l'issue du séchage, les spaghetti secs (Figure 6c) sont fragmentés en « paillettes » ou « brindilles » qui sont caractéristiques de cette méthode « artisanale » de séchage. Cette méthode de séchage est qualifiée de « douce » et l'on peut observer que les trichomes de spiruline restent visibles et globalement intacts dans le produit sec.



Figure 6. Séchoirs de spiruline (a, b). Spaghetti de spiruline à l'issue du séchage (c).
Crédits photos : P&P Pourquoi Pas (a), Spiruline Tolosane (b), La Spirale Verte (c).

Depuis 2008, la majorité des producteurs français est regroupée dans la « Fédération des Spiruliniers de France (FSF) » qui a développé un « guide des bonnes pratiques et d'hygiène (GBPH) » destiné à améliorer la qualité sanitaire des productions.

1.3. Allégations nutritionnelles et de santé

Les allégations nutritionnelles autorisées font référence à la valeur énergétique ou à la teneur en certains composants génériques (protéines, lipides, sucres, sodium, fibres, vitamines et minéraux). Leur formulation, pour le marché européen, est encadrée par l'annexe du règlement (UE) No 1924/2006 ¹². Les quantités significatives de vitamines et minéraux sont définies dans l'annexe 13 du règlement (UE) No 1169/2011 ¹³. Elles doivent représenter au minimum 15% des valeurs nutritionnelles de référence (VNR) par 100 g d'aliment pour que ce dernier puisse être qualifié « source de ». La qualification « riche en » nécessite une teneur double (minimum 30%). Le tableau 1 indique les allégations nutritionnelles autorisées pour la spiruline au regard de sa composition.

Tableau 1. Valeurs nutritionnelles moyennes de la spiruline paysanne française et allégations nutritionnelles.

	Pour 100 g ^a	VNR ^b	Allégation autorisée
Energie (Kj)	1537	170 °	
Graisses (g) dont :	7	3 °	
Acides gras saturés (g)	3	1,5 °	
Acides gras mono-insaturés (g)	1,6		
Acides gras poly-insaturés (g)	1,6		
Acide γ-linolénique (AGL) (g)	1,1 *		
Glucides (g) dont :	7,9		
Sucres (g)	1,6	0,5 °	
Protéines	64,5	50	Riche en protéines
Sel (g)	3,1	0,12 °	
Phosphore (mg)	439	700	Riche en phosphore
Potassium (g)	2,12	2,00	Riche en potassium
Magnésium (mg)	232	375	Riche en magnésium
Fer (mg)	65,5	14	Riche en fer
Calcium (mg)	468 *	800	Riche en calcium
Cuivre (mg)	0,3	1	Source de cuivre
Zinc (mg)	2,1	10	Source de zinc
Manganèse (mg)	1,3	2	Riche en manganèse
Vitamine A, équivalent rétinol (mg)	13,43	0,8	Riche en vitamine A

	Pour 100 g ^a	VNR ^b	Allégation autorisée
Vitamine B1 – Thiamine (mg)	5,31	1,1	Riche en vitamine B1
Vitamine B2 – Riboflavine (mg)	3,23	1,4	Riche en vitamine B2
Vitamine B3 – Niacine (mg)	9,87	16	Riche en vitamine B3
Vitamine B6 – Pyridoxine (mg)	0,78	1,4	Riche en vitamine B6
Vitamine B9 – Acide folique (µg)	33	200	Source de vitamine B9
Vitamine B12 – Cobalamine (µg)	81	2,5	Riche en vitamine B12
Vitamine E – Tocophérol (mg)	14,1	12	Riche en vitamine E
Phycocyanine totale (g) dont :	18,34		
C-phycocyanine (g)	11,14		
Chlorophylle-A (g)	1,14		
Bêta-carotène (mg)	104		

^a Données issues d'analyses réalisées par des producteurs FSF entre 2019 et 2022 à l'exception des valeurs suivies de * issues de la littérature ¹⁴.

^b Valeurs nutritionnelles de référence pour les protéines, les vitamines et les minéraux lorsque définies.

^c Valeur maximale pour une allégation « pauvre en ... ».

La quantité d'aliment de référence, « par 100 g », est largement supérieure aux usages de consommation de la spiruline qui se situent dans une fourchette de 3 à 5 g par jour. Cette disposition réglementaire conduit à autoriser pour la spiruline des allégations nutritionnelles « riche en » et « source de » alors que les apports pour la dose préconisée sont inférieurs au seuil de 15% des VNR. On notera que l'annexe 13 du règlement (UE) No 1169/2011 n'inclut pas la phycocyanine, le bêta-carotène, la chlorophylle et l'acide γ -linoléique (AGL), des substances pourtant reconnues d'intérêt dans la littérature scientifique ^{14,15}.

Le règlement (UE) No 1924/2006 précise que les *allégations de santé ne devraient être autorisées qu'après une évaluation scientifique effectuée par l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA)* en charge d'établir et de maintenir une liste communautaire des allégations autorisées. Ce règlement a donné la possibilité aux états membres, de déposer des demandes d'ajouts d'allégations de santé « fonctionnelles génériques » (Article 13, allégations autres que celles faisant référence à la réduction du risque de maladie ainsi qu'au développement et à la santé infantiles). Plus de 44.000 allégations ont été présentées et une liste de 4.637 allégations a été publiée par l'EFSA après un processus de première évaluation et de consolidation. La deuxième évaluation approfondie, menant à la publication confirmée ou au rejet d'une allégation, n'est pas arrivée à son terme et de nombreuses allégations ont un statut « en attente » et sont, par défaut, autorisées.

Huit allégations concernent la spiruline (Tableau 2) dont six sont en attente d'évaluation et une acceptée après une évaluation scientifique approfondie par l'EFSA.

Tableau 2. Allégations de santé « fonctionnelles génériques » déposées pour la spiruline et issues de la base de données EFSA ¹⁶.

ID	Allégation de santé	Condition d'utilisation	Statut EFSA
1867	Antioxydant. La spiruline est une riche source d'antioxydants qui aident le corps à se protéger contre les conséquences du stress oxydatif.	2 g spiruline /jour	Acceptée ¹⁷
1876	Soutien du système immunitaire. La spiruline aide à soutenir le système immunitaire. La phycocyanine est un puissant stimulant immunitaire.	2 g spiruline /jour	En attente
2583	Immunostimulant. Renforcer les défenses naturelles. Favorise la résistance de l'organisme.	1,5 g spiruline /jour	En attente
2737	Tonus, vitalité. Aide à renforcer le tonus et la vitalité. Aide en cas de fatigue. Aide à soutenir la vitalité de l'organisme. Aide à se sentir plus énergique. Amélioration de la vitalité/énergie.	2 g spiruline /jour	En attente
2758	Supplémentation en acides aminés. Supplémentation en acides aminés, pour la préservation de la masse maigre, dans le cadre d'un régime pauvre en protéines pour personnes en surpoids.	0,6 à 0,9 g de spiruline /jour	En attente
3145	Santé glycémique. La spiruline maintient un taux de sucre correct.	1,5 g spiruline /jour	Rejetée ¹⁸
1858	Contrôle du poids, empêche la dégradation de l'amidon.	1,8 g spiruline /jour	En attente
4575	Aide à contrôler le poids en réduisant la sensation de faim / en augmentant la sensation de satiété.	1,8 g spiruline /jour	En attente

Outre ces allégations spécifiques à la spiruline, des demandes ont été déposées pour certains de ses composants. Le bêta-carotène a fait l'objet de demandes d'allégations de santé « fonctionnelles génériques ». L'EFSA a retenu l'allégation relative au maintien du fonctionnement normal du système immunitaire mais a rejeté les allégations portant sur la protection de la peau contre les UV et la protection de l'ADN, des protéines et des lipides contre les dégâts liés à l'oxydation ¹⁹.

Des demandes d'allégations pour l'AGL, portant sur la réduction des inflammations, ont également été déposées mais l'EFSA considère que les preuves scientifiques évaluées ne sont pas suffisantes pour étayer les allégations présentées ²⁰. Aucune demande d'allégation concernant la phycocyanine et la chlorophylle-a n'a été déposée ni évaluée. Ces trois

dernières substances ne peuvent donc pas faire l'objet d'allégation santé et par extension d'allégation nutritionnelles.

La communication autorisée par la réglementation UE sur les propriétés de la spiruline semble limitée par rapport aux bienfaits publiés dans la littérature scientifique. Dans un article paru en 2018, De La Jara et al.¹⁵ ont passé en revue 25 essais cliniques randomisés portant sur la dyslipidémie, le diabète, l'hypertension, la fatigue physique, la réponse immunitaire, l'inflammation, les allergies et l'action antivirale. La plupart de ces travaux ont montré une réponse positive entre la consommation de spiruline et l'amélioration de l'état de santé. Vingt de ces essais cliniques étaient en rapport avec les effets antioxydants de la spiruline. Le caractère antioxydant de la spiruline a également été documenté dans d'autres publications²¹⁻²³ qui mettent en avant sa composition en pigments (chlorophylle-a, phycocyanines et caroténoïdes), tocophérols (vitamine E), acide gamma-linolénique et composés phénoliques, qui assurent une protection contre le stress oxydatif. D'un point de vue médical, le stress oxydatif est lié à la prévalence de maladies neurodégénératives, inflammatoires et cardiovasculaires, d'allergies, de dysfonctionnement du système immunitaire, du diabète et de maladies liées à l'âge et au cancer²⁴.

Un autre bénéfice reconnu de la spiruline est sa richesse en fer²⁵. Cet élément est nécessaire à la biosynthèse de l'hémoglobine et sa carence entraîne une anémie ferriprive. La biodisponibilité du fer contenu dans la spiruline et son effet positif sur le taux de formation de ferritine ont été démontrés *in vitro*²⁶ mais n'ont toutefois pas été confirmés dans des essais cliniques randomisés en double aveugle²⁷.

1.4. Réglementation

Au regard de la législation européenne²⁸, les quatre espèces de spiruline suivantes sont considérées comme des aliments traditionnels (« not novel in food ») compte tenu d'une consommation constatée dans l'UE avant le 15 mai 1997 :

- *Limnospira maxima* (Setchell & N.L.Gardner) Nowicka-Krawczyk, Mühlsteinová & Hauer 2019. Synonyms: *Arthrospira maxima* Setchell & N.L.Gardner 1917, *Spirulina maxima* (Setchell & N.L.Gardner) Geitler 1932, *Oscillatoria pseudoplatensis* Bourrelly 1970.
- *Limnospira fusiformis* (Voronichin) Nowicka-Krawczyk, Mühlsteinová & Hauer 2019. Synonyms: *Spirulina fusiformis* Voronichin 1934, *Arthrospira fusiformis* (Voronichin) Komárek & J.W.G.Lund 1990.
- *Arthrospira platensis* Gomont 1892. Synonyms: *Arthrospira jenneri* var. *platensis* (Gomont) Guarrera & Kühnemann 0, *Oscillatoria platensis* (Gomont) Bourrelly 1970, *Spirulina jenneri* var. *platensis* Nordstedt 1884, *Spirulina platensis* (Gomont) Geitler 1925.
- *Spirulina major* Kützing ex Gomont 1892. Synonyms: *Arthrospira major* (Kützing ex Gomont) W.B.Crow 1927, *Spirulina oscillarioides* Turpin 1827, *Spirulina major* f. *constans* Emoto & Hirose 1952, *Oscillatoria oscillarioides* Iltis 1970.

Une cinquième espèce de spiruline est seulement considérée sous le statut de complément alimentaire (« not novel in food supplements ») pour laquelle une consommation a été constatée dans l'UE avant le 15 mai 1997 :

- *Limnospira indica* (Desikachary & N.Jeeji Bai) Nowicka-Krawczyk, Mühlsteinová & Hauer 2019. Synonyms: *Arthrospira indica* Desikachary & N.Jeeji Bai 1992.

Au regard de la législation française, trois espèces de spiruline figurent dans la liste des ingrédients autorisés dans les compléments alimentaires (Arrêté du 24 juin 2014)²⁹ : *Spirulina major*, *Spirulina maxima* et *Spirulina platensis*. Les espèces *A. (S.) fusiformis* et *A. indica* n'y figurent pas.

L'Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux (FDA, Food and Drug Administration) accorde le statut GRAS (Generally Recognized as Safe) aux espèces *S. maxima* et *S. platensis* suite à une évaluation de ces aliments par le « Dietary Supplements Information Expert Committee (DSI-EC) of the United States Pharmacopeial Convention (USP) » réalisée en 2011.³⁰

La FAO considère la spiruline comme un aliment d'intérêt majeur en se référant aux espèces *A. platensis* et *A. maxima*³¹.

Les autorités australiennes (Therapeutic Goods Administration) se réfèrent également uniquement aux espèces *A. platensis* et *A. maxima* dans leur réglementation sur les matières actives.

La spiruline n'est pas incluse dans la liste des aliments du codex alimentarius³². Seuls les extraits de spiruline, sans mention d'espèce, sont inclus comme colorant dans la liste des additifs alimentaires du codex alimentarius (CXS 192-1995) depuis la révision de 2023.

Selon les différentes réglementations, la spiruline peut donc être classée comme aliment, complément alimentaire ou ingrédient avec des nomenclatures variées qui distinguent des usages différents selon les espèces. Seule la législation européenne mentionne l'espèce *L. (A.) fusiformis* comme aliment. Cette espèce est exclue des législations américaine, australienne et française.

1.5. Taxonomie

On constate avec le paragraphe précédent que la réglementation et la taxonomie des spirulines sont liées et que coexistent dans les différents textes cinq désignations d'espèces (*platensis*, *fusiformis*, *maxima*, *indica* et *major*) et quatre désignations de genre (*Arthrospira*, *Limnospira*, *Spirulina* et *Oscillatoria*). Le nom vernaculaire « spiruline », en particulier sa traduction anglaise « spirulina », est lui-même source de confusion avec le genre cyanobactérien *Spirulina*.

La première description d'une spiruline a été réalisée par Gomont en 1892 qui a décrit une souche originaire du Rio de la Plata (Uruguay) et l'a assignée au genre *Arthrospira* en la désignant *A. platensis*. En 1917, une deuxième espèce a été décrite par Setchell & N.L. Gardner sous le nom *A. maxima* à partir d'une souche issue d'eaux saumâtres à Oakland (Etats-Unis). Le genre *Arthrospira* a été fusionné avec le genre *Spirulina* lors d'une révision taxonomique des Cyanophyceae réalisée par Geitler en 1932. Dès lors, pour des raisons d'antériorité du genre *Spirulina* sur le genre *Arthrospira*, la spiruline a été rattachée au genre *Spirulina*. En 1934, Voronichin décrit une troisième espèce, *Spirulina fusiformis*, à partir d'une souche provenant du lac Tanatar dans le sud de la Sibérie³³.

Par la suite, de nombreuses études ont montré que les genres *Spirulina* et *Arthrospira* étaient distincts. Herdman et al. ont ainsi montré dès 1979 que les souches *Spirulina platensis* PCC 7345 et *Spirulina major* PCC 6313 ne pouvaient appartenir au même genre compte tenu des différences constatées sur leur morphologie et leur contenu en acides désoxyribonucléiques³⁴.

Ces deux genres ont été séparés dans la première édition (1989) du « Bergey's Manual of Systematic Bacteriology ». En 1990, Komárek et Lund ont placé les espèces « *maxima* » et « *fusiformis* » dans les formes planctoniques d'*Arthrospira* et ont considéré *A. platensis* comme une espèce benthique³⁵.

En 1992, Desikachary et Jeeji Bai ont décrit une nouvelle espèce, *A. indica*, sur la base de différences morphologiques constatées, notamment au niveau des calyptres, sur une souche provenant du lac Lonar en Inde³⁵. En 1997, Tomaselli³⁶ propose de reconsidérer *A. platensis* comme une espèce planctonique et attire l'attention sur la plasticité des phénotypes qui rend hasardeuse la classification des espèces à partir de critères morphologiques.

En 1999, Scheldeman et al.³⁷ ont montré que 51 souches de spiruline étaient groupées en deux lignées en utilisant une méthode phylogénétique basée sur les séquences ITS (Internal Transcribed Spacer) situées entre les gènes codant l'ARN ribosomique. A cette occasion, la séparation des genres *Spirulina* et *Arthrospira* a pu aussi être démontrée. L'existence de deux lignées de spiruline a été confirmée en 2001 par Baurain et al.³⁸ qui ont analysé les séquences ITS de 21 souches de spiruline attribuées aux espèces *A. fusiformis*, *A. indica*, *A. maxima* et *A. platensis*. En 2001, Li et al.³⁹ ont montré que le pas d'hélice des trichomes de *A. maxima* et *A. fusiformis* n'était pas un critère taxonomique fiable et ont suggéré que ces deux espèces soient identiques. En 2002, Manen et Falquet⁴⁰ ont réalisé une étude phylogénétique basée sur des séquences de l'opéron phycocyanine (*cpcA-cpcB*) qui montre l'existence de deux lignées dont une divisée en deux sous-lignées. En 2012, Miklaszewska et al.⁴¹, en analysant les séquences de l'opéron des vésicules gazeuses (*gvp*), ont également montré l'existence de deux lignées corrélées avec celles identifiées avec les séquences ITS.

En 2018, Nowicka-Krawczyk et al.⁴² ont pu caractériser une souche de *A. jeneri*, l'espèce type du genre *Arthrospira*, issue d'un réservoir d'eau en Pologne. Cette étude a montré que *A. jeneri* diffère des souches de spiruline concernant sa morphologie cellulaire, son ultrastructure, son écologie et sa séquence du gène 16S rRNA. Les auteurs ont dès lors proposé de déplacer trois espèces de spiruline - *A. fusiformis*, *A. indica* et *A. maxima* - dans un nouveau genre appelé *Limnospira*. A cette occasion, l'espèce *A. platensis*, compte tenu de son caractère benthique décrit en 1892 par Gomont, n'a pas été déplacée dans ce nouveau genre.

En 2019, Papapanagiotou et Gkelis⁴³, suite à une étude phénotypique et phylogénétique (gène 16S rRNA) de 39 souches de spiruline, ont suggéré l'existence d'une seule espèce et de plusieurs sous-espèces. En 2021, Misztak et al.⁴⁴, en caractérisant une nouvelle souche de spiruline provenant de Sibérie, ont confirmé l'existence de deux lignées en réalisant des comparaisons génomiques entre 17 souches de spiruline tout en proposant un troisième clade selon une analyse des séquences 16S rRNA. Enfin, Roussel et al.⁴⁵ ont proposé en 2023 d'interpréter les deux lignées de spiruline comme une seule espèce du genre *Limnospira* sur la base d'une analyse des séquences 16S-ITS et d'une comparaison des génomes avec la méthode ANI (Average Nucleotide Identity).

S'il existe un consensus sur l'existence de deux lignées de spiruline, les interprétations à donner à ces lignées sont différentes selon les auteurs. Selon la nomenclature de référence publiée par le service LPSN ⁴⁶ (List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature, <https://lpsn.dsmz.de>), quatre appellations d'espèces de spiruline coexistent : *Limnospira fusiformis* (synonymes : *Spirulina fusiformis* et *Arthrospira fusiformis*), *L. indica* (synonyme : *A. indica*), *L. maxima* (synonymes : *S. maxima* et *A. maxima*) et *A. platensis*. Ces désignations ont toutes été publiées sous le « Code international de nomenclature pour les algues, les champignons et les plantes » (ICN, Botanical Code) et pas sous le code dédié aux prokaryotes (ICNP, International Code of Nomenclature of Prokaryotes). Le tableau 3 ci-dessous récapitule les différents noms d'espèces pouvant être rencontrés et leurs statuts en termes de nomenclature et taxonomie.

Tableau 3 : Noms des espèces de spiruline et leurs statuts en termes de nomenclature et taxonomie selon le LPSN (15 septembre 2024).

Nom	Statut nomenclature	Statut taxonomique
<i>Arthrospira fusiformis</i> (Woronichin 1934) Komárek and Lund 1990	Valablement publié (code ICN)	Synonyme homotypique
<i>Arthrospira indica</i> Desikachary and Jeeji Bai 1992		
<i>Arthrospira maxima</i> Setchell and Gardner 1917		
<i>Arthrospira platensis</i> Gomont 1892	Valablement publié (code ICN)	Nom correct
<i>Limnospira fusiformis</i> (Woronichin 1934) Nowicka-Krawczyk <i>et al.</i> 2019	Valablement publié (code ICN)	Nom correct
<i>Limnospira indica</i> (Desikachary and Jeeji Bai 1992) Nowicka-Krawczyk <i>et al.</i> 2019		
<i>Limnospira maxima</i> (Setchell and Gardner 1917) Nowicka-Krawczyk <i>et al.</i> 2019		
" <i>Limnospira platensis</i> " Nowicka-Krawczyk <i>et al.</i> 2019	Non valablement publié	Nom préféré (incorrect)
<i>Spirulina fusiformis</i> Woronichin 1934	Valablement publié (code ICN)	Synonyme homotypique
<i>Spirulina maxima</i> (Setchell and Gardner 1917) Geitler 1932		Nom illégitime (homonyme)

2. Cyanotoxines

Dans cette section, sont présentés les cyanotoxines, des métabolites secondaires produits par diverses cyanobactéries, et en particulier les microcystines qui sont centrales dans notre sujet d'étude. Seules les cyanotoxines hépatotoxiques, cytotoxiques et neurotoxiques en rapport avec l'alimentation (contamination par voie orale) sont présentées.

2.1. Nomenclature, toxicité et structures

2.1.1. Microcystines

Les microcystines (MCs) sont des heptapeptides cycliques hépatotoxiques initialement isolées à partir de la cyanobactérie unicellulaire *Microcystis aeruginosa*. Elles sont produites par de nombreux taxons de cyanobactéries - notamment les genres *Microcystis*, *Planktothrix*, *Nostoc*, *Dolichospermum* (*Anabaena*) - qui peuvent contaminer des eaux douces, saumâtres et marines, et aussi des milieux terrestres ⁴⁷. Notons que le genre *Arthrospira*, en particulier l'espèce *A. fusiformis*, est également cité dans les genres pouvant produire des MCs ^{48,47,49,50}.

Les MCs sont des inhibiteurs d'enzymes protéines phosphatases (PPs) qui interviennent dans la régulation de la phosphorylation des protéines. Cette inhibition augmente la phosphorylation des protéines dans les cellules du foie affectant ainsi de nombreuses voies métaboliques, comme le transport membranaire, la division cellulaire et la transcription génétique. Les MCs peuvent dès lors entraîner la nécrose du foie. Elles sont également citées comme étant des potentiels promoteurs de tumeurs, des perturbateurs endocriniens et pouvant endommager le matériel génétique ^{51,52}. Les MCs présentent de nombreux variants, approximativement 279 reportés en 2021 ⁵³, provenant principalement de substitution d'acides aminés en position 2 et 4 et de la présence ou non de groupes méthyle sur les positions 3 (R1) et 7 (R2) (Figure 7). Le variant le plus fréquemment rencontré et étudié sur le plan toxicologique est la microcystine-LR (MC-LR) avec les acides aminés L-leucine et arginine respectivement en position 2 et 4. Ce variant est également considéré comme l'un des plus toxiques ⁵².

Les MCs sont synthétisées par des enzymes, incluant des « non-ribosomal peptide synthetase (NRPS) » et des « polyketide synthetase (PKS) ». Ces enzymes sont encodées par les gènes *mcyA* à *mcyJ* (Tableau 4) groupés sur un cluster qui comporte environ 55.000 nucléotides ⁵⁴⁻⁵⁶.

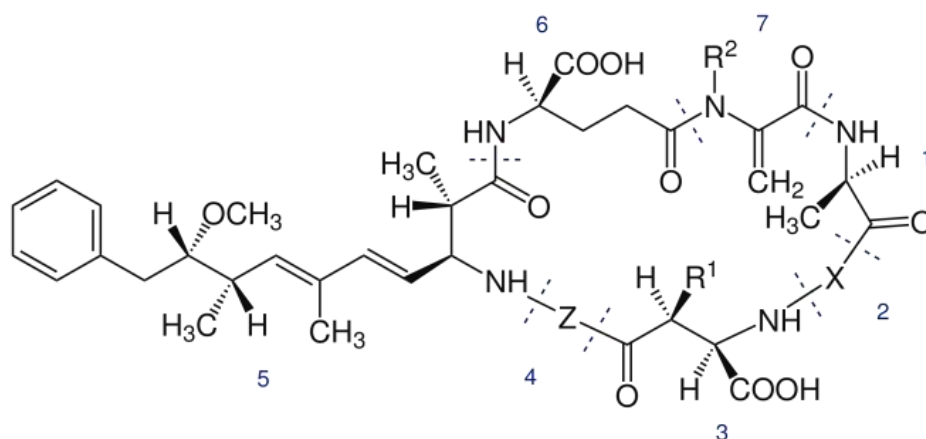


Figure 7. Structure moléculaire des microcystines. 1, D-Alanine ; 2, X (variable) ; 3, D-MeAsp (D-érythro-b-méthyl-D-acide aspartique) ; 4, Z (variable) ; 5, Adda (acide (2S, 3S, 8S, 9S)-3-amino-9-méthoxy-2-6-8-triméthyl-10-phényldéca-4,6-diénoïque) ; 6, D-glutamate ; 7, Mdha (N-méthyldéshydroalanine). R1 et R2, H (déméthylmicrocystines) ou CH₃. Source : Wikipedia selon Chorus et Welker 2021 ⁴⁷.

Tableau 4. Gènes et protéines impliquées dans la biosynthèse des microcystines chez *Microcystis aeruginosa* PCC 7806SL. ⁵⁴

Gène	Protéine	Nom de la protéine	Longueur (aa)
<i>mcyA</i>	McyA	non-ribosomal peptide synthetase	2.795
<i>mcyB</i>	McyB	non-ribosomal peptide synthetase	2.126
<i>mcyC</i>	McyC	non-ribosomal peptide synthetase	1.291
<i>mcyD</i>	McyD	type I polyketide synthase	3.906
<i>mcyE</i>	McyE	hybrid non-ribosomal peptide synthetase/type I polyketide synthase	3.487
<i>mcyF</i>	McyF	aspartate/glutamate racemase family protein	251
<i>mcyG</i>	McyG	type I polyketide synthase	2.631
<i>mcyH</i>	McyH	ATP-binding cassette domain-containing protein	585
<i>mcyI</i>	McyI	phosphoglycerate dehydrogenase	337
<i>mcyJ</i>	McyJ	methyltransferase domain-containing protein	311

2.1.2. Nodularines

Les nodularines (NODs) sont des pentapeptides cycliques hépatotoxiques initialement isolés à partir de la cyanobactérie *Nodularia spumigena*. Elles ont une structure (Figure 8) proche de celles des MCs et ont en commun l'acide aminé Adda. Les NODs sont également des inhibiteurs d'enzymes protéines phosphatases. Ces pentapeptides sont des métabolites secondaires synthétisés par un complexe de NRPS et PKS eux-mêmes encodés par les gènes *ndaA* à *ndaI* groupés dans un cluster d'environ 50.000 nucléotides ⁵⁷. Huit variants ont été identifiés provenant également de substitution d'acides aminés et de la présence ou non de groupes méthyle. Notons que le variant Nodularine-V est également appelé Motuporine ⁵⁸.

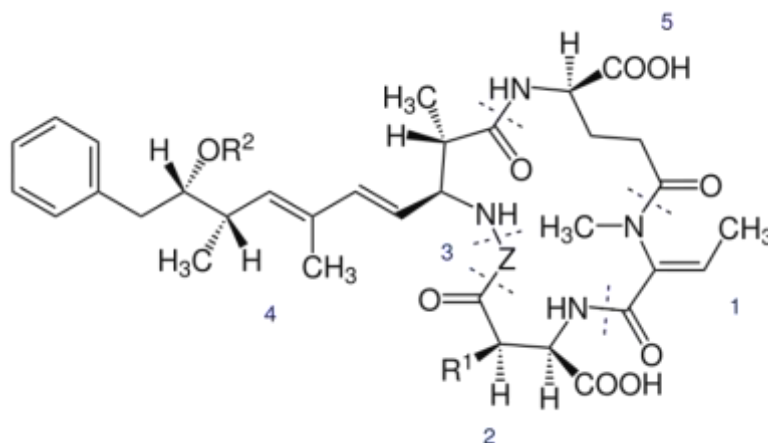


Figure 8. Structure moléculaire des nodularines. 1, Mdhb (N-méthyl-déhydrobutyrique); 2, D-MeAsp (D-érythrométhyl-D-acide aspartique); 3, Z (variable); 4, Adda (acide (2S, 3S, 8S, 9S)-3-amino-9-méthoxy-2-6-8-triméthyl-10-phényldéca-4,6-dièneoïque); 5, D-glutamate. R1 et R2, H ou CH₃. Source : Wikipedia selon Chorus et Welker 2021 ⁴⁷.

2.1.3. Anatoxines

Les anatoxines (ATXs) sont des alcaloïdes neurotoxiques initialement isolées de la cyanobactérie *Dolichospermum flos-aquae*. Quatorze variants ont été identifiés et les formes les plus connues sont l'anatoxine-a (ATX-a) et l'homoanatoxine-a.

L'anatoxine-a se lie irréversiblement aux récepteurs d'acétylcholine des neurones et des jonctions neuromusculaires, entraînant une paralysie des muscles notamment respiratoires. L'homoanatoxine-a partage les mêmes propriétés toxicologiques.

Les ATXs sont des métabolites secondaires biosynthétisés par des enzymes comportant trois PKS. Chez la cyanobactérie *Oscillatoria* PCC 6506, dix gènes (*Ana*) codent ces enzymes et sont groupés dans un cluster d'environ 30.000 nucléotides ^{59,60}.

2.1.4. Saxitoxines

Les saxitoxines (STX) sont des alcaloïdes neurotoxiques pouvant être produits par des dinoflagellées marines ⁶¹ et des cyanobactéries d'eau douce incluant notamment les genres *Dolichospermum* (*Anabaena*), *Microseira* (*Lyngbya*) et *Aphanizomenon* ⁴⁸. Plus de 57 analogues de STXs, regroupés sous l'appellation commune PSTs (Paralytic Shellfish Toxins), ont été identifiés. Les PSTs inhibent les canaux ioniques – sodium, calcium et potassium –

dans les neurones de vertébrés entraînant l'inhibition de la transmission des signaux neuronaux⁶². Les saxitoxines sont des métabolites secondaires dont la biosynthèse implique 13 gènes groupés sur le cluster *sxt* qui comprend environ 35.000 nucléotides^{63,64}.

2.1.5. Cylindrospermopsines

La cylindrospermopsine (CYN) est un polyketide alcaloïde initialement isolé à partir de la cyanobactérie *Raphidiopsis (Cylindrospermopsis) raciborskii* et dont huit variants CYN ont été décelés⁵³. Les CYNs agissent comme des composés cancérogènes et génotoxiques⁶⁵. Les CYNs sont biosynthétisées par des enzymes comprenant quatre PKS et deux complexes NRPS/PKS. Quinze gènes (*cyrA-cyrO*), groupés dans un cluster d'environ 43.000 nucléotides, sont impliqués dans cette biosynthèse⁶⁶.

2.1.6. Guanitoxine

La guanitoxine (GNT), anciennement appelée anatoxine-a(S) car engendrant des symptômes similaires aux ATX mais avec une salivation excessive, est un organophosphate neurotoxique. La GNT est un métabolite secondaire dont les gènes impliqués dans sa biosynthèse ne sont pas encore identifiés. Aucun analogue n'a été identifié à ce jour.⁵³

2.1.7. Aetokthonotoxine

L'aetokthonotoxine (AETX) est un alcaloïde neurotoxique produit par la cyanobactérie *Aetokthonos hydrillicola*. Elle provoque des maladies neurodégénératives. L'AETX est un métabolite secondaire dont la biosynthèse implique six gènes (*aetA-aetF*) groupé dans un cluster d'environ 9.000 nucléotides⁶⁷. Le gène *aetA* code une enzyme de type halogénase également impliquée dans la biosynthèse d'autres métabolites secondaires cyanobactériens⁶⁸.

2.1.8. BMAA et isomères

La β -N-méthylamino-L-alanine (BMAA) est un acide diaminé non protéinogène pouvant être produit par des cyanobactéries, des bactéries chemohétérotrophes, des dinoflagellés et des diatomées⁶⁹. La BMAA et ses formes isomériques - l'acide (S)-2, 4-diaminobutyric (DAB), la N-(2-aminoethyl) glycine (AEG), et la β -N-amino-L-méthyl alanine (BAMA) – sont des neurotoxines associées à des maladies humaines neurodégénératives^{70,71}.

La voie de biosynthèse enzymatique de la BMAA et de ses isomères par les cyanobactéries n'est pas clairement identifiée à ce jour bien que des gènes, hypothétiquement lié à la synthèse de BMAA et de DAB, aient été identifiés dans des génomes de cyanobactéries^{72,73}.

2.2. Réglementation relative aux cyanotoxines

Dans le cadre de ces recommandations relatives à la qualité de l'eau potable, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a publié une valeur de référence d'apports journaliers tolérables (VTR, valeur toxicologique de référence) uniquement pour la MC-LR⁵². Cette VTR, établie pour une exposition continue à long terme, est de 0,04 μg MC-LR par kg poids corporel et par jour ($\text{kg}^{-1} \text{bw day}^{-1}$). Pour des expositions de courte durée, la valeur de référence est de 0,4 μg MC-LR $\text{kg}^{-1} \text{bw day}^{-1}$. Sur cette base l'OMS a établi une recommandation de teneur maximale en MC-LR dans les eaux potables fixée à 1 μg MC-LR L^{-1} en considérant une consommation quotidienne de 2 L d'eau, ne représentant pas plus de 80% des apports en MCs, pour une personne de 60 kg.

Cette VTR sert de référence pour établir d'autres recommandations dans le domaine de l'alimentation. Concernant les compléments alimentaires à base de micro-algues, les autorités de l'Oregon (Etats-Unis) ont établi une limite maximale de 1 µg MC-LR par gramme de produit suite à une contamination majeure du lac Klamath, où est récoltée la cyanobactérie *Aphanizomenon flos-aquae* (AFA), par des cyanobactéries *Microcystis aeruginosa* productrices de MC-LR ⁷⁴.

Aux Etats-Unis, la monographie consacrée à *A. platensis* dans l'« USP Dietary Supplements Compendium » établi une teneur maximale en microcystines totales (méthode Adda-ELISA) de 0,5µg MCs g⁻¹ de spiruline sèche (0,5 ppm). En France, dans la liste des ingrédients autorisés dans les compléments alimentaires (Arrêté du 24 juin 2014) ²⁹, aucune recommandation concernant le contrôle des cyanotoxines n'est indiquée pour les espèces de spiruline alors que ce même document précise une limite de 1 µg MCs g⁻¹ pour l'algue Klamath (AFA). De même, au Canada, une limite de 1 µg MCs g⁻¹ a été fixée pour la seule Klamath (AFA) et pas pour la spiruline.

La Fédération des Spiruliniers de France a établi un guide des bonnes pratiques et d'hygiène (GBPH) pour la production paysanne de spiruline. Ce GBPH précise également une limite de 1 µg MC-LReq g⁻¹ de spiruline sèche. Cette limite, issue de la première recommandation établie par le Département de l'Agriculture de l'Oregon (ODA, Etats-Unis), s'impose comme une recommandation communément acceptée dans l'UE sans qu'elle fasse l'objet d'une réglementation formelle.

En France, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) a émis en 2019 une recommandation de VTR pour les microcystines égale à 1 ng MC-LR kg⁻¹ bw day⁻¹. Soit une VTR 400 fois plus faible que celle établie par l'OMS. Cette différence s'explique par la prise en compte par l'ANSES d'une étude portant sur l'altération de la qualité spermatique réalisée sur des souris mâles ⁷⁵. Cette étude a été rejetée par l'OMS lors de sa dernière réévaluation de la VTR microcystines effectuées en 2020 ⁵².

Concernant les ATXs, l'OMS considère que les informations sont insuffisantes pour définir une VTR pour une exposition chronique. Elle a toutefois établi, pour les expositions à court-terme, une valeur guide maximale pour l'eau potable de 30 µg ATXs L⁻¹ ⁷⁶. L'ANSES n'a pas proposé de VTR pour cette toxine faute de données toxicologiques suffisantes ⁷⁷.

Pour les CYN, l'OMS a publié une VTR de 0,03 µg CYN kg⁻¹ bw day⁻¹ et une valeur guide maximale d'exposition chronique pour l'eau potable de 0,7 µg CYN L⁻¹ ⁶⁵. L'ANSES a proposé une VTR subchronique (exposition de 15 à 364 jours, 0,14 µg CYN kg⁻¹ bw day⁻¹) pour cette même toxine avec un niveau de confiance moyen ⁷⁸.

Enfin, en se basant sur des cas d'empoisonnements d'humains avec des PST (paralytic shellfish toxins), l'OMS a défini une valeur guide maximale d'exposition à court terme pour l'eau potable de 3 µg STX L⁻¹ ⁷⁹. L'ANSES a également proposé des VTR d'exposition aiguë, avec un niveau de confiance faible compte tenu du faible nombre d'études toxicologiques, pour la STX (0,1 µg STX kg⁻¹ bw day⁻¹) ⁸⁰.

Les autres cyanotoxines n'ont pas fait l'objet de recommandation de VTR ni par l'OMS, ni par l'ANSES, faute de données toxicologiques suffisantes.

2.3. Méthodes d'analyses

Les principales méthodes analytiques utilisées pour détecter les cyanotoxines sont les méthodes biochimiques immuno-enzymatique ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) et les méthodes chimiques utilisant notamment la chromatographie en phase liquide (LC) et la spectrométrie de masse (MS).

Les tableaux 5 et 6 des chapitres suivants (2.4 et 2.5) mentionnent les méthodes utilisées dans des études pour détecter et quantifier des cyanotoxines dans des aliments et des compléments alimentaires.

Concernant les MCs et les NODs, l'acide aminé Adda, spécifique de ces cyanotoxines, est utilisé comme cible par les kits d'analyses enzymatiques ELISA (Adda-ELISA) pour détecter les MCs et NODs sans distinction de congénères. Ces tests Adda-ELISA sont calibrés avec des étalons de MC-LR, le congénère de MC le plus fréquent et réputé le plus toxique ⁵², et les résultats d'analyse peuvent être présentés en MC équivalent LR (MC-LReq) ou être exprimés en MCs totale (MCs). Les réactions croisées avec les autres congénères de MCs sont variables et ces analyses Adda-ELISA sont considérées comme semi-quantitatives ⁸¹. Les limites de quantification des MCs dans un échantillon aqueux se situent entre 0,05 et 0,15 ppb pour les kits disponibles.

Il existe également des kits ELISA développés pour détecter plus spécifiquement la MC-LR qui utilisent un anticorps produit par des lapins ⁸². Cet anticorps interagit également avec les variants MC-YR et MC-RR mais pas ou faiblement avec les autres congénères de MCs. Ces kits ELISA sont donc réservés à des travaux de recherche et non recommandés pour les contrôles sanitaires.

L'US EPA (Environmental Protection Agency, Etats Unis) a publié en 2016 une méthode pour la détermination des MCs et NODs totales dans les eaux potables et eaux ambiantes. Cette méthode, connue sous le nom « EPA 546 », est basée sur l'utilisation de kits Adda-ELISA et demeure actuellement la seule méthode ELISA normée pour analyser des cyanotoxines.

L'ANSES a établi en 2020 un rapport d'évaluation des risques liés aux cyanobactéries et leurs toxines dans lequel elle recommande l'utilisation des tests ELISA pour l'analyse des cyanotoxines dans les eaux destinées à l'alimentation, les eaux de loisirs et les eaux destinées aux activités de pêche. Pour les MCs, l'ANSES recommande l'utilisation des tests Adda-ELISA.

Les analyses de MCs dans des produits spirulines sont réalisées selon la méthode de Lawrence et al. ⁸³ qui consiste à réaliser une extraction des MCs dans une solution de méthanol suivie d'une dilution aqueuse qui permet l'utilisation des kits ELISA développés pour l'analyse des eaux. Cette méthode engendre une dilution d'un facteur 1000, ce qui ramène la limite de quantification des analyses entre 0,05 et 0,15 ppm.

Les analyses combinant des méthodes chromatographiques et de spectrométrie de masse (par exemple, LC-MS/MS) sont considérées comme plus précises et sensibles, mais sont limitées aux congénères (ex. : MC-LR) pour lesquels des standards de référence sont disponibles ⁸⁴.

Une méthode normée (ISO 20179:2005) utilisant l'extraction en phase solide (SPE) et la LC a été validée pour les congénères MC-LR, MC-RR, MC-YR. L'US EPA a publié une méthode

utilisant la LC-MS/MS (EPA 544) pour les congénères MC-LR, MC-LA, MC-LF, MC-LY, MC-RR, MC-YR et la NOD-R. D'autres standards de MCs sont disponibles (ex. : MC-LW, MC-WR, dMC-LR, dMC-RR) et peuvent être utilisés avec ces méthodes d'analyses chimiques ^{85,86}.

Concernant les autres cyanoatoxines, des kits ELISA sont disponibles pour l'ATX-a, les CYNs, les STXs et la BMAA. Des méthodes chimiques utilisant la LC combinée ou non avec la MS sont également disponibles. L'US EPA a publié une méthode LC-MS/MS (EPA 545) pour l'ATX-a et la CYN ⁸⁷.

2.4. Cyanotoxines dans l'alimentation

Les cyanobactéries et leurs cyanotoxines sont susceptibles de contaminer de nombreux milieux aquatiques en lien avec la production alimentaire tels que les bassins d'aquaculture et les eaux de surface utilisées pour l'irrigation et l'alimentation animale. On peut ainsi retrouver des cyanotoxines dans divers animaux aquatiques mais aussi terrestres, dans des plantes et dans des compléments alimentaires à base de cyanobactéries ou de micro-algues (BGAS).

Testai et al. en 2016 ⁸¹ et Drobac Backovic et Tokodi en 2024 ⁸⁸ ont produits des revues sur le sujet des cyanotoxines dans l'alimentation. Sont présentés ci-après des exemples de contamination (Tableau 5), issus de ces articles et d'autres travaux récents, rencontrés sur le marché européen et qui illustrent la problématique des cyanotoxines dans l'alimentation au-delà de la spiruline.

Tableau 5 : Exemples de contamination par des cyanotoxines dans des aliments sur le marché européen.

Aliment	Niveau de contamination	Méthode d'analyse	Pays et référence
Microcystines			
Chair de poisson (<i>Cyprinus carpio</i>)	119 ± 33 µg MC-LR eq/kg FW	Adda-ELISA	Grèce ⁸⁹
Chair de poisson (<i>Acipenser gueldenstaedtii</i>)	1499 µg MC-LR eq /kg DW	ELISA	Grèce ⁹⁰
Chair de poisson (<i>Abramis brama</i>)	500 µg MCs (8 variants)/kg FW	HPLC-PAD	Pologne ⁹¹
Moule méditerranéenne (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	142 ± 14 µg MC-LR eq/kg FW	Adda-ELISA	Grèce ⁹²
Ecrevisse (<i>Astacus astacus</i>)	329 ± 95 µg MC-LR eq /kg FW	Adda-ELISA	Grèce ⁸⁹
Ecrevisse (<i>Procambarus clarkii</i>)	18100 µg MC-LR/kg FW	LC-MS	Espagne ⁹³
Cuisse de grenouille (<i>Rana epirotica</i>)	325 ± 87 µg MC-LR eq/kg FW	Adda-ELISA	Grèce ⁸⁹
Laitue (<i>Lactuca sativa</i>)	2487 µg MCs/kg DW	CIPPIA	Angleterre ⁹⁴
Nodularine			

Aliment	Niveau de contamination	Méthode d'analyse	Pays et référence
Moule (<i>Mytilus trossulus</i>)	816 µg NOD/kg DW	HPLC-PAD	Pologne ⁹⁵
Chair de poisson (Platichthys flesus)	200 µg NOD/kg DW	ELISA	Finland ⁹⁶
BMAA			
Moule méditerranéenne (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	1,8 à 6,0 µg BMAA/g FW	UHPLC-MS/MS	France ⁹⁷
Huître creuse (<i>Magallana gigas</i>)	0,6 à 1,6 µg BMAA/g FW	UHPLC-MS/MS	France ⁹⁷
Moule méditerranéenne (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	3,8 à 14,4 µg BMAA/g DW	LC-MS/MS	France ⁹⁸
Huître creuse (<i>Magallana gigas</i>)	2,7 à 10,3 µg BMAA/g DW	LC-MS/MS	France ⁹⁸
Crevette (Caridea)	0,46 µg BMAA/g FW	UHPLC-MS/MS	Suède ⁹⁹

FW : poids frais. DW : poids sec. LC : Liquid chromatography. HPLC : High pressure LC. UPLC : Ultra pressure. MS : mass spectrometry. MS/MS : tandem MS. PAD : photodiode array detection. CIPPIA : Colorimetric immuno-protein phosphatase inhibition assay. ELISA : Enzyme-linked immunosorbent assay.

2.5. Cyanotoxines dans les compléments alimentaires BGAS

La présence de cyanotoxines dans des compléments alimentaires a été démontrée en 1999 par Gilroy et al. ⁷⁴ qui ont trouvé des MCs dans des produits à base de Klamath (*Aphanizomenon flos-aquae*) et de spiruline issus du marché US avec des concentrations atteignant 18 ppm pour la première et 0,52 ppm pour la seconde. Depuis de nombreuses études ont montré la présence régulière de cyanotoxines dans les produits Klamath et plus ponctuelle dans les produits spiruline comme le montre le tableau 6 qui synthétise les études réalisées sur des produits trouvés sur le marché européen.

Tableau 6 : Recherches de cyanotoxines dans des compléments alimentaires Klamath (*Aphanizomenon flos-aquae*) et Spiruline issus du marché européen.

Complément alimentaire	Niveau de contamination	Méthode d'analyse	Pays et référence
Microcystines			
Klamath (n=9)	0,9 à 5,80 µg MC-LR/g DW	LC-MS/MS	Allemagne ¹⁰⁰
	0,8 à 6,10 µg MC-LR eq/g DW	Adda-ELISA	
Klamath (n=8)	0,24 à 5,64 µg MCs (6 variants)/g DW	UPLC-MS/MS	Belgique ⁸⁶

Complément alimentaire	Niveau de contamination	Méthode d'analyse	Pays et référence
Klamath (n=2)	6,58 µg MC-LR/g DW, 5,51 µg MC-RR/g DW	HILIC-MS/MS	Espagne ¹⁰¹
Klamath (n=8)	<0,5 à 3 µg MC-LR/g DW	LC-MS/MS	Irlande ¹⁰²
Klamath (n=26)	0,02 à 4,02 µg MC-LR/g DW, 0,01 à 2,02 µg MC-LA/g DW	LC-MS/MS	Italie ¹⁰³
Spiruline (n=5)	Non détecté (6 variants MCs) 0,1 µg MCs/g DW	LC-MS/MS Adda-ELISA	Allemagne ¹⁰⁰
Spiruline (n=18)	Non détecté (6 variants MCs)	UPLC-MS/MS	Belgique ⁸⁶
Spiruline (n=6)	Non détecté (7 variants MCs)	LC-MS/MS	Italie ¹⁰³
Spiruline (n=3)	Non détecté (MC-LR, -RR)	HILIC-MS/MS	Espagne ¹⁰¹
Spiruline (n=31)	0,04 à 0,58 µg MCs/g DW	Adda-ELISA	Grèce ¹⁰⁴
Spiruline (n=4)	Non détecté	LC-MS/MS	Irlande ¹⁰²
Anatoxin-a			
Spiruline (n=4)	Non détecté	LC-MS/MS	Portugal ¹⁰⁵
Cylindrospermopsines			
Spiruline (n=31)	0,22 à 0,35 µg CYNs/g DW	ELISA	Grèce ¹⁰⁴
Saxitoxines			
Klamath (n=26)	Non détecté	ELISA	Italie ¹⁰³
Spiruline (n=31)	Non détecté	ELISA	Grèce ¹⁰⁴
Spiruline (n=4)	Non détecté	LC-MS/MS	Irlande ¹⁰²
Spiruline (n=6)	Non détecté	ELISA	Italie ¹⁰³

HILIC: hydrophilic interaction liquid chromatography.

2.6. Cyanobactéries productrices de cyanotoxines

La présence ponctuelle de cyanotoxines dans des produits spiruline est avérée et l'hypothèse la plus plausible de ces contaminations est la présence de cyanobactéries toxiques dans les cultures de spiruline.

Les genres de cyanobactéries pour lesquels des taxons, au regard des connaissances actuelles, sont associés à la production de cyanotoxines sont listés dans le tableau 7. Cette liste est basée sur les synthèses publiées par Bernard et al. en 2017 ⁴⁸, Chorus et Welker ⁴⁷ en 2021 et Lalić en 2024 ⁴⁹. Elle ne retient que les identifications réalisées sur des souches isolées et ne concerne que les cyanotoxines présentées ci-avant (2.1).

Tableau 7. Taxons de cyanobactéries associés à la production de toxines.

Ordre	Famille	Genre	Toxines
Chroococcales	Geminocystaceae	<i>Annamia</i>	MCs ¹⁰⁶
	Microcystaceae	<i>Aphanocapsa</i>	MCs ¹⁰⁷
		<i>Merismopedia</i>	MCs ¹⁰⁸
		<i>Microcystis</i>	MCs ¹⁰⁹⁻¹¹² , ATX ¹¹²
		<i>Radiocystis</i>	MCs ¹¹³
Geitlerinematales	Geitlerinemataceae	<i>Geitlerinema</i>	MCs ¹¹⁴ , STX ¹¹⁵
Leptolyngbyales	Leptolyngbyaceae	<i>Leptolyngbya</i>	MCs ^{108,114}
Nostocales	Aphanizomenaceae	<i>Aphanizomenon</i>	CYN ¹¹⁶ , ATX ^{117,118} , STX ¹¹⁹⁻¹²²
		<i>Cuspidothrix</i>	ATX, STX
		<i>Cylindrospermopsis</i>	CYN ¹²³
		<i>Cylindrospermum</i>	STX ¹¹⁵
		<i>Dolichospermum</i> (<i>Anabaena</i>)	MCs ¹⁰⁹ , GNT ¹²⁴ , ATX ^{112,125} , STX ¹²⁶
		<i>Raphidiopsis</i>	CYN ¹²⁷ , STX ¹²⁸
	Calotrichaceae	<i>Calothrix</i>	MCs ¹²⁹
	Hapalosiphonaceae	<i>Fischerella</i>	MCs ¹³⁰
		<i>Hapalosiphon</i>	MCs ¹³¹
	Nodulariaceae	<i>Anabaenopsis</i>	MCs ¹³²
		<i>Chrysoosporum</i>	CYN ¹³³
		<i>Nodularia</i>	NODs ^{134,135}
		<i>Umezakia</i>	CYN ¹³⁶
	Nostocaceae	<i>Nostoc</i>	MCs ¹³⁷ , NODs ¹³⁸
	Scytonemataceae	<i>Scytonema</i>	STX ¹³⁹
Oscillatoriales	Microcoleaceae	<i>Arthrospira</i>	MCs ^{1,2} , ATX ^{1,2}
		<i>Lyngbya</i>	CYN ¹⁴⁰ , STX ¹⁴¹
		<i>Planktothrix</i>	MCs ^{142,143}
		<i>Tychonema</i>	ATX ¹⁴⁴

Ordre	Famille	Genre	Toxines
	Oscillatoriaceae	<i>Oscillatoria</i>	MCs ¹⁴⁵ , CYN ¹⁴⁶ , ATX ¹⁴⁷ , Homo-ATX ⁶⁰
		<i>Phormidium</i>	MCs ¹⁴⁸ , ATX ¹⁴⁹ , Homo-ATX ^{147,150,151} , STX ¹¹⁵
Synechococcales	Pseudanabaenaceae	<i>Pseudanabaena</i>	MCs ¹⁵² , ATX ¹¹⁸
	Synechococcaceae	<i>Synechococcus</i>	MCs ¹⁵²

Seuls six ordres taxonomiques sont présents dans cette liste qui comprend 30 genres dont la moitié sont des Nostocales.

Concernant la BMAA, des biais méthodologiques sur les méthodes d'analyses ne permettent pas d'établir un consensus sur les taxons associés à leur production ^{47,153}.

2.7. La toxicité supposée de *Arthrospira fusiformis*

En 2004, Andreas Ballot et ses collègues du Leibniz-Institute of Freshwater Ecology and Inland Fisheries, Department of Limnology of Stratified Lakes, ont annoncé que la souche *Arthrospira fusiformis* AB2002/02, prélevée dans le lac Sonachi (Kenya), produisait des microcystines (2,2 µg MC-YR/g DW) et des anatoxine-a (0,3 µg ATX-a/g DW) ². Ces mêmes auteurs ont publié en 2005 une seconde étude montrant que la souche *A. fusiformis* AB2002/10, issue du lac Bogoria (Kenya), produisait des MC-YR (15,02 µg/g DW) et des ATX-a (10,38 µg/g) et que la souche *A. fusiformis* AB2002/04 produisait des ATX-a (0,14 µg/g DW) ¹. Ces deux études basées sur la recherche et la quantification des toxines par des méthodes ELISA et HPLC n'avaient toutefois pas mis en évidence de production de cyanotoxines dans d'autres souches de *A. fusiformis* issue des lac Simbi (AB2002/11, Kenya) et Elmenteita (AB2002/01, Kenya).

En 2005, Lugomela et al. ont attribué la mortalité de masse de flamants nains (*Phoeniconaias minor*), survenue au lac Big Momela (Tanzania), à leur consommation de *A. fusiformis*.

Depuis ces publications, aucune étude n'a pu mettre en évidence la toxicité de *A. fusiformis* ou d'une autre espèce de spiruline. Mussagy et al. ont analysé trois cultures de souches de *A. fusiformis*, issues de bassins d'eaux usées au Mozambique et du lac Nakuru au Kenya, sans pouvoir détecter de MCs ou ATX avec des méthodes ELISA et HPLC ¹⁵⁴. Ces auteurs ont également montré l'absence du gène *mcyE* dans les deux souches mozambicaines avec une analyse PCR ¹⁵⁵.

Parmi les genres de cyanobactéries connus pour contenir des souches productrices de toxines, il existe également des souches non productrices de toxines ¹⁵⁶. Dès lors, ces différents auteurs ont conclu que le caractère toxique de *A. fusiformis* est spécifique aux souches dont certaines auraient perdu la capacité génétique de produire des toxines ¹⁵⁴.

En conséquence des articles de Ballot et al., *A. fusiformis* est citée comme producteur potentiel de MCs et ATXs dans plusieurs ouvrages et articles, notamment ceux de Bernard et al. en

2017 ⁴⁸, Buratti et al. en 2017 ⁵⁰, Chorus et Welker en 2021 ⁴⁷ et Lalić en 2024 ⁴⁹. On notera que *L. (A.) fusiformis* n'est pas mentionnée dans les espèces comestibles par les autorités françaises, australiennes et américaines, ni par l'OMS.

Plusieurs études génomiques sur différentes souches de spiruline ont systématiquement montré une absence de capacité génétique à produire des toxines comme indiqué dans le tableau 8. Cependant, aucune de ces souches n'a été identifiée comme *L. fusiformis* dans ces publications, soit parce que les souches étaient assignées à une autre espèce (*A. platensis*) ou alors non assignée à une espèce particulière.

Table 8 : Etudes génomiques sur le potentiel toxique de souches de spiruline.

Souche ^a	Cyanotoxines ciblées	Méthode utilisée	Référence
<i>Arthrospira platensis</i> NIES-39	MCs, NODs, ATXs, STXs, CYN	Annotation fonctionnelle du génome	Fujisawa et al. 2010 ¹⁵⁷
<i>Arthrospira</i> sp. PCC 8005	MCs, NODs, ATXs	Annotation fonctionnelle du génome	Morin 2010 ¹⁵⁸
<i>Arthrospira platensis</i> C1 (PCC9438)	MCs, NODs, ATXs, STXs, CYN	Recherche de clusters NRPS et PKS	Cheevadhanarak et al. 2012 ¹⁵⁹
<i>Arthrospira /Limnospira</i> sp. O9. 13F	MCs, NODs, CYN	Recherche des gènes impliqués dans la production de cyanotoxines dans les genres <i>Microcystis</i> , <i>Nodularia</i> et <i>Cylindrospermopsis</i> .	Misztak et al. 2021 ⁴⁴

^a Nom utilisé par les auteurs.

Afin de rassurer les producteurs et les autorités de sécurité alimentaire, une ou plusieurs souches de *L. fusiformis* devraient être identifiées pour confirmer ou infirmer la toxicité de cette espèce. En particulier, la souche de spiruline camarguaise, soupçonnée d'être toxique, nécessite d'être caractérisée sur le plan toxigène.

3. Objectifs et organisation de la thèse

Les éléments présentés précédemment montrent que les réglementations qui encadrent la production, notamment au sens des espèces autorisées, et la communication sur la spiruline sont étroitement liées aux résultats de travaux scientifiques. Les producteurs qui ont pris conscience que leur spiruline peut être contaminée par des cyanotoxines s'interrogent sur la pérennité de leur activité au regard de ce risque.

A ce jour, plusieurs questions sont posées et attendent des réponses scientifiques.

- Quelle est la situation de la production française en termes de cyanotoxines ?
- Quelles sont les espèces de spiruline cultivées et sont-elles toxiques ?
- Est-ce que la souche de spiruline camarguaise mise en cause en 2018 peut-être cultivée ?
- Quelles sont les cyanobactéries contaminantes des cultures de spiruline et sont-elles toxiques ?
- Comment prévenir et contrôler la présence éventuelle de cyanotoxines dans les productions ?

Ces questions sont à l'origine du sujet de thèse que nous avons décliné en deux objectifs principaux.

Le premier objectif consiste à apporter des connaissances sur les contaminations des cultures françaises de spiruline par des cyanotoxines et par des cyanobactéries, autres que les *Limnospira*, afin d'évaluer la toxicité éventuelle des produits spiruline et de fournir des pistes d'amélioration des pratiques culturelles et de surveillance et contrôle des contaminations.

Cet objectif sera traité dans les chapitres I et III de la thèse.

Dans le chapitre I, nous apporterons une vue globale des cultures et productions françaises de spiruline, en termes de contamination par des microcystines et des cyanobactéries, en traitant les données d'analyses réalisées, entre 2013 et 2021, par 95 producteurs adhérents de la FSF. Seront traitées des questions sur les niveaux des contaminations et leurs évolutions, les taxons de cyanobactéries contaminantes, la relation entre contamination des cultures et contamination des produits récoltés, et la comparaison des méthodes d'analyses des MCs. Les résultats permettront de formuler des recommandations à la profession sur les pratiques culturelles et la surveillance des contaminations.

Dans le chapitre III, nous explorerons la cyanosphère de cultures de spiruline avec des méthodes génétiques afin d'apporter des réponses précises sur l'identité des contaminants et leur potentiel toxique, et d'apporter des connaissances scientifiques sur l'écologie de ces milieux artificiels.

Le deuxième objectif consiste à identifier, parmi les souches cultivées en France et l'écotype camarguais, les différentes espèces de spiruline afin de vérifier si ces taxons, en particulier *Limnospira fusiformis*, ont la capacité génétique de produire des cyanotoxines.

Cet objectif sera traité dans le chapitre II dans lequel nous étudierons, avec des méthodes génétiques, différentes souches afin de vérifier l'hypothèse de non-toxicité des spirulines et de clarifier leur nomenclature.

La structure des différents chapitres, avec les principales questions scientifiques et méthodologies ou approches appliquées, est synthétisée dans le tableau 9.

Dans ce manuscrit, les trois chapitres sont présentés, rédigés en anglais, sous forme d'articles scientifiques publiés (chapitres I et II) ou en cours de publication (chapitre III). Une dissertation sur l'ensemble des résultats obtenus, les limites des études et les potentiels développements pour des recherches futures est discutée dans la section « Discussion et Perspectives ». Enfin, une synthèse des apports des travaux réalisés est présentée dans la partie « Conclusion générale ».

Tableau 9 : Plan de la thèse, avec les questions scientifiques posées et les approches appliquées pour chaque chapitre.

Chapitre	Principales questions scientifiques	Approches et méthodes
I	<p>Quelle est la situation des productions françaises de spiruline en termes de contaminations par des cyanobactéries et des microcystines ?</p> <p>Quelle est la relation entre ces contaminations ?</p> <p>Quelles sont les évolutions temporelles des contaminations ?</p> <p>Existe-t-il des facteurs cultureux qui influencent les contaminations ?</p>	<p>Constitution d'une base de données des résultats d'analyses réalisées par les producteurs.</p> <p>Analyses statistiques de ces données.</p>
II	<p>Quelles sont les espèces des souches de spiruline cultivées en France ?</p> <p>Comment interpréter les deux lignées de spiruline en termes de nomenclature ?</p> <p>L'espèce <i>L. fusiformis</i> est-elle toxique ?</p> <p>La souche camarguaise est-elle une <i>L. fusiformis</i> et est-elle toxique ?</p>	<p>Acquisition de données génétiques sur différentes souches de spiruline.</p> <p>Analyses phylogénétiques et phylogénomiques.</p> <p>Comparaisons génomiques.</p> <p>Observations des morphologies et ultrastructures.</p> <p>Analyses génomiques.</p>
III	<p>Quelles sont les cyanosphères des cultures de spiruline ?</p> <p>Quelles sont les cyanobactéries contaminantes de ces cultures ?</p> <p>Ces cyanobactéries sont-elles toxiques ?</p> <p>Comment ces cyanobactéries peuvent-elles proliférer en compétition avec les spirulines ?</p>	<p>Acquisition de données génétiques sur différents échantillons de cultures de spiruline et d'un échantillon environnemental.</p> <p>Analyses phylogénétiques et comparaisons génomiques.</p> <p>Observations des morphologies et ultrastructures.</p> <p>Analyses génomiques.</p>

Chapitre I



Chapitre I : Microcystins and Cyanobacterial Contaminants in the French Small-Scale Productions of Spirulina (*Limnospira* sp.)

Pierre-Etienne Pinchart ^{1,2}, Amandine Leruste ², Vanina Pasqualini ¹ and Felice Mastroleo ³

¹ UMR 6134 SPE, Université de Corse Pasquale Paoli (UCPP), 20250 Corte, France; pierre_etienne_pinchart@yahoo.fr (P.-E.P.); pasqualini_v@univ-corse.fr (V.P.)

² Fédération des Spiruliniers de France (FSF), 34800 Clermont-l'Hérault, France; amandine@spiruliniersdefrance.fr

³ Microbiology Unit, Nuclear Medical Applications, Belgian Nuclear Research Centre, SCK CEN, 2400 Mol, Belgium

Réécrit sur base de l'article :

Pinchart, P. E., Leruste, A., Pasqualini, V., & Mastroleo, F. (2023). Microcystins and cyanobacterial contaminants in the french small-scale productions of spirulina (*Limnospira* sp.). *Toxins*, 15(6), 354. <https://doi.org/10.3390/toxins15060354>

Contexte général et résumé

La spiruline (*Limnospira* spp.) est consommée dans le monde entier, sous forme d'aliments ou de compléments alimentaires, pour sa valeur nutritionnelle et ses effets positifs pour la santé. Elle est naturellement présente dans des eaux alcalines, généralement saumâtres et riches en carbonates, nitrates, phosphates et fer. La spiruline est cultivée dans des fermes aquacoles pour des usages alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques, en particulier en France avec une filière de 180 producteurs dont 120 sont adhérents à la Fédération des Spiruliniers de France (FSF).

De nombreuses cyanobactéries sont connues pour produire diverses cyanotoxines. Les compléments alimentaires à base d'algues bleu-vert (BGAS) - spiruline, klamath et chlorelle - sont soupçonnés depuis longtemps de contenir des cyanobactéries potentiellement toxiques et des cyanotoxines. En particulier des microcystines (MCs), heptapeptides cycliques hépatotoxiques, dont il existe plus de 270 congénères. Le variant MC-LR, produit notamment par *Microcystis aeruginosa*, est considéré comme l'un des plus toxiques et fait l'objet de recommandations sanitaires de l'OMS qui a établi, en 1997 et 2020, les doses journalières tolérables pour une exposition chronique à la MC-LR (0,04 µg MC-LR/(kg.jour)). Sur cette base, un niveau maximal de MCs dans les BGAS a été établi à 1 µg/g (1 ppm) en 1997.

En 1998, la présence de MCs a été démontrée dans des compléments alimentaires à base de spiruline commercialisés aux États-Unis. Ensuite, les analyses de MCs réalisées par méthodes soit enzymatiques, soit de spectrométrie de masse, sur des échantillons de spiruline provenant de différents marchés (Australie, Belgique, Chine, Allemagne, Italie, Inde, Espagne, Suisse, USA), ont montré des résultats très variables allant de la non-détection à des valeurs pouvant dépasser 2 ppm.

Nous avons collecté les résultats d'analyses de MCs et d'énumérations de cyanobactéries réalisées, entre 2013 et 2021, par un laboratoire privé pour 95 producteurs adhérents de la FSF ayant accepté de partager leurs données.

623 résultats d'analyses réalisées sur spiruline sèche avec la méthode enzymatique Adda-ELISA ont permis d'établir que les niveaux de MCs, détectées dans 58 % des échantillons, sont faibles et compatibles avec une consommation journalière de 3 gr de spiruline (dose généralement recommandée par les producteurs FSF). Cinq échantillons présentant des niveaux élevés ont fait l'objet de contre-analyses par méthode UHPLC-MS/MS qui n'ont pas permis de détecter des niveaux significatifs de neuf congénères de MCs, notamment la MC-LR. Nos observations montrent que la méthode Adda-ELISA est susceptible de surestimer les niveaux de MCs dans une matrice spiruline. Du point de vue de la sécurité des consommateurs, il est donc recommandé aux producteurs de continuer à utiliser cette méthode pour surveiller les niveaux de contamination des MCs dans leur production et de confirmer par spectrométrie de masse, en cas de niveau trop élevé

Nous avons également examiné 105 résultats d'analyses ELISA de MCs réalisées sur des milieux de cultures et combinées à des dénombrements de cyanobactéries. Ces données n'ont pas permis d'identifier une corrélation entre les taxons de cyanobactéries et les niveaux de MCs dans les milieux de cultures. Les résultats d'analyses de MCs réalisées sur les spirulines sèches, issues de ces cultures, ne reflètent pas les niveaux de MCs trouvés dans les milieux de cultures.

La comparaison des populations de cyanobactéries dans des échantillons de cultures de spiruline et dans les produits récoltés (spiruline sèche) montre que ces derniers sont globalement moins contaminés et ne sont pas représentatifs de la contamination des cultures. Ce dernier constat peut s'expliquer par la probable dégradation des cyanobactéries, lors des processus de récolte et de transformation de la spiruline, qui peuvent altérer l'identification des taxons. Les méthodes de récolte et de filtration ont également une influence sur l'évolution des populations cyanobactériennes, entre les cultures de spiruline et les produits récoltés, comme nous avons pu le montrer pour le *Cyanobium*. Cette analyse a mis en évidence un facteur « ferme » lié à la diversité des méthodes de récolte (en surface des bassins ou dans la colonne d'eau) et de filtration.

Les données de dénombrement, établies avec des méthodes morpho-taxonomiques sur 102 échantillons de milieux de cultures et 437 échantillons de spirulines sèches, permettent d'identifier 14 genres de cyanobactéries contaminantes. Leurs taux d'occurrence, observés entre 2017 et 2021, sont relativement stables. Les contaminants les plus souvent observés le restent d'année en année. À l'inverse, les taxons moins fréquemment observés ne le sont pas chaque année. Aucune tendance géographique n'est observée pour la diversité taxonomique des contaminants qui varie de 3 à 11 taxons par ferme, avec une moyenne entre 6 et 7 genres.

Les genres de cyanobactéries contaminantes les plus fréquents – *Cyanobium*, *Jaaginema* et *Planktolyngbya* – sont présents dans des fermes de spiruline réparties sur l'ensemble du territoire français alors que ces taxons n'apparaissent pas dans la littérature comme étant fréquents dans l'environnement de ces mêmes territoires. Cette observation peut être reliée à la pratique non réglementée d'échanges de souches, non isolées, entre producteurs. Ce qui favorise la propagation des contaminants de ferme en ferme. A contrario, des cyanobactéries largement présentes dans l'environnement - *Plankthothrix*, *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon* et *Woronichinia* – et connues pour leur potentiel toxique, n'ont pas été identifiées dans les cultures de spiruline. D'autres taxons - *Aphanocapsa*, *Merismopedia*, *Phormidium*, *Pseudanabaena* et *Romeria* – sont rencontrés dans plusieurs cultures de spiruline et dans l'environnement des territoires. Ces observations montrent que les cyanobactéries environnementales n'ont pas toutes la capacité de coloniser les milieux alcalins et sodiques utilisés pour cultiver la spiruline.

L'analyse des données d'un grand nombre d'échantillons a permis : i) d'établir la situation des contaminations par microcystines pouvant affecter la production de spiruline française ; ii) d'obtenir des informations sur l'origine de leurs contaminants et les méthodes utilisées pour leur surveillance ; iii) proposer des améliorations à la profession française et par extension à l'ensemble des producteurs. Ces recommandations concernent l'inoculation de la biomasse, les pratiques de récolte, ainsi que le suivi des contaminations cyanobactériennes et des niveaux de MCs. La comparaison des méthodes d'analyses de MCs a également souligné le manque de connaissances sur les variants de microcystines et leurs produits de dégradation présents dans les cultures de spiruline.

Mots clés : Spiruline, microcystines, cyanotoxines, *Cyanobium*, *Jaaginema*, *Planktolyngbya*, *Leptolyngbya*, *Pseudanabaena*, *Cyanodictyon*, *Gomontiella*, *Phormidium*

1. Introduction

Spirulina is the traditional and commercial name of edible filamentous cyanobacteria, which have first been assigned to the genera *Spirulina* and *Arthrospira*¹⁶⁰, and more recently to the genus *Limnospira*⁴². In this paper, the name 'spirulina' will refer to *Limnospira* (previously known as *Arthrospira*) spp. Spirulina is naturally present in alkaline fresh water, rich in carbonates, bicarbonates, nitrates, phosphates and iron. It grows mainly in the intertropical regions—Rift Valley lakes (Kenia, Mozambique), lake Chad, lake Paracas (Peru), lake Texcoco (Mexico), lake Lonar (India)³⁵—and is also found in Serbia³³ and Siberia⁴⁴. Spirulina, harvested in lake Texcoco was consumed by the Aztecs at the time of the Spanish conquest (16th century). The traditional consumption of spirulina harvested in lake Chad by the Kanembou led to the discovery of the nutritional richness of this cyanobacterium in the 1960s⁴. The exceptional nutritive value of spirulina has led the United Nations Food and Agriculture Organization (FAO) to consider spirulina a food of major interest against malnutrition for the food security and the response to emergency food situations⁵. Spirulina contains a set of specific molecules - c-phycoerythrin, complex polysaccharides such as calcium spirulan and γ -linolenic acid - which have strong prophylactic and therapeutic potential, especially in the fields of cardiovascular diseases, viral infections, cancer prevention and therapy, immune response, as well as diabetes and cholesterol control^{161,162}.

Many cyanobacteria are known to produce various cyanotoxins, and blue-green algae dietary supplements (BGASs) have long been suspected of containing toxic cyanobacteria and cyanotoxins¹⁶³. The latter can be classified according to their toxic effect. Among the hepatotoxins, microcystins (MCs) are hepatotoxic and cyclic heptapeptides, of which there are more than 270 congeners which are differentiated by amino acid variations in two positions and the removal or addition of methyl groups¹⁶⁴. The MC-LR congener for instance, produced by *Microcystis aeruginosa* particularly, is the one that has been the most studied. It is considered to be among the most toxic forms and it is the subject of health recommendations⁵². The amino acid ADDA, specific to MCs and nodularins, is used in ELISA enzymatic analysis methods to detect MCs without the distinction of congeners. Analyses combining chromatographic and mass spectrometry methods (e.g., LC-MS/MS) are considered to be more precise and sensitive, but are limited to congeners (e.g., MC-LR) for which reference standards are available⁸⁴.

In 1996, the Upper Klamath Lake (Oregon), where the cyanobacteria *Aphanizomenon flos-aquae* is harvested for producing food supplement, experienced an extensive bloom of *Microcystis aeruginosa*, possibly producer of the hepatotoxic MCs. This event triggered a study to test the presence of MCs in BGAS and establish a regulatory limit. The presence of MCs in food supplements based on spirulina, marketed in the USA, was demonstrated in 1998, and a safe level for microcystins in BGAS was determined to be 1 $\mu\text{g/g}$ (1 ppm) by the Oregon Department of Agriculture ODA in 1997⁷⁴. This regulatory level was established on the basis of the recommendation of tolerable daily intakes for chronic exposure to microcystin-LR, 0.04 $\mu\text{g MC-LR}/(\text{kg}\cdot\text{day})$, established in 1997 by the WHO and confirmed in 2020 [12]. This regulatory standard level is also used as a reference in other countries⁸¹. Since then, the detections of MCs in spirulina samples from different markets (Australia, Belgium, China, Germany, Italy, India, Spain, Switzerland, USA) have shown highly variable results, ranging from non-detection to alarming values^{74,86,100,101,103,165–171}.

Potential toxin-producing cyanobacteria identified to date include species belonging to the following genera: *Microcystis*, *Planktothrix*, *Dolichospermum* (*Anabaena*), *Anabaenopsis*, *Fischerella*, *Geitlerinema*, *Leptolyngbya*, *Merismopedia*, *Phormidium*, *Nostoc* and *Synechocystis*—and others species: *Annamia toxica*, *Aphanocapsa cumulus*, *Calothrix parietina*, *Hapalosiphon hibernicus*, *Radiocystis fernandoi*, *Cyanobium bacillare*, *Arthrospira fusiformis*, *Limnothrix redekei* and *Trichormus variabilis*^{48,172–176}. Some of these possibly toxin-producing cyanobacteria (*Calothrix*, *Phormidium*, *Microcystis*, *Nostoc*, *Anabaenopsis*, *Geitlerinema*, *Leptolyngbya*) have been identified through molecular analysis of dry spirulina samples¹⁷⁷. Therefore, beside *Limnospira* sp., the presence of toxinogenic cyanobacterial contaminants is the most likely hypothesis to explain the presence of MCs in spirulina products^{100,173,178}. Previous toxicity analysis proved that *Limnospira* spp. is safe to consume^{30,179}. However, a final consensus on the toxinogenic nature of *Limnospira fusiformis* is not yet established, since two controversial studies have shown the presence of MCs produced by strains of *L. fusiformis* from Kenyan lakes^{1,2}.

Spirulina is produced in 22 countries around the world, for a total production of 56 kt (tons fresh weight) in 2019⁶. It is used for human food, animal feed, cosmetics and pharmaceuticals. Industrial producers, mainly located in China, India and the USA, cultivate spirulina in open ponds, reaching 120 ha^{162,180}. In France, 201 t of dried spirulina, i.e., 3/4 of European production, were produced in 2019 by 161 aquaculture farms^{10,181} which are mostly members of the professional organization “Fédération des Spiruliniers de France” (FSF). This production, intended for human consumption, is based on small-scale spirulina culture methods inspired by the work of Ripley Fox and Jean-Paul Jourdan^{3,11}. FSF members produce their spirulina in basins with an average area of 600 m², protected by greenhouses. Production and harvesting are seasonal activities that generally take place from the March–April period to the September–October period. The biomass harvested by filtration is pressed to eliminate the residual culture medium before drying by air convection at a low temperature (maximum 50 °C).

The FSF and its affiliated producers have been engaged since 2013 in monitoring the presence of MCs and cyanobacterial contaminants in dry spirulina products and spirulina cultures. The data collected by the FSF are presented and examined in this paper in order to assess the microcystin risk of this small-scale production and propose control and risk management measures.

2. Material and Methods

2.1. Data Collection

The data collected for this study comes from spirulina producers, members of the Fédération des Spiruliniers de France (FSF), who have agreed to share the anonymized results of their analyses.

Data from total cyanobacteria counts carried out in 2017, 2019, 2020 and 2021 on 437 dry spirulina (flakes) samples and 102 spirulina culture samples were used to establish the inventory of cyanobacterial contaminants present in 95 farms.

Seventy-five of these farms have been identified and located. Data from these farms, including 233 counts of cyanobacteria in spirulina products and 102 counts in spirulina culture samples, enabled us to establish the geographic distribution of the contaminants.

Cyanobacteria datasets include colony counts expressed as a percentage of total cyanobacteria (including *Limnospira*) present in the samples. Biovolume data, also expressed as a percentage of total cyanobacteria, are available for 232 analyses performed in 2019 and 6 in 2021 on spirulina products.

The results of the ELISA MCs analyses, carried out each year between 2013 and 2021 on a total of 623 samples of dry spirulina, make it possible to examine the levels of MCs in spirulina-based products from 109 farms.

Table 1. Sample collection from spirulina producers: results of the analyses of microcystins (MCs) through ELISA and UHPLC-MS/MS methods, and the enumeration of cyanobacteria of samples of dry spirulina (Dry S.) and spirulina cultures (S. Culture); number of farms having provided their results. The number between the brackets refers to data including location information.

Year	MCs Analyses			UHPLC	Cyanobacteria Enumeration			
	ELISA		Farms		Dry S.	Dry S.	S. Culture	Farms
	Dry S.	S. Culture						
2013	13		13					
2014	5		5					
2015	9		9					
2016	8		8					
2017	57(57)	105(105)	16 (16)		57 (57)	100(100)	16 (16)	
2018	153(153)		38 (38)					
2019	233(30)		69 (30)		232(30)		69 (30)	
2020	50(48)		27 (26)		49(47)		26 (25)	
2021	95(95)		40 (40)	5(5)	99(99)	2(2)	41 (41)	
All	623(383)	105(105)	109 (89)	5	437(233)	102(102)	95 (75)	

In 2017, total cyanobacteria counts, as well as ELISA MCs analysis, were performed on 100 spirulina culture samples and 57 spirulina products from 16 farms. This makes it possible to compare the presence of cyanobacteria and MCs before and after harvest.

In 2021, five samples of dry spirulina showing high values of MCs according to an ELISA analysis, were then analyzed with UHPLC-MS/MS. The results are used to compare the two analytical methods.

The types and quantities of data per year, as well as the number of farms from which this data originated, are summarized in Table 1.

2.2. Microcystin Analyses

ELISA analyses of microcystins were performed by the laboratory Limnologie sarl (Rennes, France) using the following method. The ELISA tests by indirect competition were carried out with the ELISA Microcystins ADDA (US EPA Official Method 546) Abraxis kit (ref. 1520011)) and according to the protocol of Lawrence et al.⁸³.

UHPLC-MS/MS analyses on microcystins were performed by the public laboratory Laboceca (Plouzane, France) using their protocol adapted from Turner et al.¹⁸². After cell lysis of the sample, the microcystins were analyzed on a UHPLC/MS-MS XEVO-TQS from Waters. The separation is carried out according to a gradient of mobile phases composed of water and acetonitrile. A calibration range is established for each molecule quantified in each series. Internal quality controls are placed every 10 samples. The acceptability criteria for the blanks, the range and quality controls are systematically checked. Internal standards allow for quantification. The retention times and m/z transition ratios are checked for each molecule.

2.3. Cyanobacteria Enumeration

The counts of cyanobacterial contaminants were performed by the laboratory Limnologie sarl (Rennes, France) using the following methods. The identifications of the genera of cyanobacteria were carried out with classical methods of morpho-taxonomy^{183–187}. Cyanobacteria counting was performed using the Utermöhl method^{188,189}. For non-colonial cyanobacteria (e.g., *Cyanobium*), each cell was counted as a colony. The enumerations are expressed as a percentage of colonies of each taxon compared to the total colonies of cyanobacteria (contaminants and *Limnospira*). The samples of dry spirulina, in the form of pieces of spaghetti (or flakes) approximately 1.5 mm in diameter, were rehydrated with demineralized water, before the microscopic observations.

2.4. Review of MCs in Spirulina Products

A search for publications related to the detection and quantification of microcystins in spirulina products was carried out in PubMed, ScienceDirect and Google Scholar databases, using the following query: (“BGA” OR “spirulina” OR “arthrospira” OR “limnospira”) AND (“microcystin” OR “cyanotoxin”). The articles or results that do not identify the nature of the samples as being composed exclusively of spirulina have been discarded.

2.5. Data Analysis

To calculate the averages of the levels of MCs, the results “below the limit of quantification (LQ)” (0.15 ppm with the ELISA method for dry spirulina, 0.15 ppb for water sample like spirulina culture) were set at the central value between zero and the LQ (i.e., 0.075 ppm for dry spirulina). The annual mean MC levels were compared with Tukey’s test. The correlations between the MC and contaminant levels were carried out with the methods of Pearson and Kendall. The comparisons of pairs of means were carried out with the Welch two-sample t-test.

Data analyses were performed using R 4.1.3 and RStudio 2023.03.0 with packages car version 3.0-13 and multcomp version 1.4-19. The figures were made using packages ggplot2 version 3.3.6¹⁹⁰ and ggmap version 3.0.0.¹⁹¹, with maps provided by <https://maps.stamen.com> (accessed on 20 April 2023).

3. Results

3.1. Microcystins in Spirulina Products and Cultures

Between 2013 and 2021, 42% of the dry spirulina analysis results with the ELISA method were below the quantification limit—0.15 ppm MC-LR equivalent dry weight (MC-LReq DW)—and more than 99% of the results were below the regulatory level (1 ppm MC-LReq DW) (Figure 1). The average content of MCs in dry spirulina over the entire period studied is 0.21 ppm MC-LReq DW.

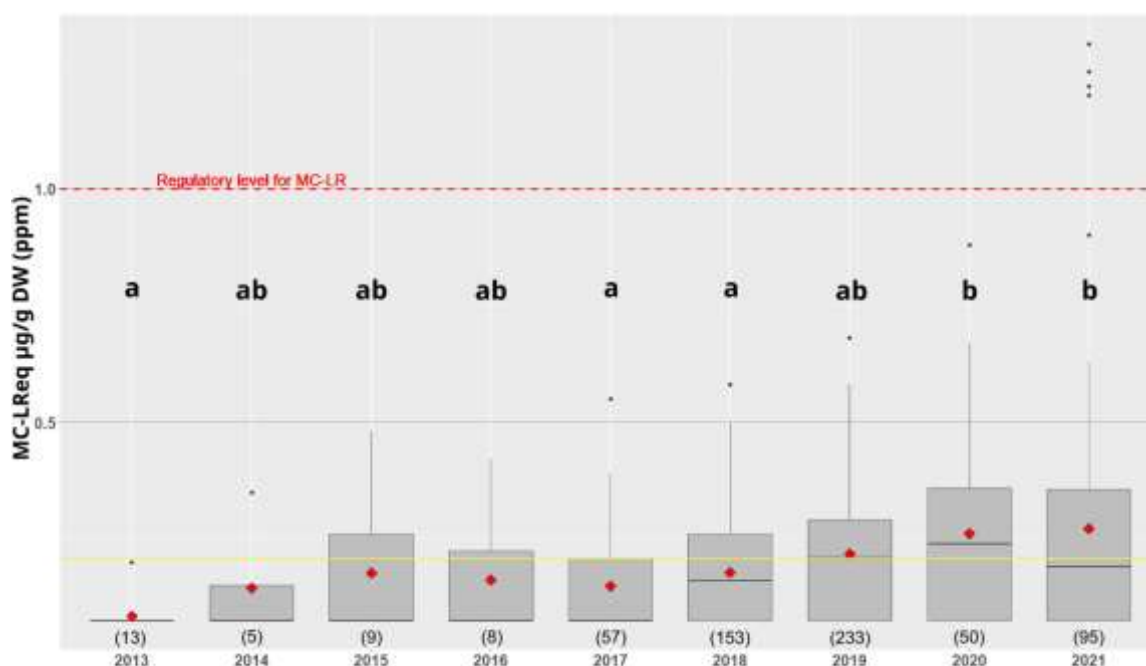


Figure 1. Microcystin-LR equivalent (MC-LReq) in dry spirulina products detected with ELISA assays between 2013 and 2021. The boxplot represents the dispersion of the MC level, the yellow line represents the mean over the years and the red diamonds represent the annual averages. The number of samples per year is indicated between the brackets. The letters a, b and ab group together the data series of which the means are not significantly different (Tukey's test).

There are few results available for the years 2013 to 2016. From 2017, the data are more numerous and therefore more representative. There is an increase in the average levels of MCs between the years 2017 and 2018 (group a), and 2020 and 2021 (group b). The year 2019 is the most documented period in our study.

In 2021, four ELISA assay results were above the regulatory level (1 ppm MC-LReq DW). These four batches of spirulina, complemented by a fifth one below the regulatory level, were then analyzed using UHPLC-MS/MS to confirm these high levels of MCs before considering destroying the related product batches. The values found via UHPLC-MS/MS were lower than those obtained with ELISA (Table 2).

Table 2. Microcystins ELISA assays versus UHPLC-MS/MS analysis of dry spirulina products.

Farm ID	ELISA				UHPLC-MS/MS							
	MC-LReq	MCs total ¹	MC LR	dMC LR	MC LA	MC RR	dMC RR	MC LF	MC YR	MC LW	MC LY	
F031	1.31	0.022	0.001	ND	ND	ND	ND	0.009	ND	0.012	ND	
F055	1.25	0.127	0.008	0.012	ND	0.010	0.007	0.010	0.014	0.026	0.020	
F075	1.22	0.227	ND	0.020	ND	ND	ND	0.007	ND	0.150	0.050	
F031	1.20	0.170	0.015	0.018	0.016	0.005	0.025	0.025	0.007	0.048	0.020	
F056	0.60	0.033	ND	ND	0.008	ND	0.009	0.009	0.004	0.011	ND	

¹ Total values of the nine MC variants analyzed. All values expressed in $\mu\text{g/g}$ DW. ND: not detected.

In 2017 specifically, we had access to both analyzes of MCs, using ELISA, and the total cyanobacteria counts on spirulina culture samples. The related levels of MC measured were relatively low, with an overall mean of 0.39 ppm (Figure 2), which is under the 1 ppm WHO guideline value for MC-LR in potable water, for instance⁵². Notably, 29% of the results of MC analysis in the cultures was below the limit of quantification (0.15 ppb).

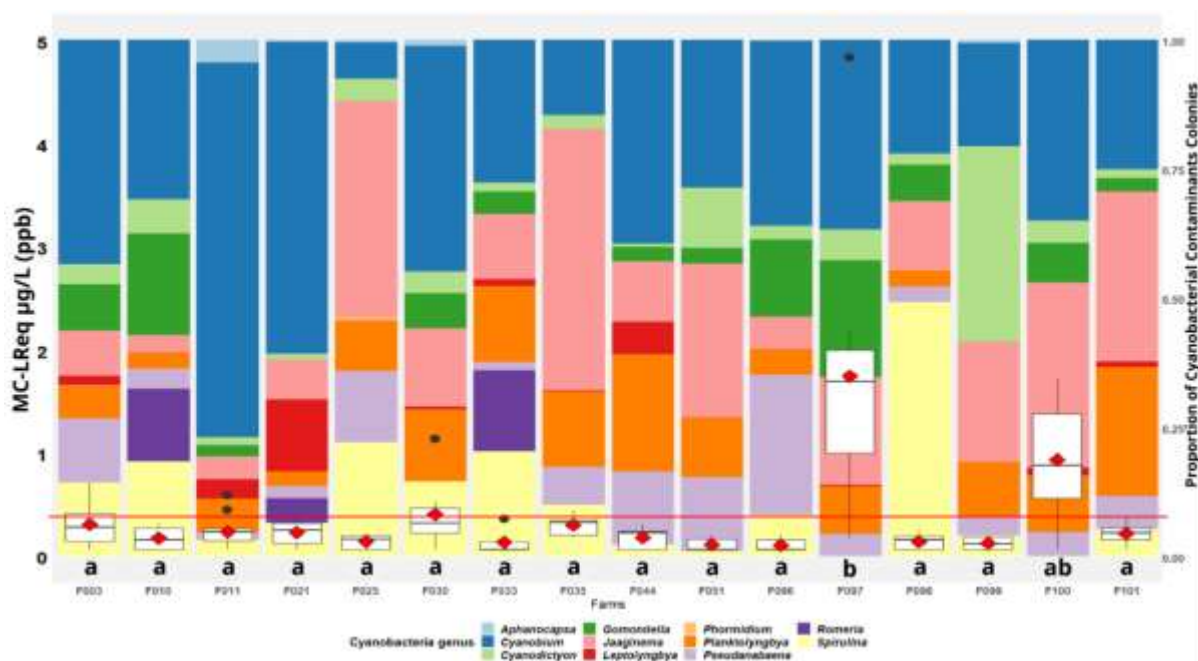


Figure 2. Cyanobacterial contaminants proportion and MC-LReq in spirulina culture samples ($n = 105$, year 2017) detected with ELISA assays. The boxplot represents the dispersion of the MC level and the red diamond represents the average for each farm. The red line represents the overall average (0.39 ppm MC-LReq). The letters a, b and ab group together the MC data series of which the means are not significantly different (Tukey's test). The colored bands in the background represent the colonies, in proportion to the different cyanobacterial contaminant taxa encountered on each farm.

The culture samples from two farms (F097 and F100) show the MC values significantly higher than those found in the other farms. The highest value encountered is 4.85 ppm (F097). Examination of the proportions of cyanobacterial contaminants, compared with the other farms, does not explain the high levels of MCs encountered in the samples from these two farms.

The levels of MCs found in the spirulina culture samples in 2017 (Figure 2) do not reflect the levels found in the related harvested dry products (Figure 3).

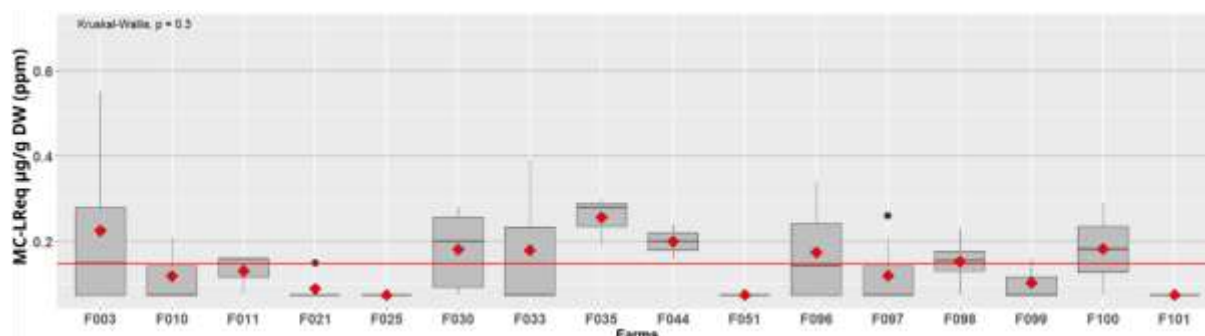


Figure 3. MC-LReq in dry spirulina products (57 samples, year 2017) detected with ELISA assays. The boxplot represents the dispersion of the MC level and the red diamond represents the average for each farm. The red line represents the overall average (0.15 ppm). The averages per farm are not significantly different according to Kruskal–Wallis test.

Table 2. Detection of microcystins (MCs) in spirulina-based products.

Toxins	Method ^a	Results	Market	Ref
MCs	ELISA	0.21 ppm ± 0.163 [<0.15 –1.31] (361/623 samples)	France	This study
MCs	ELISA	0.15 ppm ± 0.08 [0.06–0.32] (8/8 samples)	USA	74
MCs	ELISA	0.52 ppm ± 0.77 [0.0– 2.12] (6/7 samples)	USA	74
MCs	ELISA	0.047 ppm MCs [0.028–0.078] (3/3 samples)	Taiwan	165
MCs	ELISA	0.1 ppm (1/1 sample); < 0.01 ppm (0/4 samples)	Germany	100
MCs	PPIA	< 0.25 ppm (0/4 samples)	USA	166
MCs	UHPLC-MS/MS	[0.022–0.227 ppm] (5/5 samples). Detailed in Table 1.	France	This study
MC-LR, MC-RR	MALDI-TOF	Not detected (0/12 samples)	Australia	167
MC-LR, MC-RR, MC-YR	LC-MS/MS	0.014 ppm ± 0.027 MC [0.002–0.163] (34/34 samples)	China	168
MC-LR, RR, YR, LA	UHPLC-	Not detected (0/10 samples)	Switzerland	169

Toxins	Method ^a	Results	Market	Ref
	TOF	LD: 0.1 ppm (0.2 ppm for MC-RR)		
MC-LR, RR, YR, LW, LF, LA	LC-MS/MS	Not detected (0/5 samples) (LD 0.01–0.20 ppm depending on MC congener)	Germany	100
MC-LR, RR, YR, LW, LF, LA, LY	LC-MS/MS	Not detected (0/6 samples). 1.2 ppb < LQ < 15 ppb depending on MC variants	Italia	103
MC-LR, RR, FR, LY	LC-HRMS	MCs detected in 6 samples (6/17). No quantification available	No India	170
MC-LR, RR, YR, LW, LF, LA, LY	LDTD-APCI-HRMS	0.25, 0.6 and 2.5 ppm total MCs DW; (3/11).	USA	171
MC-LR, RR, LA, LF, LY, LW, YR	UHPLC-MS/MS	Not detected (0/19 samples). LD 22.5 ppb	Belgium	86
MC-LR, MC-RR	HILIC-MS/MS	< 0.015 ppm (0/6 samples)	Spain	101

^a ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay; LDTD: laser diode thermal desorption; APCI: atmospheric pressure chemical ionization; HRMS: high-resolution mass spectrometry; MS: mass spectrometry, UHPLC: ultra-high performance liquid chromatography; HILIC: hydrophilic inter-action liquid chromatography; PPIA: protein phosphatase inhibition assay; LD: limit of detection. Mean \pm SD [min.–max. values]. Positive samples/total sample number.

We retrieved twelve studies looking for MCs in spirulina products published to date (Table 2). Four of them used enzymatic methods (including three using ELISA) and nine used methods combining chromatography and mass spectrometry. The results of our 623 analyses of MCs using ELISA on dry spirulina showed a detection rate of 58% and a maximum value of 1.31 ppm, while the published results show a detection rate of 78% (18 positive samples out of 23) and a maximum value of 2.12 ppm. Studies using chemical analysis methods produced results which are also comparable at a magnitude with our results obtained using UHPLC-MS/MS, with detection rates and levels of MCs lower than those encountered using the ELISA method.

3.2. Cyanobacterial Contaminants

Fourteen genera of cyanobacteria (other than *Limnospira*) have been identified through microscopic observations in spirulina culture and dry product samples (Figure 4).

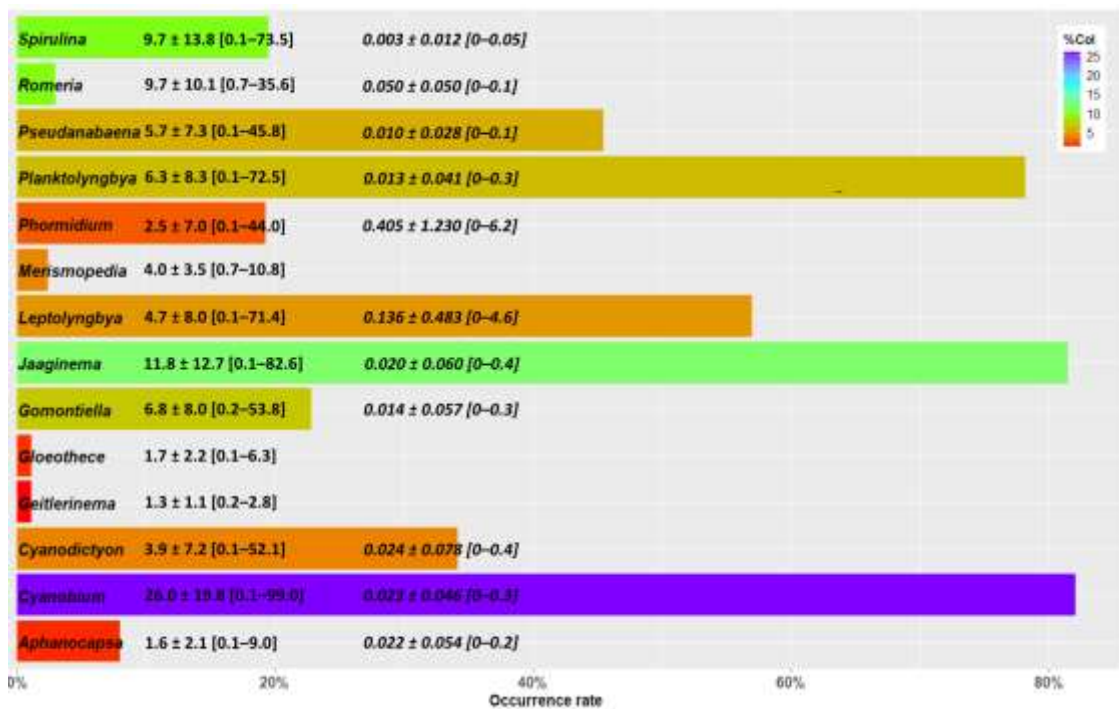


Figure 4. Cyanobacterial contaminants genus in spirulina cultures and dry products samples from 2017 and 2019 to 2021 (n = 539 samples). The length of the bars represents the occurrences of observations of each genus. Their color represents the average percentage of colonies (%Col) observed. The numbers following the genus names are relative to the percentages of the colonies observed—the mean ± SD [min.–max. values]—and, in italics, the percentages of biovolumes when available.

The two genera of cyanobacterial contaminants most frequently observed (*Cyanobium* and *Jaaginema*) belong to the Synechococcales, which is the most represented order (5 genera out of 14). The next three most-represented genera (*Planktolyngbya*, *Leptolyngbya* and *Pseudanabaena*) belong to the Pseudanabaenales.

The numbers of colonies observed, expressed as a percentage of the total cyanobacteria (including *Limnospira*) in the samples are highly variable. According to this criterion, *Cyanobium* and *Jaaginema* are also the first two cyanobacterial contaminants.

The proportions of biovolumes of cyanobacterial contaminants are low, of the order of a thousandth, particularly due to the large biovolumes, generally greater than 99%, of the edible *Limnospira*. *Phormidium* is the contaminant which presents the largest biovolumes both on average and in maximum values.

The interannual evolution of the frequency, or occurrence rate, of cyanobacterial contaminants in dry spirulina (flakes) is relatively stable (Figure 5). The most frequently observed taxa, with an occurrence rate greater than 50%, remain dominant from year to year. In this group, *Cyanobium* almost reached 100% occurrence in 2020. Conversely, the less often observed taxa, *Gloeothece* and *Romeria*, are not observed every year. There is an increase in the observations of *Gomontiella* and *Pseudanabaena*.

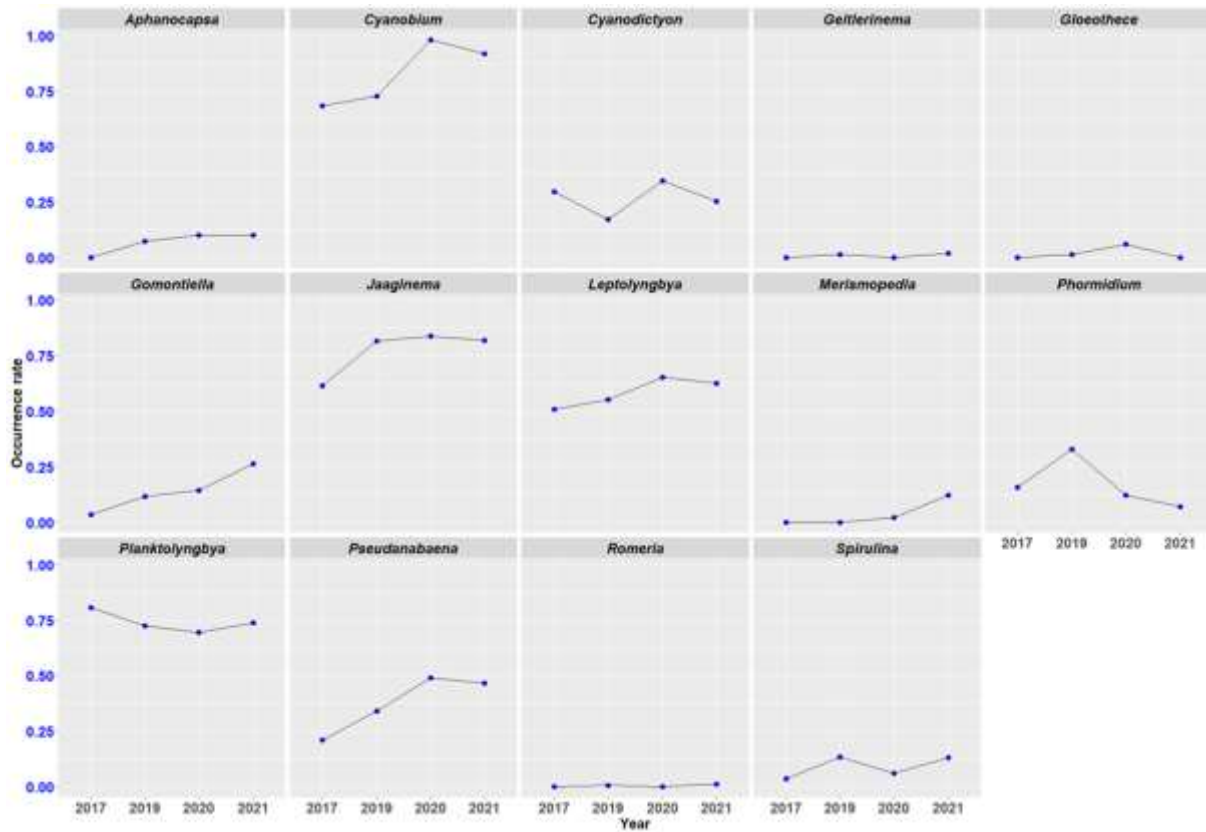


Figure 5. Interannual evolution of the occurrence rate of cyanobacterial contaminants in dry spirulina. Number of samples per year: 2017 (n = 57), 2019 (n = 232), 2020 (n = 49), 2021 (n = 99).

The 75 farms located in our dataset are spread over the entire territory of mainland France, with a pre-dominance in the South, Southeast and West regions. No geographical trend is observed for the taxonomic diversity of cyanobacterial contaminants which ranges from 3 to 11 taxa (genus) per farm, with an average between 6 and 7 genera. The cyanobacteria most often identified in our samples have a wide geographical distribution (Figure 6).

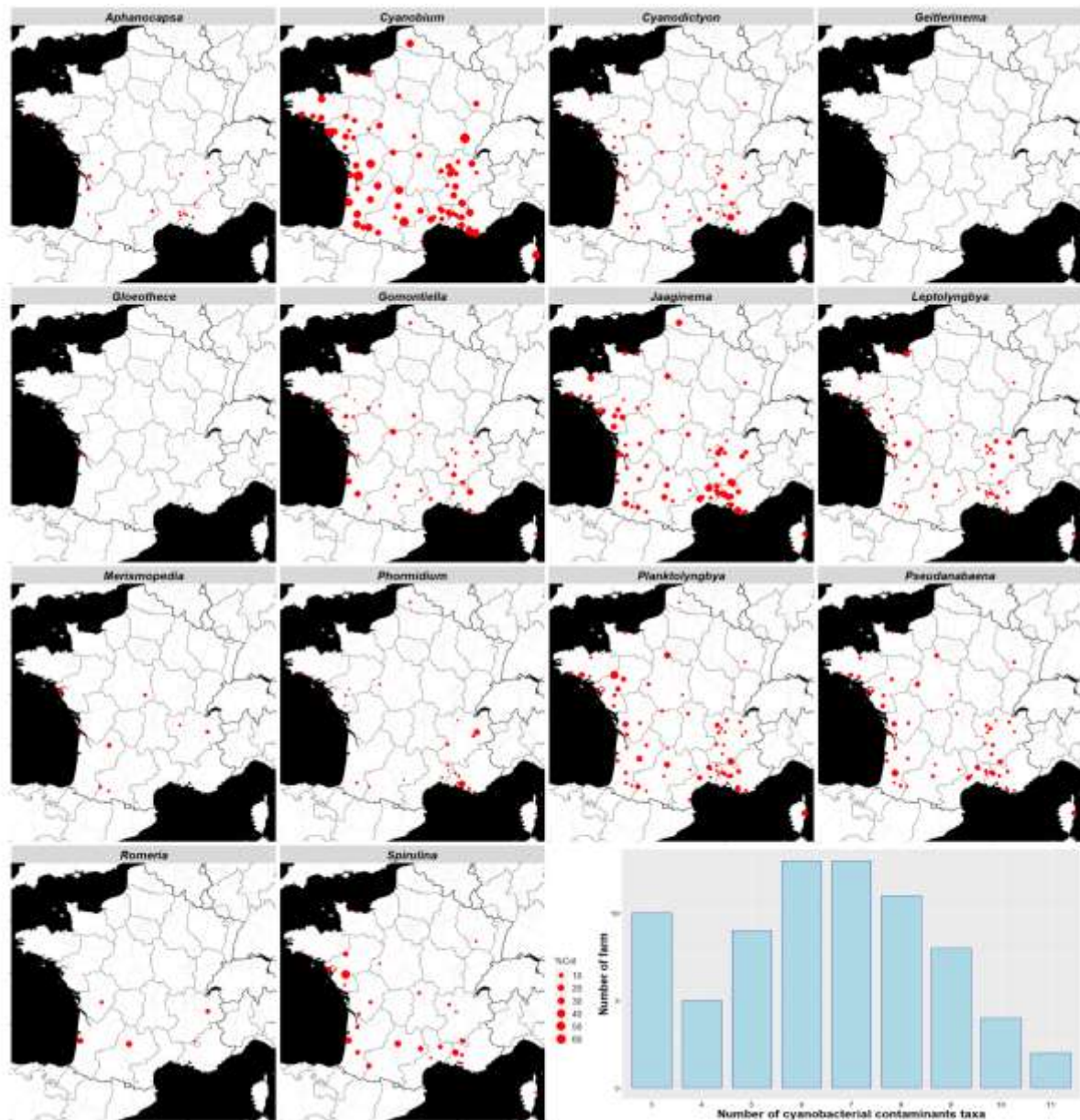


Figure 6. Geographical distribution of cyanobacterial contaminants. The red dots indicate the farm location where the cyanobacteria have been identified. The size of the dots is proportional to the average percentage of the colonies of the different cyanobacteria in each farm. $n = 75$ farms. The histogram represents the distribution of the numbers of cyanobacterial contaminant taxa per farm (mean = 6.48).

Cyanobium, *Jaaginema*, *Planktolyngbya*, *Pseudanabaena* and *Leptolyngbya* are present in more than 70% of the 75 located farms. Overall, the intermediate taxa (20 to 50% occurrence rate), *Cyanodictyon*, *Gomontiella*, *Spirulina* and *Phormidium*, have geographical extents in proportion to their occurrence rate, while several taxa are closely related to specific zones, such as *Romeria*, *Gloeotheca* and *Geitlerinema* (Figure 6).

The cyanobacteria count of spirulina culture samples and spirulina dry products in 2017 enables comparing the presence of cyanobacterial contaminants before and after harvest. Except for *Phormidium*, the rate of occurrence of cyanobacterial contaminants is higher in spirulina culture samples than in harvested dry products (Figure 7).

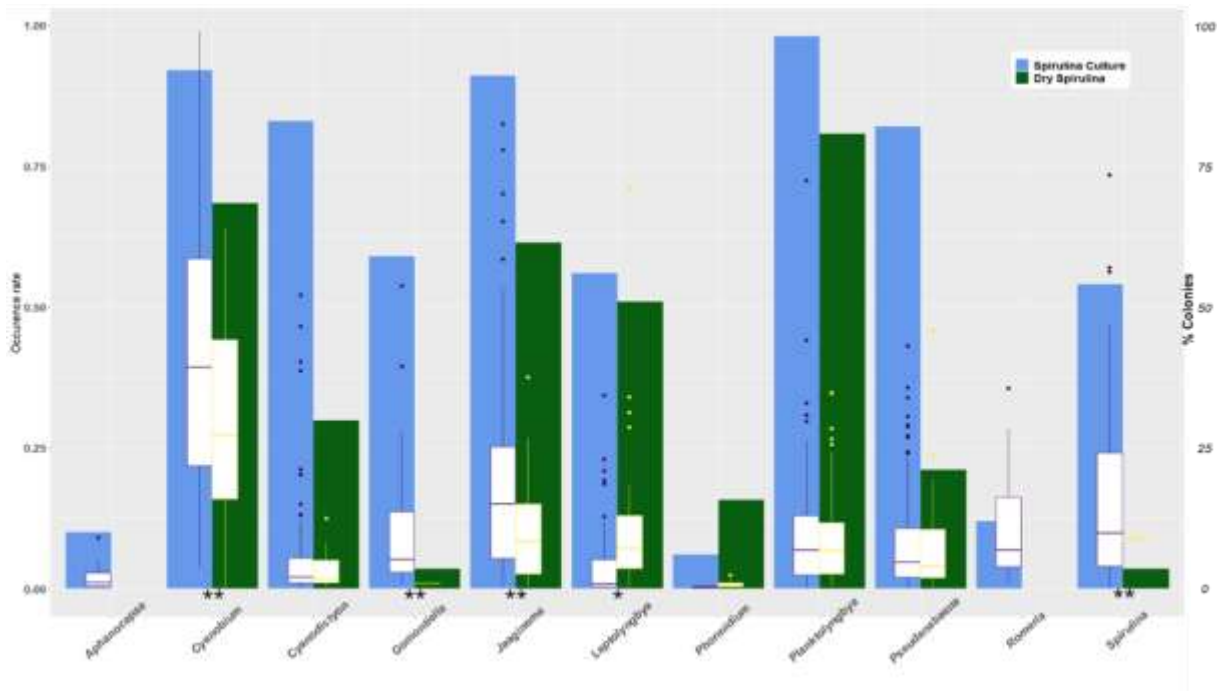


Figure 7. Evolution of contaminants from cultivation to harvested product. The blue and green bars represent the occurrence rates of the contaminants, respectively, in the spirulina culture samples and the dry harvested products. The boxplots represent the dispersion of the colonies, expressed as a percentage of the total cyanobacteria including *Limnospira*, of the different kinds of contaminants detected in 2017 in 16 farms, respectively, in the spirulina culture samples (in purple, n = 100) and the dry harvested products (in yellow, n = 57). The taxa with significantly different relative abundances between cultures and dry products are indicated by stars (*: p < 0.05; **: p < 0.01).

A great variability is observed in the percentages of colonies observed for each taxon, both for the spirulina culture samples and the harvested dry products. However, we can observe trends in the evolution of contamination which ranged, depending on the taxa, from the disappearance to an increase in colonies between crops and harvested products. Among the picocyanobacteria, *Aphanocapsa* and *Romeria* are present in crops and absent from harvested products, while *Cyanobium* is significantly decreasing. For the later taxon, which is present in 92% of the samples of spirulina cultures and identified in all the farms that participated in the culture analyses, we have enough data to make a comparison, farm by farm, of the evolution of the colonies between the spirulina culture samples and the products harvested. This comparison highlights the differences in the evolution of the number of *Cyanobium* colonies, from disappearance to increase, depending on the farm (Figure 8).

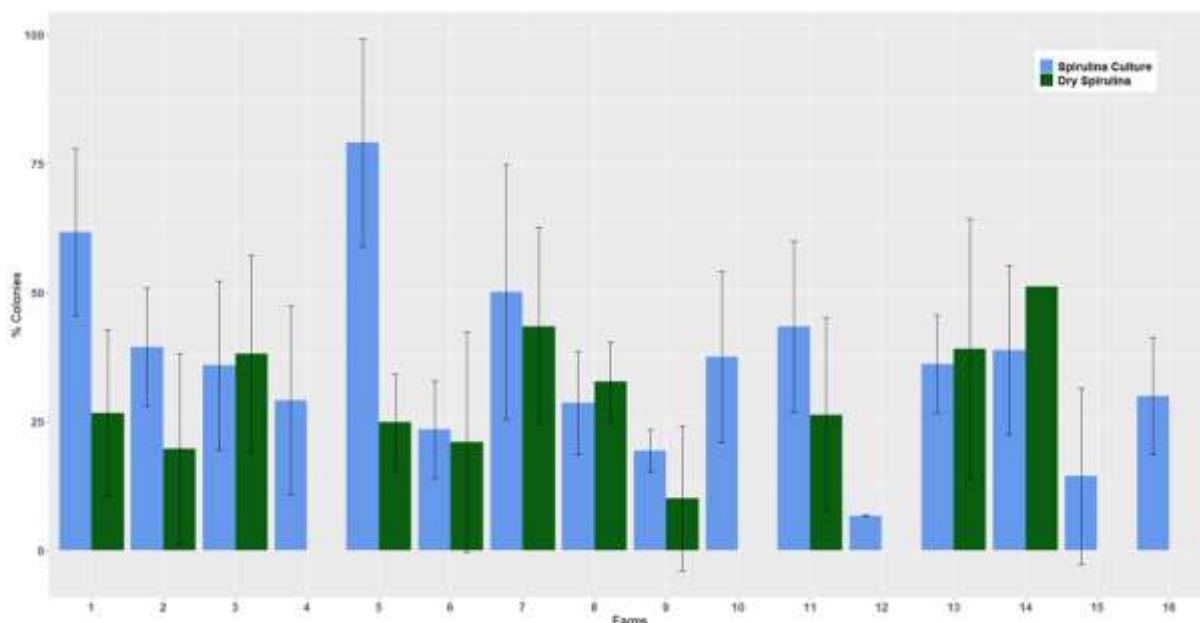


Figure 8. Evolution of *Cyanobium* from cultivation to harvested product. The bars represent the means of the relative abundances of *Cyanobium* colonies, expressed as a percentage of total cyanobacteria, respectively, in the samples of spirulina cultures (n = 100) and the products harvested (dry spirulina, n = 57) for 16 farms.

4. Discussion

None of the 623 food supplement samples obtained from French small-scale spirulina producers exceeded the regulatory level (1 ppm) of MCs. The average value was 0.21 ppm, taking into account a value of 0.075 ppm for the 42% of results below the LQ (0.15 ppm). Based on these results, we can then estimate that the daily consumption of 3 g of spirulina (doses generally recommended by the FSF producers) leads to an intake of MCs of 10 ng/kg bw/day for an adult of 60 kg. This value is more than four times lower than the tolerable daily intake of 40 ng/kg bw/day established by the WHO for chronic exposure. We can therefore conclude that the levels of contamination of spirulina produced by French small-scale producers are compatible with a daily consumption dose of 3 g with regard to the microcystin risk. However, the evolution of the levels of MCs observed between 2017 and 2021 should be taken seriously and efforts to monitor the MCs in spirulina products should be maintained.

Chemical methods, such as LC-MS/MS, measure only specific MCs using standards, and total MCs depending on the MC standard panel used and the composition of the MC structural congeners in the sample being analyzed. Adda-ELISA tests measure the total MC content—including all the MC congeners and nodularins—against a standard MC-LR. The Adda-ELISA method is also likely to react with degradation products of MCs, containing the ADDA group, and thus lead to overestimations of the MCs concentrations. This might overestimate the results from the toxicological point of view because of the reaction between antibodies and non-toxic derivatives from MCs ^{192–194}.

Nevertheless, several studies related to MC analyses on BGAS showed a good correlation between ELISA and LC-MS/MS methods ^{83,195}. In our study, the comparison between MCs

measured using ELISA and total congener MCs measured using LC-MS/MS shows large differences, the totals obtained via LC-MS/MS being between 2 and 18% of the MCs measured using ELISA. Furthermore, the levels of MC-LR measured in our study using LC-MS/MS are very low, and represent a small part of the total MCs. This last observation is in contradiction with the results obtained on klamath-based BGAS^{74,83,103}. It is therefore likely that the samples of our study, which present high levels of MCs analyzed with the ELISA method, contain a significant proportion of congeners of the MCs not detected with the LC-MS/MS method or at least degradation products with the ADDA group. Future investigations should be conducted to identify these compounds.

ELISA, which is moderately expensive, quick to perform and capable of detecting a lot of MC structural congeners even unknown beforehand, is a good technique to determine the human exposure to MCs, and is therefore a relevant MC screening method⁸⁴. The possible overestimates of the levels of MCs measured with this method increase food safety for the consumers. We therefore recommend that producers continue to use this method to monitor the levels of contamination of MCs in their production.

The taxonomic analysis of the cyanobacterial contaminants encountered in our study revealed 14 genera. In 2016, Vardaka et al. analyzed 31 samples of spirulina of global origin and could identify 15 OTUs of cyanobacterial contaminants by metagenetic analysis, with occurrence rates of 3 to 20%¹⁷⁷. Only four of these OTUs correspond to the genera also found in our study—*Geitlerinema*, *Leptolyngbya*, *Phormidium* and *Pseudanabaena*—and conversely, eleven of these OTUs correspond to the taxa not present in our samples. In particular, the genus *Microcystis*, which is regularly associated with contamination by MCs, in others BGAS containing klamath (*Aphanizomenon flos aquae*)^{74,86,103}. The absence of *Microcystis* in our samples is consistent with the difficulty for *M. aeruginosa* to develop under the spirulina culture conditions previously highlighted¹⁹⁶.

Nevertheless, according to the literature, eight of the cyanobacterial contaminant taxa identified in our study are potential producers of MCs: *Aphanocapsa*¹⁰⁷, *Cyanobium*^{172,174}, *Geitlerinema*^{148,197,198}, *Leptolyngbya*^{108,198,199}, *Merismopedia*¹⁰⁸, *Phormidium*^{108,198,199}, *Pseudanabaena*¹⁵² and *Spirulina*¹⁵². This information must be interpreted with caution because the taxonomy of cyanobacteria is continuously evolving with the consequence of a possible confusion of the identification of the species studied in terms of toxin production.

In France, Belgium and Luxembourg, the cyanobacteria dominant taxa in natural environments are mainly *Plankthothrix*, *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon* and *Woronichinia*^{200–205}. These major taxa were not identified in our study. Other taxa in our inventory, *Aphanocapsa*, *Merismopedia*, *Phormidium*, *Pseudanabaena* and *Romeria*, have sometimes been identified as the dominant taxon in the same territories^{200,204}. It can be hypothesized that the spirulina cultures are partially protected from contamination by their extreme alkalinity and salinity conditions¹⁸⁰. Conversely, the major contaminants encountered in spirulina cultures and products, *Cyanobium*, *Jaaginema* and *Planktolyngbya*, do not appear in the literature as being major cyanobacteria in these same territories. However, these major contaminants are present in practically all the farms and territories concerned. The inoculation of ponds by transfer of non-isolated cultures from one or more other farms is a common practice in the profession. This practice favors the spread of contaminants from farm to farm and could explain the wide geographical spread of the main contaminants. The diversity of other contaminants and levels

of contamination (number of taxa) could be explained by contamination from the farm environment (maritime facade, surface water). It can also be assumed that farms can accumulate taxa through successive episodes of inoculation with a contaminated sample. We recommend that the profession uses cyanobacterial contaminant-free inoculums and avoids uncontrolled exchanges, in terms of contamination, between the farms.

The comparison of the populations of cyanobacterial contaminants of the spirulina culture samples and the harvested products shows that the latter are globally less contaminated and not representative of the contamination of the cultures. It is likely that the processing of the rehydrated dry samples is partly responsible for this poor representation and the observed absence of correlation between the levels of MCs and the populations of contaminants. Indeed, various steps of harvesting and transformation of the biomass, particularly including filtration, pressing, extrusion and drying, could alter the structure of certain cyanobacteria and make their identification difficult. It is therefore advisable to concentrate contamination monitoring efforts on culture media.

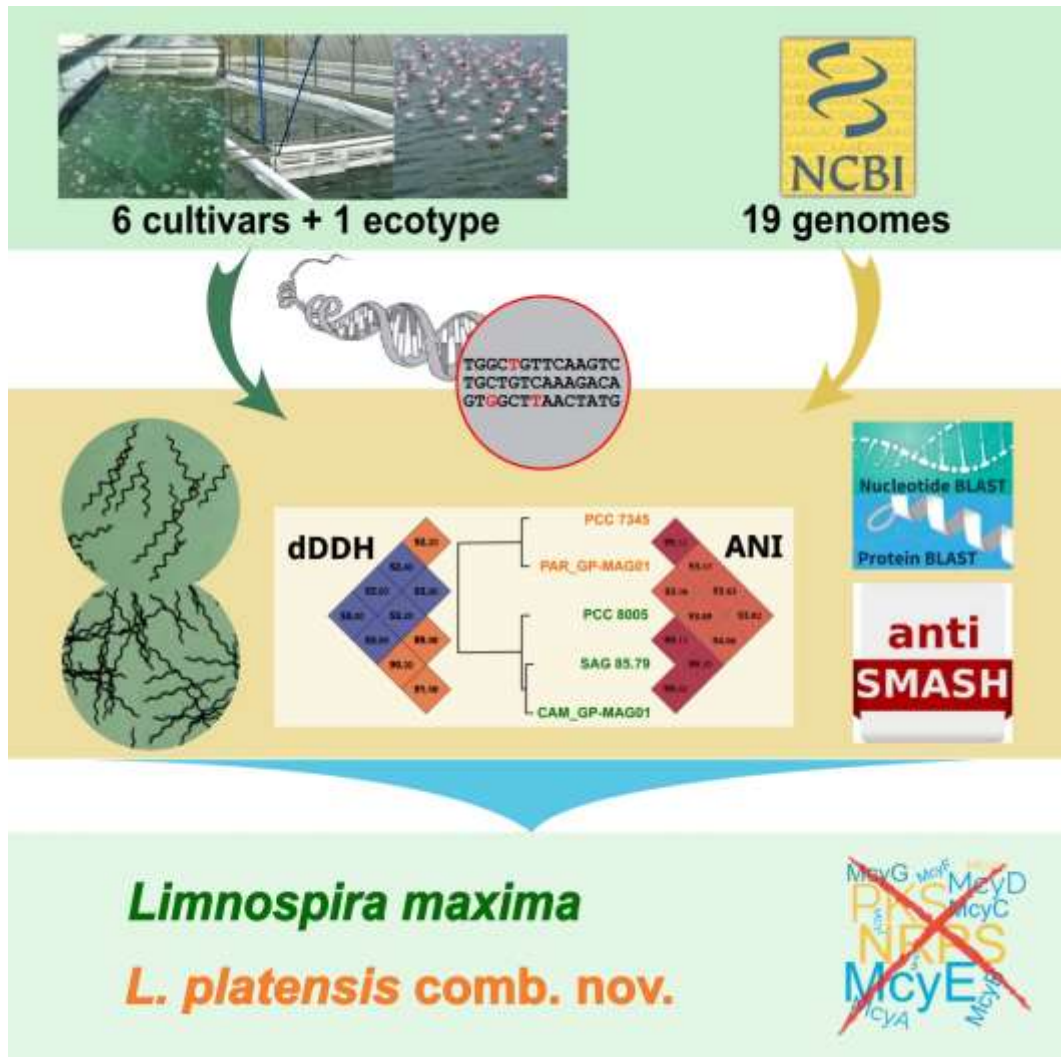
Harvesting methods also have an influence on the evolution of cyanobacterial populations between spirulina cultures and harvested products. Depending on the farms in our sample, biomass can be taken from the surface (skimming) or from the water column (pumping) and then filtered with filters that vary in operation (flat, vibrating or rotary filters) and mesh sizes (19 to 50 µm). These differences in the harvesting process are farm-specific, which is highlighted in the analysis of the evolution of Cyanobium populations before and after harvest. This finding suggests possible improvements in harvesting practices to reduce the load of contaminants, in particular picocyanobacteria, in the harvested biomass. The use of harvesting filters with continuous cleaning, such as rotary filters, and the rinsing of the biomass seem to be possible improvements.

In the absence of the correlation between the levels of MCs and the populations of cyanobacterial contaminants, this study could not identify the contaminant(s) responsible for the presence of the MCs. Genomic analysis will be necessary to identify those strains. Regarding spirulina, two consecutive studies by the same author claim to have found the MCs in an isolated culture of two strains of *Arthrospira fusiformis*^{1,2}. The spirulina cultured in these studies came from lakes Sonachi and Bogoria (Kenya), in which there were also other microcystin-producing cyanobacteria, including picocyanobacteria (*Syncechococcus* sp., *Synechocystis* sp.). The methods described in those works do not specify the measures to ensure that the cultures were well isolated. Moreover, at the same time, these results were not confirmed on other ecotypes of *A. fusiformis* from the same region: lakes Simbi, Nakuru and Elmenteita^{1,2,154}. Additionally, studies using molecular analysis methods have consistently demonstrated the absence of complete microcystin-related metabolic pathways in various strains of *Limnospira* (*Arthrospira*) sp.^{154,157,159,206,207}. Finally, the low levels of MCs in the spirulina samples of this study compared to the levels of the analyses on cyanobacteria recognized as producing MCs (e.g., *Microcystis*)²⁰⁸ seem to rule out the hypothesis of the presence of producing strains of MCs in the cultivar samples of our study.

The opportunity to analyze the data from a large number of samples has enabled us (1) to establish the situation of microcystin contaminations that can affect the production of French spirulina; (2) to obtain information on the origin of its contaminations and the methods used for their monitoring; (3) and to propose improvements to the French profession and, by extension,

to the rest of the world. These recommendations concern biomass inoculation, harvesting practices, as well as the monitoring of cyanobacterial contamination and MC levels. We also highlighted the lack of knowledge on the microcystin variants produced by the cyanobacterial contaminants present in the spirulina cultures.

Chapitre II



Chapitre II : The genus *Limnospira* contains only two species both unable to produce microcystins: *L. maxima* and *L. platensis* comb. nov.

Pierre-Etienne Pinchart^{1,2}, Pia Marter^{3,4}, Henner Brinkmann³, Yann Quilichini¹, Mohamed Mysara^{5,6}, Jörn Petersen³, Vanina Pasqualini¹, Felice Mastroleo⁵

- 1 UMR SPE, UAR Stella Mare, Université de Corse, 20250 Corte, France
- 2 Fédération des Spiruliniers de France (FSF), 34800 Clermont-l'Hérault, France
- 3 Leibniz Institute DSMZ – German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, 38124 Braunschweig, Germany
- 4 Julius Kühn-Institut (JKI), 06484 Quedlinburg, Germany
- 5 Microbiology Unit, Nuclear Medical Applications, Belgian Nuclear Research Centre, SCK CEN, 2400 Mol, Belgium
- 6 Bioinformatics Group, Center for Informatics Science, Nile University, Giza 12677, Egypt

Réécrit sur base de l'article :

Pinchart, P.-E., Marter, P., Brinkmann, H., Quilichini, Y., Mysara, M., Petersen, J., Pasqualini, V., and Mastroleo, F. (2024). The genus *Limnospira* contains only two species both unable to produce microcystins: *L. maxima* and *L. platensis* comb. nov. *iScience*, Volume 27, Issue 9. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.110845>.

Contexte général et résumé

La spiruline est le nom commun de cyanobactéries comestibles cultivées dans des fermes aquacoles pour des usages alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques. En particulier en France où on dénombre 180 producteurs dont 120 sont réunis dans la Fédération des Spiruliniers de France (FSF).

Une certaine confusion concerne la taxonomie des spirulines (nom commercial) avec quatre désignations d'espèces réparties en deux genres, *Limnospira* (*L. fusiformis*, *L. indica* et *L. maxima*) et *Arthrospira* (*A. platensis*), citées dans la littérature, les bases de données taxonomiques et les collections de cyanobactéries. Bien que la spiruline soit considérée comme comestible, l'espèce *L. fusiformis* est citée comme produisant potentiellement des microcystines sur la base d'études ayant détecté des cyanotoxines dans certaines cultures de souches kenyanes. Ces résultats n'ont jamais pu être reproduits et de nombreuses études génomiques sur plusieurs souches de spiruline ont systématiquement montré l'absence de toxicité. Cependant, aucune de ces souches n'a été identifiée comme étant *L. fusiformis* dans ces publications. Au regard de la législation européenne, les espèces *L. maxima* et *A. platensis* sont inscrites dans la liste des aliments traditionnels tandis que *L. indica* est seulement autorisé comme complément alimentaire. Alors que *L. fusiformis* ne figure pas dans les espèces alimentaires mais dans des listes de cyanobactéries toxiques, on constate que l'appellation *L. fusiformis* a été retenue par la « Genome Taxonomy Database (GTDB) » pour renommer des souches de spiruline auparavant assignée à *L. indica* ou *L. maxima*. L'ambiguïté taxonomique combinée à une suspicion de toxicité, constitue un enjeu majeur pour les producteurs de spiruline et les autorités de sécurité alimentaire. Pour rassurer les producteurs et les autorités de sécurité alimentaire, une ou plusieurs souches de *L. fusiformis* devraient être identifiées pour vérifier que cette espèce ne peut pas produire de cyanotoxines.

Une collaboration avec des producteurs de la FSF a permis de constituer une collection de sept cultivars de spiruline ayant des origines différentes et représentatives de la diversité des souches cultivées en France. Ces échantillons ont été étudiés avec des protocoles de métagénomique, d'observations en microscopie optique et électronique, de métagénomiques, de phylogénomique et de comparaisons et analyses génomiques.

L'analyse des séquences de la région V3-V4 du gène 16S rRNA obtenues sur nos échantillons a permis de séparer les souches en deux groupes (clades I et II) et d'identifier trois sites de nucléotides suffisants pour les distinguer. Ce résultat est conforme au consensus scientifique qui mentionne deux clades pour les spirulines sans toutefois résoudre l'interprétation taxonomique à donner à ces deux lignées.

Sur la base de critères morfo-taxonomiques, nos observations en microscopie ont permis d'identifier deux souches qui correspondent à la description de l'espèce *L. fusiformis*. On observe toutefois que les souches du clade I présentent des morphologies variées mais instables ce qui rend hasardeux la distinction morphologique des espèces. Par contre, la souche du Clade II présente une morphologie distincte et stable depuis plus de 3 ans.

Le protocole de métagénomique réalisé sur deux échantillons du clade I, identifiés comme *L. fusiformis*, et sur l'échantillon du clade II nous a permis d'obtenir trois génomes assemblés (MAGs). Ces données génétiques ont été complétées par 19 génomes, issus de spirulines assignées aux quatre espèces, disponibles dans la base de données Genbank (NCBI).

L'analyse phylogénomique réalisée sur ces 22 génomes montre l'existence de deux clades. Le clade I comprend nos deux souches *L. fusiformis* et d'autres souches désignées *L. maxima*, *L. indica* and *L. fusiformis* tandis que le clade II ne comprend que des souches désignées *A. platensis*. Ce résultat est conforme aux analyses phylogénétiques, utilisant divers marqueurs génétiques, déjà publiées. Pour résoudre l'interprétation à donner à ces deux clades, nous avons ensuite utilisé deux méthodes de comparaisons génomiques qui permettent de vérifier si deux génomes appartiennent à la même espèce. La méthode OrthoANI calcule le pourcentage moyen d'identité entre les séquences de deux génomes et permet d'établir l'identité d'espèce à partir d'une valeur située approximativement entre 95 et 96%. La matrice de comparaison des 22 génomes de spiruline permet de distinguer les deux clades avec des valeurs inter-clades comprises entre 93,5% et 94,7% et des valeurs intra-clade supérieures à 98,7%. Ce résultat montre que les deux clades appartiennent au même genre et que chaque clade correspond à une et une seule espèce. Toutefois, ce résultat peut être discuté car nos valeurs d'OrthoANI inter-clades sont proches du seuil délimitant les espèces. La méthode dDDH, version *in silico* de la méthode DNA-DNA hybridization, calcule un pourcentage de similarité entre deux génomes. Il s'agit de la référence ultime pour déterminer si deux génomes appartiennent à la même espèce ou sous-espèce avec des seuils respectifs de 70% et 79%. Les résultats avec cette méthode sont nettement plus tranchés avec des valeurs inter-clades comprises entre 49,6% et 56,6%, et des valeurs intra-clade supérieures à 85,4%. Ces valeurs éloignées des seuils délimitant espèces et sous-espèces nous permettent de conclure avec certitude que les spirulines sont séparées en deux et seulement deux espèces et qu'il n'existe pas de sous-espèces. Conformément au code régissant la nomenclature des prokaryotes (ICNP), nous proposons les désignations i) *Limnospira maxima* (synonymes : *L. fusiformis* et *L. indica*) pour les souches du clade I et ii) *Limnospira platensis* comb. nov. pour les souches du clade II.

Pour revenir à la problématique de la toxicité supposée de *L. fusiformis*, nous avons examiné les génomes des 22 souches de spiruline qui comprennent les deux *L. fusiformis* identifiées sur base morphologique, en utilisant trois méthodes. Une première basée sur la recherche des 10 gènes déjà connus pour être impliqués dans la biosynthèse des microcystines. Une seconde méthode basée sur les enzymes utilisées dans cette biosynthèse permet d'élargir la recherche à des gènes encore inconnus pouvant coder des enzymes similaires. La troisième méthode utilise un outil, appelé antiSMASH, développé pour identifier tous types de métabolites secondaires pouvant être produits par un organisme. Ces différentes méthodes n'ont pas permis d'identifier la moindre séquence génétique, partielle ou totale, pouvant être impliquée dans la production de toxines. Ce résultat nous permet de conclure que les *Limnospira* spp. n'ont pas la capacité génétique de produire des microcystines ou d'autres cyanotoxines dont les gènes de biosynthèse sont connus.

Mots clés : *Limnospira*, *Arthrospira*, spiruline, taxonomie, microcystines, complément alimentaire, cyanotoxines

1. Introduction

Spirulina is the traditional and commercial name for edible filamentous cyanobacteria, which was first assigned to the genera *Spirulina* and *Arthrospira*,¹⁶⁰ and more recently to the genus *Limnospira*.⁴² Spirulina is naturally present in alkaline fresh water, rich in carbonates, bicarbonates, nitrates, phosphates and iron. It grows mainly in the intertropical regions with a wide geographical distribution (Africa, Asia, Americas) and also in Southern Europe.^{38,33,35,44} Spirulina has long been used as human food, notably by the Kanembou (Lake Chad) and the Aztecs (Lake Texcoco).⁴ Its exceptional nutritional value has led the United Nations Food and Agriculture Organization (FAO) to consider spirulina a food of major interest against malnutrition for the food security and the response to emergency food situations.⁵ Spirulina also has strong potential for health, especially in the fields of cardiovascular diseases, viral infections, cancer prevention and therapy, immune response, as well as diabetes and cholesterol control.^{161,162}

Many non-edible cyanobacteria are known to produce various cyanotoxins, and 'blue-green algae' dietary supplements have long been suspected of containing toxic cyanobacteria and cyanotoxins.¹⁶³ In 2018, after a routine check to identify a new strain of spirulina, three French producers growing the *Arthrospira fusiformis* Camargue ecotype were forced to empty their ponds following a warning about this strain's suspected toxicity. Indeed, *Limnospira (Arthrospira) fusiformis* is cited in inventories of toxic cyanobacteria,^{47,48} which refer to the publications of Ballot et al. reporting production of microcystins by Kenyan strains of spirulina classified as *A. fusiformis*.^{1,2} Since then, numerous genomic studies on several spirulina strains have consistently shown the absence of toxicity of *Limnospira* sp.^{206,157,159,44} However, none of these strains was identified as *L. fusiformis* in these publications. To reassure the producers and food safety authorities, one or more strains of *L. fusiformis* should be identified to confirm that this species cannot produce cyanotoxins.²⁰⁹

Another question for spirulina producers concerns the identification and naming of cultivated spirulina strains. *Arthrospira platensis* was for a long time considered as the only species of spirulina.^{3,11,25} The United States and European authorities consider two species, *A. maxima* and *A. platensis*.^{30,210} The species *A. fusiformis* is sometimes cited as a synonym of *A. platensis* or as a synonym of *A. maxima*.^{39,210} When assessing commercially grown taxa in the light of the new genus *Limnospira*, the authors included three species (*L. fusiformis*, *L. indica* and *L. maxima*) without ruling on the species *A. platensis*.⁴² This assignment is compatible with the current 'List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature' (LPSN).⁴⁶ Several studies have shown the existence of two or three lineages,^{37,38,211,41,44} but two recent studies proposed that the genus *Limnospira* is monospecific.^{43,45} However, the "paracas" strain is perceived by producers as a species different from other cultivated *Limnospira* strains due to its morphotype and its higher productivity. This strain also appears to have a specific sensitivity to a cyanophage that causes "sudden and massive deaths".²¹² The phylogenetic markers used in different studies - internally transcribed spacer (ITS), *gvp* gene cluster, 16S rRNA gene, phycocyanin intergenic spacer (*cpcBA*-IGS), 16S rRNA-ITS sequences - did not allow to determine with certainty the number of species belonging to the genus *Limnospira*. DNA-DNA hybridization is considered 'the gold standard' for species delineation in prokaryotic taxonomy.^{213,214} To our knowledge, no taxonomic study based on this method, either *in vitro* or *in silico*, has been conducted on *Limnospira* and *Arthrospira* genomes. Accordingly, the current study

was aimed to determine the number of different bacterial species designated as ‘spirulina’ and to clarify their nomenclature.

In this study, we present the results of 16S rRNA gene amplicon sequencing and metagenomic analysis, complemented with microscopic observations, carried out on seven spirulina culture samples of different origin, including the French "camarguaise" strain. The results of comparisons between 22 genomes, or metagenome-assembled genomes, carried out with the “average orthologous nucleotide identity” (OrthoANI) and “digital DNA-DNA hybridization” (dDDH) methods, allowed us to propose a taxonomic revision of the genus *Limnospira*. We also present an advanced genomic analysis of the identified *L. fusiformis* and other strains, targeting their potential ability to produce toxins. It is discussed if it is still advisable to mention *L. (A.) fusiformis* as a microcystin-producing species.

In the following, we use the genus names *Limnospira* and *Arthrospira* to refer to the spirulina strains, depending on the context. The strains mentioned in this study are named according to the names used in the GenBank database and other cited studies. Taxonomic changes will be proposed in the discussion.

2. Methods

2.1. Spirulina strains

Sixteen samples of different spirulina cultures, from producers of the “Fédération des Spiruliniers de France (FSF, www.spiruliniersdefrance.fr)”, constituted the initial collection of spirulina strains. A survey of producers made it possible to identify the initial suppliers of the strains used, and to reduce our sampling to seven strains originating from France, Ethiopia, India, Peru and Senegal (Table 1).

Table 1. Spirulina strains and their uses in this study.

Strain ID	Putative origin	Provider	16S rRNA (V3-V4)	Microscopy	Genome assembly
CAM_GP	France (Camargue)	spirulinasolution.fr	●	●	●
ETH_PS	Ethiopia	spirulinepourquoipas.com	●	●	●
ETH_VR	Ethiopia	spirulinedugarlaban.com	●	●	-
IND_PP	India (Lonar)	laspiraleverte.com	●	●	-
PAR_GP	Peru (Paracas)	spirulinasolution.fr	●	●	●
PAR_RB	Peru (Paracas)	algosud.com	●	●	-
SEN_CD	Senegal	spirulinedeslandes.com	●	●	-

Optical microscopy observations, unless otherwise stated, and DNA extractions for amplicon sequencing were carried out on the samples received from the producers; electron microscopy observations and metagenomics were carried out on samples sub-cultivated in the laboratory (Table1).

Spirulina samples were cultivated in cell culture flask with vented cap (Greiner Bio-One, Belgium), in modified Zarrouk medium²¹⁵ at room temperature and following day/night regime illumination. Flasks were continuously mixed using an orbital shaker at 120 rpm (Edmund Bülher, Germany).

2.2. Microscopy

Optical light microscopy (LM) observations were carried out on living and cultivated samples using a Zeiss Axiolab microscope, an Axiocam 305 camera and Zeiss Zen 3.6 software.

For scanning electronic microscopy (SEM) and transmission electronic microscopy (TEM), the specimens were fixed in cold (4 °C) and saline (10 g NaCl per liter) solution of 2.5% glutaraldehyde in 0.1 M sodium cacodylate buffer at pH 7.2.

For SEM observations, one milliliter drop of this cell suspension were deposited on poly-L-lysine coated slides. After settling for two hours, the slides were rinsed in milli-Q water and dehydrated in a graded ethanol series: 30%, 50%, 70%, 90% and 100% (30 minutes for each immersion step). The last immersion in ethanol 100% was repeated twice. The samples were critical point dried in an Emitech K850 instrument, mounted on aluminum stubs with the use of double-sided carbon adhesive and coated with gold/palladium in a Quorum Technologies SC7640 sputter coater. The samples were examined under a Hitachi S-3400-N scanning electron microscope operated at an accelerating voltage of 10 kV.

For TEM observations, specimens' pellets obtained after centrifugation, were post-fixed in 2% osmium tetroxide in 0.1 M cacodylate buffer (pH 7.2) for 1 h at room temperature. The postfixed specimens were processed in graded ethyl alcohol, propylene oxide, Spurr resin and polymerized for 24 h at 60 °C. Ultrathin sections (60-90 nm) were cut on an ultramicrotome Power tome PC-RMC Boeckeler, placed on 300 and 200 mesh copper grids and stained with uranyl acetate followed by lead citrate. The samples were examined under a transmission electron microscope Hitachi H-7650 at an accelerating voltage of 80 kV.

2.3. DNA isolation

DNA of the spirulina culture samples were isolated using the protocol adapted for filamentous cyanobacteria of the genus *Limnospira* (*Arthrospira*) developed by Morin et al.²¹⁶. Briefly, cells were collected by centrifugation (10 min, 3500 rpm) and resuspended into 0.5 ml of 0.15 M NaCl and 0.1 M EDTA. Following three freeze-thaw cycles, the cells were collected by centrifugation (10 min, 8000 rpm), resuspended in 0.5 ml TE Buffer (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8.0) and transferred into fresh tubes for enzymatic cell wall lysis using 100 µl of 50 mg/ml lysozyme, for 30 min at 37 °C. Proteins were digested with 5 µl of 50 mg/ml proteinase K in 2% SDS final concentration, for 1 h at 37 °C. Polysaccharides, proteins and cell wall debris were thereafter removed by selective precipitation: 150 µl of 5 M NaCl was added to the tubes, followed by 0.1 volume of a 10% cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) stock solution and incubated at 65 °C for 10 min. Nucleic acids purification was achieved by extraction in 1 volume of chloroform:isoamyl alcohol. The tubes were placed on ice for 30 min to allow precipitation of CTAB complexes, before being centrifuged (10 min, 8000 rpm). The supernatant was transferred into a fresh tube, gently mixed with 0.6 volume of isopropanol until DNA precipitated. The DNA pellets were recovered by centrifugation, (10 min, 4 °C, 15000 rpm) and washed with 1 ml of ice-cold 70% ethanol to remove any residual salt. After a final

centrifugation (5 min, 4 °C, 15000 rpm), the supernatant was discarded, and the pellets were dried before being resuspended in 100 µl TE Buffer. The samples were treated with 1 µl of RNase (10 mg/ml) for 1 h at 37 °C and then kept at -80°C until further use.

2.4. 16S rRNA gene amplicon sequencing

High-throughput paired-end amplicon sequencing of the V3-V4 hypervariable region of the 16S rRNA gene was conducted on BaseClear's Illumina MiSeq (V3 chemistry) platform according to the manufacturer's guidelines. Sequence data of the 16S rRNA gene amplicons were processed using OCToPUS pipeline v.1.0²¹⁷, and analyzed as previously described²¹⁸, generating the operational taxonomic units (OTUs). The OTUs were classified using Ribosomal Database Project (RDP v.18) dataset²¹⁹ and their purity were assessed using the oligotyping approach²²⁰ and classified using Blastn algorithm choosing the rRNA/ITS database. The sequence alignments and their examination were carried out with MEGA 11²²¹.

2.5. Metagenome sequencing and binning

High-throughput short-read metagenome sequencing was conducted as previously described²²². The NEBNext Ultra II FS DNA Library Prep Kit (New England Biolabs) was used for the construction of the Illumina libraries. Sequencing was performed on the Illumina NovaSeq 6000 system using the v3 chemistry with 600 cycles. The fastq-mcf tool of ea-utils v1.04.803 was used for quality control and adapter clipping.

We used our previously established metagenome assembly and binning pipeline for the analysis of short-read Illumina sequences²²². In short, processed sequence data were assembled with MEGAHIT²²³, metagenomic binning was conducted with three methods, namely MaxBin 2.0²²⁴, MetaBAT²²⁵, Concoct²²⁶, and subsequently analyzed with DAS Tool²²⁷ to retrieve the most reliable MAGs. The quality of the MAGs was investigated with CheckM²²⁸ and coverage values were calculated per bbmap. Finally, genomes were annotated by DFAST²²⁹, InterProScan²³⁰ and SignalP²³¹. The initial taxonomic classification of the cyanobacterial MAGs was conducted with the Genome Taxonomy Database Toolkit GTDB-Tk v2.1.0 on the GTDB reference data version r207²³².

2.6. Phylogenomic analyses

Genome-based phylogenomic analyses of cyanobacteria were conducted as previously reported²³³. Briefly, the phylogenomic trees were reconstructed from concatenated amino acid or nucleotide alignments of 92 housekeeping genes (Up-to-Date-Bacterial Core Gene [UBCG] dataset²³⁴). The alignments were manually refined with the edit-option of the MUST package²³⁵ and the application of G-blocks²³⁶. The maximum likelihood (ML) trees were calculated with RAxML v8.2.10 and inferred under a GTR+4Γ model using 100 bootstrap replicates²³⁷.

2.7. Genome comparison

Average Nucleotide Identity (ANI) was calculated using the OrthoANI algorithm with OAT (Orthologous Average Nucleotide Identity Tool) version 0.93.1. OrthoANI is highly correlated with ANI and show approximately 0.1 % higher values than the original ANI²³⁸.

Digital DNA-DNA Hybridization (dDDH) was calculated using Genome-to-Genome Distance Calculator (GGDC 3.0, formula 2) with the platform available under <https://tygs.dsmz.de>^{214,239}.

The *Limnospira* and *Arthrospira* genomes used for the OrthoANI and the dDDH analysis are those published in GenBank as available on 09/30/23, complemented with the later released assembly of the reference strain of *A. platensis* (PCC 7345; Table 2).

Table 2. *Limnospira* (*Arthrospira*) genomes analyzed in this study.

Genomes - NCBI		Genome		
Species	Strain	Assembly	Contigs	Accession
<i>Limnospira maxima</i>	CS-328	Contig	129	GCA_000173555.1
<i>Limnospira fusiformis</i>	SAG 85.79	Complete	1	GCA_012516315.1
<i>Limnospira indica</i>	BM01	Contig	635	GCA_014250495.1
<i>Limnospira fusiformis</i>	KN01	Contig	410	GCA_014489865.2
<i>Arthrospira platensis</i>	C1	Complete	1	GCA_000307915.1
<i>Arthrospira</i> sp.	TJSD091	Contig	359	GCA_000974245.1
<i>Arthrospira</i> sp.	TJSD092	Complete	1	GCA_003060805.1
<i>Limnospira maxima</i>	CAM_GP	Contig	356	PRJNA1085564
<i>Limnospira indica</i>	PCC 8005	Chromosome	6	GCA_000973065.1
<i>Limnospira maxima</i>	ETH_PS	Contig	881	PRJNA1085565
<i>Arthrospira</i> sp.	O9.13F	Contig	928	GCA_003268325.1
<i>Arthrospira platensis</i>	PCC 7345	Contig	824	GCA_032349095.1
<i>Arthrospira platensis</i>	NIES-46	Contig	343	GCA_009176225.1
<i>Arthrospira platensis</i>	NCB002	Contig	5	GCA_029223075.1
<i>Arthrospira platensis</i>	NIES-39	Complete	1	GCA_026000695.2
<i>Arthrospira platensis</i>	Paraca	Contig	268	GCA_000175415.3
<i>Limnospira platensis</i>	PAR_GP	Contig	678	PRJNA1085629
<i>Arthrospira</i> sp.	PCC 9108	Complete	1	GCA_016745315.1
<i>Arthrospira platensis</i>	YZ	Chromosome	10	GCA_001611905.1
<i>Arthrospira platensis</i>	FACHB-835	Contig	372	GCA_014698815.1
<i>Arthrospira platensis</i>	FACHB-971	Contig	315	GCA_014698385.1
<i>Arthrospira platensis</i>	FACHB-439	Contig	308	GCA_014698675.1

2.8. Toxinogenesis analysis

The search for nucleotide (Table 3) and protein sequences (Table 4) for the synthesis of microcystins, was carried out based on the current knowledge of cyanotoxins and their metabolic synthesis pathways^{53,240}. In summary, microcystins are secondary metabolites, cyclic heptapeptides whose biosynthesis depends on ten genes (*mcyA-J*), grouped in a cluster of approximately 55kbp, which encode a set of multifunctional enzymes: non-ribosomal peptide synthetases (NRPSs), polyketide synthetases (PKSs), tailoring enzymes and a transporter enzyme. All sequences were retrieved from GenBank.

Table 3. Genes involved in microcystin biosynthesis.

Sequence description	Organism	Length (bp)	Accession
<i>mcyD</i> , <i>mcyE</i> , <i>mcyF</i> , <i>mcyG</i> , <i>mcyH</i> , <i>mcyI</i> , <i>mcyJ</i> , <i>dnaN</i> genes	<i>Microcystis aeruginosa</i> K-139	36,468	AB032549
complete gene cluster: <i>mcyA</i> to <i>mcyJ</i>	<i>Planktothrix agardhii</i> NIVA-CYA 126/8	55,575	AJ441056
complete gene cluster: <i>mcyA</i> to <i>mcyJ</i>	<i>Anabaena</i> sp. 90	57,817	AJ536156

Table 4. Proteins involved in microcystin biosynthesis by *Microcystis aeruginosa* PCC 7806SL.

Protein	Name	Length (aa)	Accession
McyA	non-ribosomal peptide synthetase	2,795	ARI82521
McyB	non-ribosomal peptide synthetase	2,126	ARI82522
McyC	non-ribosomal peptide synthetase	1,291	ARI82523
McyD	type I polyketide synthase	3,906	ARI82520
McyE	hybrid non-ribosomal peptide synthetase/type I polyketide synthase	3,487	ARI82519
McyF	aspartate/glutamate racemase family protein	251	ARI82518
McyG	type I polyketide synthase	2,631	ARI82517
McyH	ATP-binding cassette domain-containing protein	585	ARI82516
McyI	phosphoglycerate dehydrogenase	337	ARI82515
McyJ	methyltransferase domain-containing protein	311	ARI82514

Nucleotide sequence (Table 3) was searched using the blastn algorithm and protein sequence (Table 4) was investigated with tblastn and blastp²⁴¹. We also used the software ‘antibiotics and secondary metabolite analysis shell - antiSMASH 7.1.0’²⁴² to detect possible non-ribosomal peptide synthetases (NRPSs) and polyketide synthases (PKSs) in the *Limnospira* genomes.

3. Results

3.1. 16S rRNA gene amplicon sequencing

The 16S rRNA gene sequences (400 to 405 bp) resulting from amplicon sequencing of the V3 and V4 hypervariable regions allowed the identification of two Operational Taxonomic Units (OTUs) corresponding to *Limnospira* (*Arthrospira*) and five OTUs corresponding to other cyanobacteria (Table 5).

Table 5. Cyanobacterial OTUs. Reads and proportion of each sample.

OTU	Taxa ^a	Pid ^b	Samples						
			CAM_GP	ETH_PS	ETH_VR	IND_PP	PAR_GP	PAR_RB	SEN_CD
OTU1_TG (clade I)	<i>Limnospira fusiformis</i> , <i>L. maxima</i>	100	19582 (95.28%)	9199 (100%)	25572 (88.76%)	18618 (99.63%)		280 (11.02%)	14954 (84.73%)
OTU1_AA (clade II)	<i>L. fusiformis</i> , <i>L. maxima</i> , <i>Arthrospira platensis</i>	99.26			27 (0.09%)	5 (0.03%)	31784 (100%)	2 (0.08%)	19 (0.11%)
OTU6_CA	<i>Sodalinema</i> sp.	100	2 (0.01%)		3210 (11.14%)	65 (0.35%)		2079 (81.82%)	2677 (15.17%)
OTU26	<i>Cyanobium</i> sp.	97.50	667 (3.25%)						
OTU48	<i>Cyanocohniella</i> sp.	96.54	295 (1.44%)						
OTU65	<i>Haloleptolyngbya</i> sp.	99.26						180 (0.07%)	
OTU310	<i>Nodosilinea</i> sp.	97.77	5 (0.02%)						
	Totals		20551 (100%)	9199 (100%)	28809 (100%)	18688 (100%)	31784 (100%)	2541 (100%)	17650 (100%)

^a "Best hit" taxa from Blastn queries with 100% recovery query and higher percent identity.

^b Percentage identity between OTU and "best Hit" taxa sequences.

Concerning OTU1_AA, the alignments obtained with *Limnospira fusiformis* and *L. maxima* on the one hand, and with *Arthrospira platensis* on the other hand have the same percentage identity (402/405, 99.26%), but the three nucleotide differences do not concern the same alignment positions.

Examination of the alignment of *Limnospira* OTUs sequences with other sequences from spirulina strains - notably the reference strains of the type species *L. maxima* UTEX 2720, *L. fusiformis* SAG 85.79, *L. indica* PCC 8005 and *A. platensis* PCC 7345 - revealed three diagnostic nucleotide sites - namely position 211, 237 and 241 – that allowed us to differentiate between the two clades (Figure 1). OTU1_TG was found in *L. maxima*, *L. fusiformis* and *L. indica* strains, while OTU1_AA is characteristic for *A. platensis*.

Species/Abbrv	211	237	241
1. OTU1 TG	C	A	A
2. NR 177701.1:587-591 <i>Limnospira maxima</i> UTEX2720	C	A	A
3. NR 177700.1:298-702 <i>Limnospira fusiformis</i> SAG85.79	C	A	A
4. NR 177862.1:298-702 <i>Limnospira indica</i> PCC8005	C	A	A
5. MT830373.1:328-732 <i>Limnospira fusiformis</i> KN01	C	A	A
6. EU183352.1:267-671 <i>Arthrospira</i> sp. PCC 9901	C	A	A
7. OTU1 AA	C	A	A
8. NR 125711.1:297-700 <i>Arthrospira platensis</i> PCC 7345	C	A	A
9. LC455668.1:321-725 <i>Arthrospira platensis</i> NIES-46	C	A	A
10. DQ293284.1:318-722 <i>Arthrospira platensis</i> PCC 9108	C	A	A
11. DQ393279.1:318-722 <i>Arthrospira platensis</i> NIES-39	C	A	A
12. AF329391.1:298-702 <i>Arthrospira</i> sp. FACHB439	C	A	A
13. OR142672.1:298-702 <i>Arthrospira platensis</i> CCIBR3254	C	A	A
14. OR142670.1:298-702 <i>Arthrospira platensis</i> CCIBR3335	C	A	A
15. OR142671.1:298-702 <i>Arthrospira platensis</i> CCIBR3336	C	A	A

Figure 1. Alignment position 200 to 250 of the V3-V4 region of the 16S rRNA gene. Differences between OTU1_TG (Clade I) and OTU1_AA (Clade II) are located in positions 211, 237 and 241. Complete sequences in table S2.

Regardless of its comparably short sequence length, the V3-V4 region of the 16S rRNA gene is sufficient to distinguish between the two clades of *Limnospira* sp., which is in accordance with the phylogenomic trees and comparative genome analyses conducted in this study (see below).

3.2. Morphology and ultrastructure

The seven spirulina culture samples exhibit a great diversity of *Limnospira* morphotypes, including spiral or helical (Figure 2a-b, 3a-b), tightly coiled (Figure 2c, 3c), wavy or weakly spiral (Figure 2d, 3g), and straight trichomes (Figure 3d-f).

The CAM_GP and ETH_PS samples are composed of *Limnospira* spiral trichomes (Figure 2a-b, 3a-b) that match the “*fusiformis*” species description ¹⁸⁷.

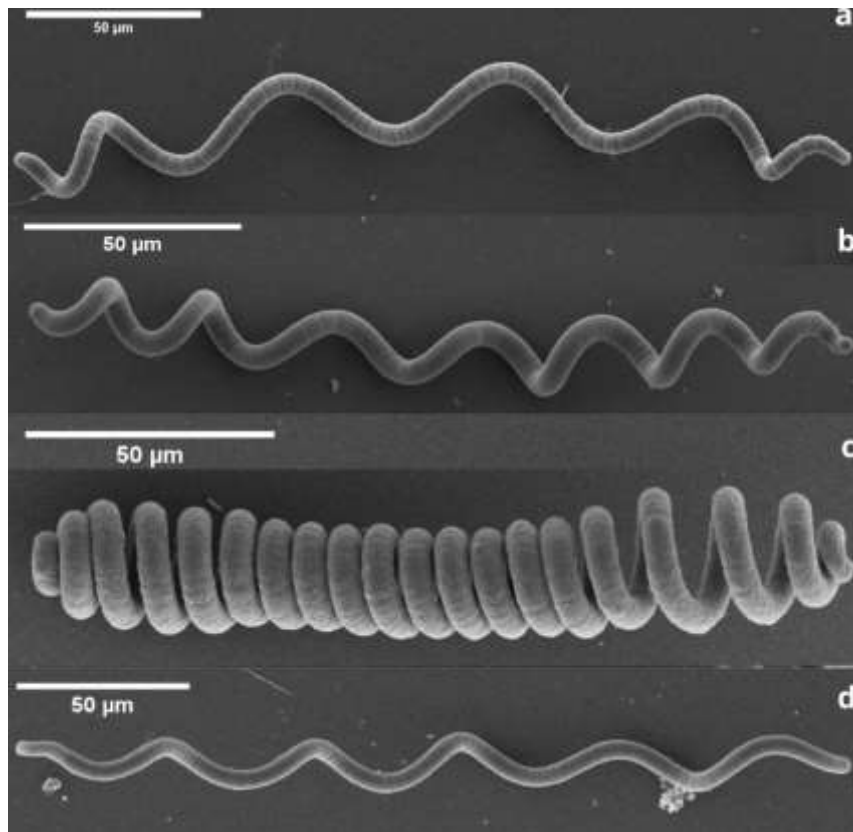


Figure 2. SEM pictures of *Limnospira* strains: CAM_GP (a), ETH_PS (b), IND_PP (c), PAR_GP (d). Scale bar=50µm.

The IND_PP sample is composed of *Limnospira* tightly coiled trichomes corresponding to the “Lonar” strain description (Figure 3c) ³. Under laboratory conditions, the original monomorphotype (Figure 3c) evolved towards several morphotypes with helical trichomes (Figure 3h), which correspond to a former report of “*Arthrospira maxima*” strains ³⁵.

The ETH_VR and SEN_CD samples are mainly composed of *Limnospira* straight trichomes and are heavily contaminated by a filamentous cyanobacterium, a putative representative of the genus *Sodalinema* (Figure 3d-e). In these samples, some specimens are spiraled and match the “*fusiformis*” species description ¹⁸⁷.

The PAR_RB sample, a mixture of spirulina strains from both clades, was according to the 16S rRNA gene amplicon sequencing analysis also contaminated with a cyanobacterium of the genus *Sodalinema* (Table 5). It is mainly composed of straight *Limnospira* trichomes and some weakly spiraled specimens like the “Paracas” strain (Figure 3f) ^{3,11,45}.

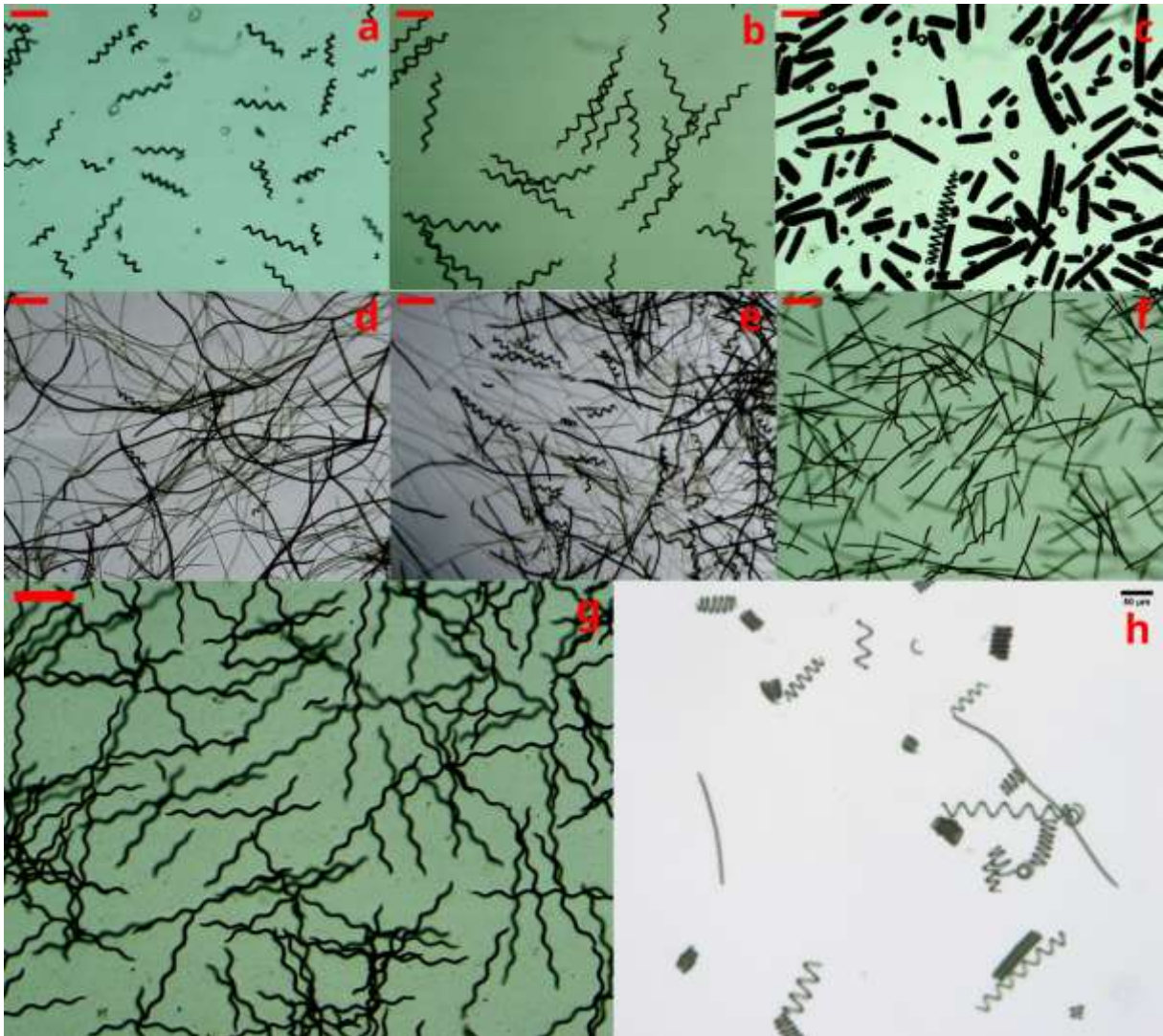


Figure 3. LM views (f-m) of spirulina strains: CAM_GP (a), ETH_PS (b), IND_PP (c, h), ETH_VR (d), SEN_CD (e), PAR_RB (f) and PAR_GP (g). Scale bar=50µm.

The PAR_GP sample is composed of weakly spiraled *Limnospira* trichomes corresponding to the “Paracas” strain trichome shape (Figure 3g).

Clade I samples (CAM_GP, ETH_PS, IND_PP, ETH_VR, SEN_CD, PAR_RB; Table 5) present irregular helical shapes, with a pitch generally smaller than the trichome diameter, and with gradually attenuated trichome and cells diameters at the ends. We have observed a development from these screw-like coiled trichomes towards straight shapes in all our clade I samples in laboratory cultures. The clade II sample, the “paracas” strain (PAR-GP), presents a regular helical shape with a pitch approximately double the diameter. This shape appears wavy in LM observations (Figure 3g). The morphology of this strain remains stable, without the appearance of straight shapes, in laboratory culture for more than three years.

The presence of a calyptra, a characteristic of the genus *Limnospira*⁴², is observed on most trichome ends in both lineages. However, the calyptra and the attenuation of the diameter of the trichome appear to be more pronounced for the “*fusiformis*”-like strains (Figure 4a-d).

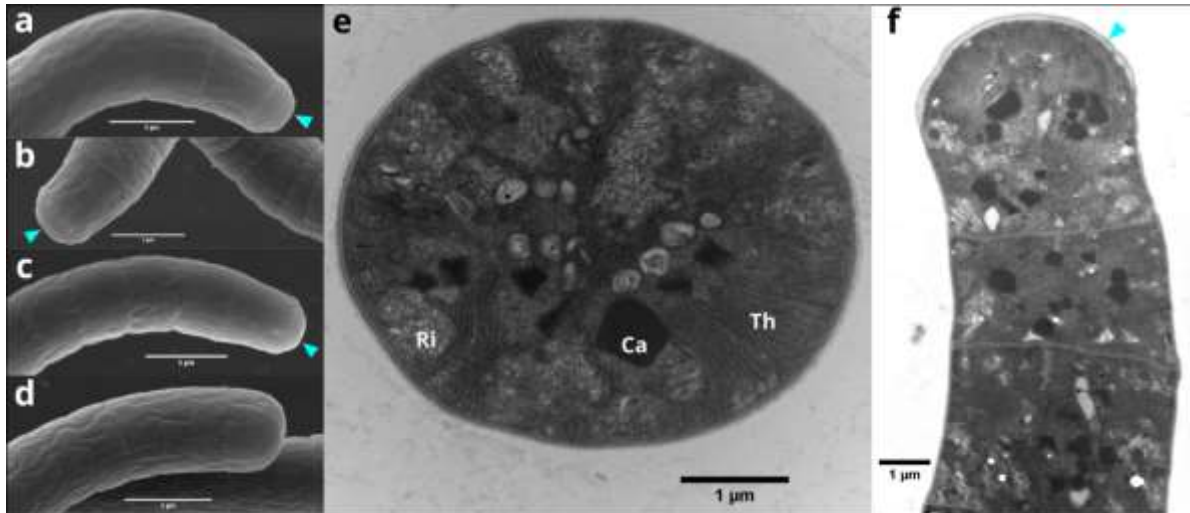


Figure 4. SEM views (scale bar=5 μ m) of *Limnospira* - CAM_GP (a), ETH_PS (b), PAR_GP (c, d) - showing ends of trichomes and TEM views (scale bar=1 μ m) of *Limnospira* - PAR_GP (e, f) - showing the ultrastructure including thylakoid membranes (Th), ribosomes (Ri), carboxysomes (Ca). Blue triangles indicate the calyptra at the end of the trichomes.

TEM observations did not reveal any remarkable differences between the two clades of *Limnospira* (Figure S1). In particular, we observed a thickened cell wall or calyptra at the end of trichomes and thylakoids with an irregular arrangement in PAR_GP samples (clade II, Figure 4e-f), as described by Nowicka-Krawczyk et al. for *L. fusiformis* strains belonging to clade I⁴².

3.3. Metagenome assembly and binning of spirulina

Metagenome sequencing, assembly and binning of two spirulina cultures from clade I (ETH_PS, CAM_GP) and one culture from clade II (PAR_GP) resulted in a single cyanobacterial metagenome-assembled genome (MAG) of the genus *Limnospira* per sample (Table 6). All three MAGs have a good quality with a calculated completeness of at least 96% and a contamination rate of less than 1% irrespective of the comparably large number of contigs. Mapping of the Illumina reads on the MAGs resulted in 1600-fold to 2900-fold genome coverage, which is nearly two orders of magnitude greater than required for reliable binning. For future studies, the sequencing depth, which was comparable to a former metagenome study of non-axenic limnic cyanobacteria²²², could be significantly reduced, thus paving the way for cost-effective metagenomic monitoring of spirulina cultivation. The analysis of the *Limnospira* MAGs showed a comparable G+C content (44.4% - 44.7%), coding density (0.83 – 0.84) and a draft genome size ranging between 4.9 Mbp and 5.4 Mbp (Table 6). Accordingly, metagenome sequencing revealed similar genomic characteristics for *Limnospira* strains of both clades.

Table 6. *Limnospira* MAGs and their characteristics.

Sample-MAG	Clade	Taxon ¹	Completeness (%)	Contamination (%)	Mean contig length	N50 (contigs)	Coding density	# contigs	Genome size	G+C (%)	Coverage
ETH_PS-MAG01	I	<i>Limnospira fusiformis</i>	97.09	00.44	6052	16808	0.83	881	5,332,277	44.67	1613
CAM_GP-MAG01	I	<i>Limnospira fusiformis</i>	96.00	00.66	13773	20213	0.84	356	4,903,374	44.51	2912
PAR_GP-MAG01	II	« <i>Limnospira platensis</i> »	98.14	00.00	7946	33073	0.83	678	5,387,508	44.43	1958

¹According to GTDB-Tk classification

3.4. Phylogenomic analyses

Our three newly established MAGs were analyzed with 19 reference genomes of the genus *Limnospira* and ten genomes from closely related cyanobacteria all belonging to clade A of the cyanobacterial species tree ^{243,222}. The phylogenomic protein tree based on 18,746 variable amino acid positions showed a common branching of all 22 analyzed *Limnospira* genomes in a distinct subtree that is supported by 100 bootstrap proportion (BP; Figure S2). The *Limnospira* subtree is divided in two distinct clades both supported by 100% BP. Clade I comprises two newly established metagenomes (CAM_GP, ETH_PS), several genomes of strains that are designated *L. maxima*, *L. indica* and *L. fusiformis*, and it contains also putative 'Arthrospira' genomes that were apparently misclassified (strain C1) or unclassified (strains O9.13F, TJSD091 and TJSD092). Clade II comprises genomes of different *L. platensis* strains including the new MAG from the PAR_GP culture. However, the internal branching pattern especially of clade I remained unresolved and the position of the comparably fast evolving *Arthrospira* sp. O9.13F genome might be influenced by long-branch attraction ²⁴⁴.

With the aim of a better phylogenetic resolution, we reanalyzed the relationships of the 22 *Limnospira* strains with a maximum likelihood tree based on 32,918 variable nucleotide positions (Figure 5). The subanalysis showed a distinct branching pattern of the eleven *A. platensis* strains in clade II, comprising a common branch (98% BP) with three subtrees ([i] PCC 7345 – NIES-39, [ii] Paraca, PAR_GP, [iii] YZ – FACHB-971) and *A. platensis* FACHB-439 in a basal position. In contrast, the close relationship of the strains in clade I with a largely unresolved topology was confirmed by the nucleotide tree. A notable finding was the common branching of *Arthrospira* sp. O9.13F with *L. indica* PCC 8005 and our *L. maxima* ETH_PS MAG, which is supported by 100% BP regardless of its accelerated evolutionary rate. Our phylogenomic analyses, as well as a previous phylogenetic analysis based on 16S-ITS (Roussel et al., 2023), showed that the supposed *Arthrospira* strains C1, O9.13F, TJSD091 and TJSD092 are located in clade I. However, our phylogenetic analyses showed a very close relationship of all strains of clade I, but provided no evidence for the presence of distinct

lineages corresponding to the three previously proposed species (*L. maxima*, *L. fusiformis*, *L. indica*).

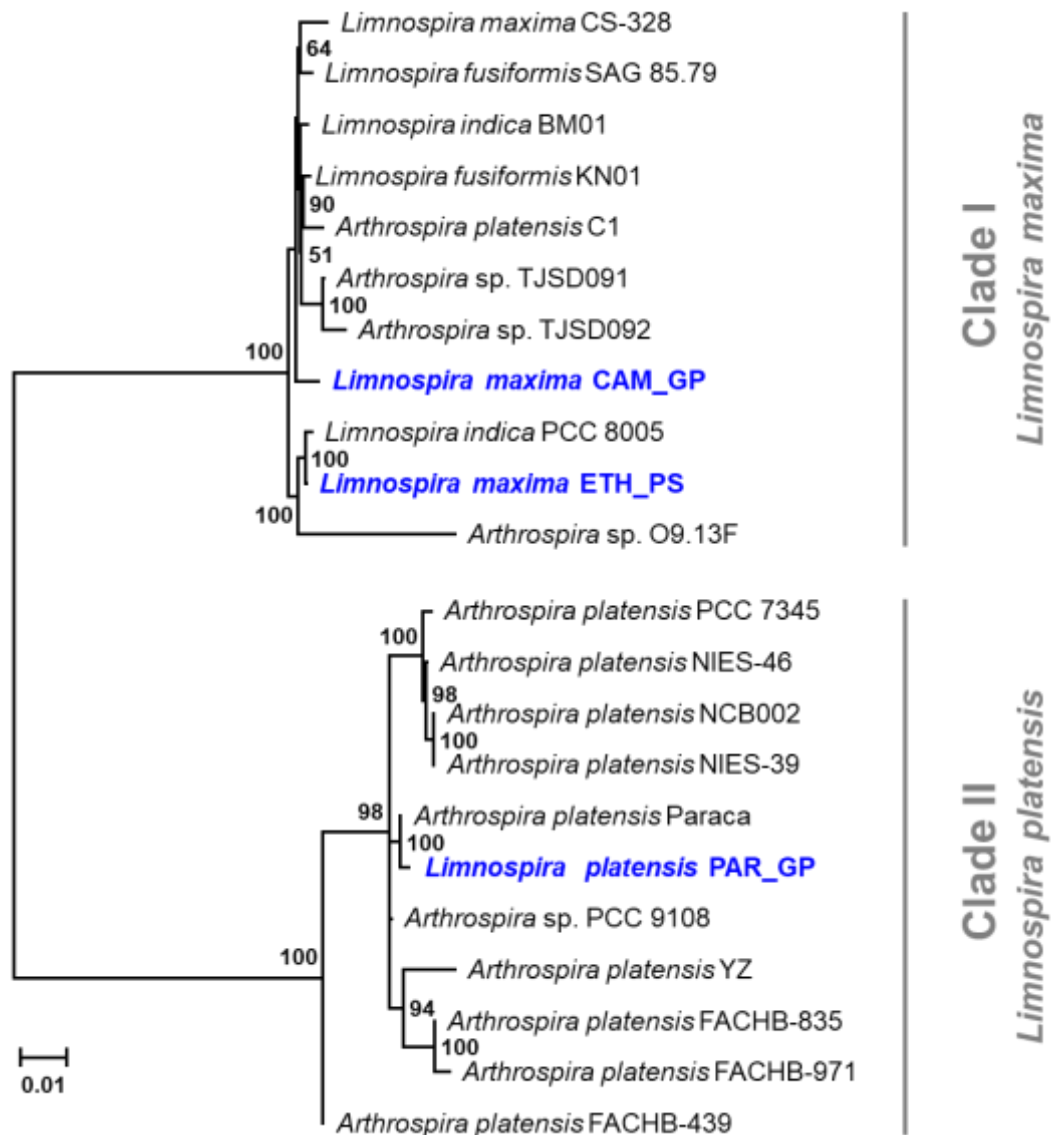


Figure 5: Phylogenomic maximum likelihood tree of three newly established *Limnospira* MAGs from spirulina cultures (CAM_GP, ETH_PS, PAR_GP) and 19 cyanobacterial reference genomes from the genus *Limnospira*. The RaxML tree was constructed from 32,918 variable nucleotide positions based on an amino acid alignment of 92 housekeeping genes under the GTR4gamma model. Bootstrap values >50% are shown at the nodes. Metagenome-Assembled Genomes (MAGs) from the current study are highlighted in blue and bold. Genome assembly accession numbers are listed in Table 2.

3.5. Average Nucleotide Identity analysis

The 231 pairwise Orthologous Average Nucleotide Identity (OrthoANI) comparisons among 22 *Limnospira* and *Arthrospira* strains are presented in Figure 6.

Strain	Clade I											Clade II										
	<i>L. maxima</i> CS-328	<i>L. fusiformis</i> SAG85-79	<i>L. indica</i> BM01	<i>L. fusiformis</i> KN01	<i>A. platensis</i> C1	<i>Arthrospira</i> sp. TJS091	<i>Arthrospira</i> sp. TJS092	<i>L. maxima</i> CAM_GP	<i>L. indica</i> PCC8005	<i>L. maxima</i> ETH_PS	<i>Arthrospira</i> sp. O9.13F	<i>A. platensis</i> PCC 7345	<i>A. platensis</i> NIES-46	<i>A. platensis</i> NCB002	<i>A. platensis</i> NIES-39	<i>A. platensis</i> paraca	<i>L. platensis</i> PAR_GP	<i>Arthrospira</i> sp. PCC 9108	<i>A. platensis</i> YZ	<i>A. platensis</i> FACHB-835	<i>A. platensis</i> FACHB-971	<i>A. platensis</i> FACHB-439
<i>L. maxima</i> CS-328		99.42	99.42	99.43	99.35	99.38	99.37	99.42	99.18	99.21	98.73	93.67	93.63	93.61	93.60	93.77	93.88	93.72	93.99	94.18	94.12	94.45
<i>L. fusiformis</i> SAG85.79	99.42		99.40	99.44	99.39	99.31	99.31	99.46	99.15	99.25	98.72	93.63	93.65	93.59	93.57	93.70	93.89	93.67	93.93	94.11	94.10	94.41
<i>L. indica</i> BM01	99.42	99.40		99.52	99.40	99.45	99.39	99.46	99.33	99.31	98.81	93.67	93.71	93.65	93.62	93.71	93.94	93.75	94.02	94.08	94.05	94.42
<i>L. fusiformis</i> KN01	99.43	99.44	99.52		99.43	99.45	99.46	99.54	99.30	99.37	98.84	93.75	93.69	93.77	93.72	93.89	93.92	93.76	94.15	94.15	94.13	94.48
<i>A. platensis</i> C1	99.35	99.39	99.40	99.43		99.34	99.33	99.43	99.16	99.23	98.70	93.64	93.66	93.53	93.54	93.69	93.84	93.59	93.98	94.10	94.08	94.38
<i>Arthrospira</i> sp. TJS091	99.38	99.31	99.45	99.45	99.34		99.78	99.44	99.19	99.23	98.71	93.73	93.75	93.66	93.65	93.80	93.93	93.77	94.09	94.17	94.10	94.54
<i>Arthrospira</i> sp. TJS092	99.37	99.31	99.39	99.46	99.33	99.78		99.44	99.17	99.21	98.76	93.70	93.73	93.73	93.65	93.83	93.92	93.70	94.09	94.12	94.16	94.53
<i>L. maxima</i> CAM_GP	99.42	99.46	99.46	99.54	99.43	99.44	99.44		99.30	99.34	98.87	93.82	93.87	93.85	93.86	93.93	94.06	93.96	94.28	94.31	94.31	94.67
<i>L. indica</i> PCC8005	99.18	99.15	99.33	99.30	99.16	99.19	99.17	99.30		99.69	98.99	93.69	93.72	93.67	93.59	93.69	93.96	93.70	94.03	94.08	94.04	94.40
<i>L. maxima</i> ETH_PS	99.21	99.25	99.31	99.37	99.23	99.23	99.21	99.34	99.69		98.99	93.83	93.78	93.82	93.79	93.92	94.08	93.95	94.21	94.27	94.18	94.60
<i>Arthrospira</i> sp. O9.13F	98.73	98.72	98.81	98.84	98.70	98.71	98.76	98.87	98.99	98.99		93.62	93.59	93.62	93.59	93.74	93.80	93.66	93.91	94.00	93.99	94.26
<i>A. platensis</i> PCC 7345	93.67	93.63	93.67	93.75	93.64	93.73	93.70	93.82	93.69	93.83	93.62		99.61	99.62	99.61	99.49	99.32	99.53	99.28	99.32	99.26	99.01
<i>A. platensis</i> NIES-46	93.63	93.65	93.71	93.69	93.66	93.75	93.73	93.87	93.72	93.78	93.59	99.61		99.77	99.76	99.52	99.28	99.54	99.30	99.33	99.32	99.04
<i>A. platensis</i> NCB002	93.61	93.59	93.65	93.77	93.53	93.66	93.73	93.85	93.67	93.82	93.62	99.62	99.77		99.86	99.58	99.26	99.58	99.32	99.35	99.27	99.09
<i>A. platensis</i> NIES-39	93.60	93.57	93.62	93.72	93.54	93.65	93.65	93.86	93.59	93.79	93.59	99.61	99.76	99.86		99.54	99.27	99.56	99.27	99.34	99.32	99.10
<i>A. platensis</i> paraca	93.77	93.70	93.71	93.89	93.69	93.80	93.83	93.93	93.69	93.92	93.74	99.49	99.52	99.58	99.54		99.71	99.64	99.42	99.48	99.44	99.17
<i>L. platensis</i> PAR_GP	93.88	93.89	93.94	93.92	93.84	93.93	93.92	94.06	93.96	94.08	93.80	99.32	99.28	99.26	99.27	99.71		99.52	99.33	99.37	99.33	99.02
<i>Arthrospira</i> sp. PCC 9108	93.72	93.67	93.75	93.76	93.59	93.77	93.70	93.96	93.70	93.95	93.66	99.53	99.54	99.58	99.56	99.64	99.52		99.56	99.67	99.60	99.36
<i>A. platensis</i> YZ	93.99	93.93	94.02	94.15	93.98	94.09	94.09	94.28	94.03	94.21	93.91	99.28	99.30	99.32	99.27	99.42	99.33	99.56		99.48	99.43	99.21
<i>A. platensis</i> FACHB-835	94.18	94.11	94.08	94.15	94.10	94.17	94.12	94.31	94.08	94.27	94.00	99.32	99.33	99.35	99.34	99.48	99.37	99.67	99.48		99.86	99.28
<i>A. platensis</i> FACHB-971	94.12	94.10	94.05	94.13	94.08	94.10	94.16	94.31	94.04	94.18	93.99	99.26	99.32	99.27	99.32	99.44	99.33	99.60	99.43	99.86		99.25
<i>A. platensis</i> FACHB-439	94.45	94.41	94.42	94.48	94.38	94.54	94.53	94.67	94.40	94.60	94.26	99.01	99.04	99.09	99.10	99.17	99.02	99.36	99.21	99.28	99.25	

Figure 6. Pairwise OrthoANI among *Limnospira* and *Arthrospira* strains.

The *Limnospira* OrthoANI analysis is consistent with the results of the phylogenomic analyses (Figure 5, Figure S2) and allows to distinguish between the two clades (Figure 6). Clade I include all strains designated as *L. maxima*, *L. fusiformis* and *L. indica*. Clade II includes only strains of the *A. platensis* lineage. The intra-clade OrthoANI values are greater than 98.7% with an average of 99.3% for clade I and 99.4% for clade II. The OrthoANI values between strains of different clades are ranging between 93.5% and 94.7% with an average of 93.9%. All values are below the ANI threshold of 95% (or 96%), which is generally accepted as the intra-species boundary for prokaryotes²⁴⁵. Accordingly, all taxa of clade I belong to the same bacterial species, while the taxa of clade II represent a closely related second species of the genus *Limnospira*.

3.6. Digital DNA-DNA Hybridization (dDDH)

The 231 pairwise genome comparisons using the digital DNA-DNA Hybridization (dDDH) among 22 *Limnospira* and *Arthrospira* strains are presented in Figure 7.

Strain	Clade I											Clade II										
	<i>L. maxima</i> CS-328	<i>L. fusiformis</i> SAG85.79	<i>L. indica</i> BM01	<i>L. fusiformis</i> KN01	<i>A. platensis</i> C1	<i>Arthrospira</i> sp. TJS091	<i>Arthrospira</i> sp. TJS092	<i>L. maxima</i> CAM_GP	<i>L. indica</i> PCC8005	<i>L. maxima</i> ETH_PS	<i>Arthrospira</i> sp. O9.13F	<i>A. platensis</i> PCC 7345	<i>A. platensis</i> NIES-46	<i>A. platensis</i> NCB002	<i>A. platensis</i> NIES-39	<i>A. platensis</i> paraca	<i>L. platensis</i> PAR_GP	<i>Arthrospira</i> sp. PCC 9108	<i>A. platensis</i> YZ	<i>A. platensis</i> FACHB-835	<i>A. platensis</i> FACHB-971	<i>A. platensis</i> FACHB-439
<i>L. maxima</i> CS-328		92.9	93.5	92.9	93.0	92.4	92.6	91.5	90.4	91.1	86.0	52.5	51.9	49.9	49.9	50.9	53.3	50.4	52.0	54.3	54.0	56.2
<i>L. fusiformis</i> SAG85.79	92.9		92.7	92.3	92.4	91.7	91.7	91.1	89.9	90.9	85.5	52.5	51.7	49.7	49.7	50.8	53.2	50.2	51.9	54.1	53.8	55.9
<i>L. indica</i> BM01	93.5	92.7		94.0	93.0	93.0	93.1	92.1	95.2	92.6	86.8	52.7	52.1	50.3	50.3	51.1	53.4	50.7	52.3	54.4	54.1	56.0
<i>L. fusiformis</i> KN01	92.9	92.3	94.0		92.3	93.0	92.6	93.8	91.3	92.7	87.3	52.4	51.9	50.9	50.9	51.8	53.2	51.3	52.8	54.2	53.9	55.4
<i>A. platensis</i> C1	93.0	92.4	93.0	92.3		92.1	92.5	90.7	90.0	90.7	85.4	52.3	51.6	49.7	49.8	50.6	53.0	50.3	51.8	54.0	53.8	55.7
<i>Arthrospira</i> sp. TJS091	92.4	91.7	93.0	93.0	92.1		96.9	92.0	90.2	91.2	86.1	52.6	52.0	50.2	50.3	51.3	53.3	50.6	52.3	54.2	53.9	55.7
<i>Arthrospira</i> sp. TJS092	92.6	91.7	93.1	92.6	92.5	96.9		90.8	90.2	90.8	85.5	52.6	51.9	49.8	49.9	50.9	53.2	50.2	51.9	54.2	53.8	56.0
<i>L. maxima</i> CAM_GP	91.5	91.1	92.1	93.8	90.7	92.0	90.8		90.3	92.9	87.6	53.0	52.5	51.1	51.1	51.9	53.9	51.5	53.0	54.9	54.6	55.9
<i>L. indica</i> PCC8005	90.4	89.9	95.2	91.3	90.0	90.2	90.2	90.3		95.4	87.8	52.4	51.9	49.9	50.0	50.8	53.3	50.3	51.9	54.0	53.8	55.7
<i>L. maxima</i> ETH_PS	91.1	90.9	92.6	92.7	90.7	91.2	90.8	92.9	95.4		89.3	53.6	53.0	51.6	51.7	52.4	54.4	52.0	53.5	55.4	55.1	56.6
<i>Arthrospira</i> sp. O9.13F	86.0	85.5	86.8	87.3	85.4	86.1	85.5	87.6	87.8	89.3		52.3	51.7	49.6	49.7	50.5	53.0	50.1	51.5	54.0	53.7	55.0
<i>A. platensis</i> PCC 7345	52.5	52.5	52.7	52.4	52.3	52.6	52.6	53.0	52.4	53.6	52.3		94.5	92.7	93.0	92.3	92.2	92.3	90.4	91.4	91.6	89.2
<i>A. platensis</i> NIES-46	51.9	51.7	52.1	51.9	51.6	52.0	51.9	52.5	51.9	53.0	51.7	94.5		95.1	95.2	92.8	91.6	92.5	90.6	92.8	92.6	90.3
<i>A. platensis</i> NCB002	49.9	49.7	50.3	50.9	49.7	50.2	49.8	51.1	49.9	51.6	49.6	92.7	95.1		99.4	96.4	89.5	94.0	91.4	89.8	89.0	87.9
<i>A. platensis</i> NIES-39	49.9	49.7	50.3	50.9	49.8	50.3	49.9	51.1	50.0	51.7	49.7	93.0	95.2	99.4		96.8	89.6	94.1	91.6	90.0	89.2	88.0
<i>A. platensis</i> paraca	50.9	50.8	51.1	51.8	50.6	51.3	50.9	51.9	50.8	52.4	50.5	92.3	92.8	96.4	96.8		94.0	96.1	93.4	92.0	91.2	89.7
<i>L. platensis</i> PAR_GP	53.3	53.2	53.4	53.2	53.0	53.3	53.2	53.9	53.3	54.4	53.0	92.2	91.6	89.5	89.6	94.0		91.9	90.3	92.1	92.4	89.8
<i>Arthrospira</i> sp. PCC 9108	50.4	50.2	50.7	51.3	50.3	50.6	50.2	51.5	50.3	52.0	50.1	92.3	92.5	94.0	94.1	96.1	91.9		95.7	93.5	92.5	91.2
<i>A. platensis</i> YZ	52.0	51.9	52.3	52.8	51.8	52.3	51.9	53.0	51.9	53.5	51.5	90.4	90.6	91.4	91.6	93.4	90.3	95.7		91.9	91.1	90.4
<i>A. platensis</i> FACHB-835	54.3	54.1	54.4	54.2	54.0	54.2	54.2	54.9	54.0	55.4	54.0	91.4	92.8	89.8	90.0	92.0	92.1	93.5	91.9		97.9	93.0
<i>A. platensis</i> FACHB-971	54.0	53.8	54.1	53.9	53.8	53.9	53.8	54.6	53.8	55.1	53.7	91.6	92.6	89.0	89.2	91.2	92.4	92.5	91.1	97.9		92.7
<i>A. platensis</i> FACHB-439	56.2	55.9	56.0	55.4	55.7	55.7	56.0	55.9	55.7	56.6	55.0	89.2	90.3	87.9	88.0	89.7	89.8	91.2	90.4	93.0	92.7	

Figure 7. Pairwise dDDH among *Limnospira* and *Arthrospira* strains.

In agreement with the phylogenomic trees (Figure 5, Figure S2) and the OrthoANI analysis (Figure 6), the dDDH analysis allowed to distinguish between clade I and II (Figure 7). The intra-clade dDDH values are ranging between 85.4% and 99.4%. The inter-clade dDDH values are much lower at 49.6% to 56.6%. They are clearly below the threshold of 70% for the delineation of two bacterial species^{214,246}, which confirms the conclusion of our OrthoANI analysis that clade I and clade II represent two different species of the genus *Limnospira*. In addition, the high dDDH values for all strains except O9.13F from clade I ($\geq 89.9\%$) reflect their very close relationship. *Arthrospira* O9.13F has the most divergent genome of clade I (dDDH: 85.4% - 89.3%), but nevertheless definitely belongs to the same species. This conclusion is independently supported by the placement of strain O9.13F in the phylogenomic tree (Figure 5). The contradictory position within a 16S-ITS tree in a recent study reflects the rather limited phylogenetic resolution of the 16S rRNA gene⁴⁵.

3.7. Toxinogenesis

Blastn searches with the microcystin gene clusters of *Microcystis aeruginosa* K-139, *Planktothrix agardhii* NIVA-CY 126/8 and *Anabaena* sp. 90 (Table 3) revealed no hits in the three *Limnospira* MAGs established in the current study and 19 reference genomes of *Limnospira* and *Arthrospira* (Table 2), which documents the absence of very closely related sequences. Analogous blastp and tblastn analyses with Myc proteins for microcystin biosynthesis (Table 4) did not result in the detection of any enzymes related to non-ribosomal peptide synthases or polyketide synthases. Accordingly, our homology searches revealed no indication for the presence of genes related to the biosynthesis of this cyanotoxin.

In order to confirm this conclusion, our three newly established MAGs and 19 reference genomes of the genus *Limnospira* (*Arthrospira*; Table 2) were analyzed with the antiSMASH 7.1.0 software. However, neither non-ribosomal peptide synthase (NRPS) nor polyketide synthase (PKS) clusters could be detected in any of the analyzed genomes. This result allowed us to conclude that none of the analyzed 22 strains of the genus *Limnospira* (*Arthrospira*) has the genetic capacity to produce microcystins or other cyanotoxins whose biosynthesis gene clusters are known.

4. Discussion

4.1. Taxonomy

There is a consensus on the existence of two distinct lineages in the genus *Limnospira* - using chronologically ITS region, *gvp* gene cluster, 16S rRNA gene, *cpcBA*-IGS, ANI, *d*DDH and 16S-ITS - ^{37,38,41,43-45}, which should be distinguished according to the criteria of prokaryotic taxonomy to solve the dilemma of the four species described under the ICN (*L. maxima*, *L. fusiformis*, *L. indica*, "*L. [A.] platensis*"). However, a recent publication, based on the analysis of the 16S rRNA gene, 16S-ITS sequences, ANI and morphological characteristics, concluded that the genus *Limnospira* is monospecific with two distinct clades ⁴⁵. The inter-clade ANI value reported in the above mentioned publication (93.4%) should lead to the conclusion that the genus *Limnospira* contains two species when using the ANI threshold of 95 or 96% for the differentiation between species ^{247,245}. Values generated by the original ANI and OrthoANI are comparable, and the cut-off for species delineation is 95-96% for both methods ²³⁸. The OrthoANI values for *Limnospira* genomes compared in this study clearly support the presence of two species based on inter-clade OrthoANI values ranging between 93.5% and 94.6% and an intra-clade OrthoANI above 98.7% for clade I and above 99.0% for clade II. These results are comparable to those obtained for other genera of cyanobacteria. Species delineation in the cyanobacterial genera *Raphidiopsis* and *Microcystis* could be assessed with species boundaries occurring at about 96% ANI at the genomic level ²⁴⁸. ANI analysis on three *Microcoleus* species revealed inter-species ANI values between 86% and 93% and intra-species ANI values of more than 98% ²⁴⁹.

DNA-DNA hybridization (DDH) has been used by taxonomists since the 1960s as the most important criterion for the delineation of prokaryotic species ²⁵⁰. However, the determination of wet-lab DDH values is laborious and depends on DNA isolated from purified bacterial isolates, which formerly excluded non-axenic cyanobacteria from this crucial tool in bacterial taxonomy.

With the aid of established algorithms, it is possible to calculate *in silico* digital DDH (dDDH) values that are very close to the wet-lab DDH values and have the same delineation threshold between species^{214,239}. A value below 70% DDH (or dDDH) is the generally accepted threshold for delineating species^{246,251} and a value of 79-80% has been proposed for subspecies delineation²⁵². Furthermore, progress in metagenome sequencing and binning paved the way to analyze the MAGs of non-axenic cyanobacteria with dDDH. The dDDH values, established in this study, are ranging between 85.4% and 95.2% for intra-clade comparisons and between 49.6% and 56.6% for inter-clade comparisons. These values clearly documented that the two clades of *Limnospira* correspond to two different species. Furthermore, the intra-species comparison within the same clade showed that none of the two species comprises further subspecies.

The separation of spirulina into two clades is confirmed by the different methods used in this study, which give consistent results on the affiliation of the different strains to one or the other clade. In particular, the sequences of the hypervariable regions V3 and V4 of the 16S rRNA gene allow an unequivocally identification of the genus *Limnospira* and are sufficient to distinguish its two species in agreement with genome-based methods (Figure 1).

The phylogenomic tree (Figure 5) documented that clade I includes the type species of the genus *Limnospira* Nowicka-Krawczyk et al. 2019, which is designated *L. fusiformis* (Woronichin 1934) Nowicka-Krawczyk et al. 2019 (reference strain: SAG 85.79) and *L. indica* (Desikachary and Jeeji Bai 1992) Nowicka-Krawczyk et al. 2019 (reference strain: PCC 8005)⁴². In addition, three diagnostic nucleotide positions in the V3-V4 region of the 16S rRNA gene showed that *L. maxima* (Setchell and Gardner 1917) Nowicka-Krawczyk et al. 2019 (reference strain: UTEX LB 2720) also belongs to clade 1 (Figure 1), and a comparison of the complete 16S rRNA genes revealed an identity of 100% with *L. fusiformis* SAG 85.79 and *L. indica* PCC 8005 (Roussel et al. 2023). Our OrthoANI comparison (Figure 6) and dDDH analysis (Figure 7) provided clear evidence that all strains of clade I belong to the same species. Accordingly, the current study showed that the species names *Limnospira fusiformis* (Woronichin 1934) Nowicka-Krawczyk et al. 2019 and *Limnospira indica* (Desikachary and Jeeji Bai 1992) Nowicka-Krawczyk et al. 2019 are heterotypic synonyms of the type species *Limnospira maxima* (Setchell and Gardner 1917) Nowicka-Krawczyk et al. 2019. Taxa of clade II includes the strain PCC 7345 of the species *Arthrospira platensis* Gomont 1892, which was recently proposed to be considered as the reference strain (Roussel et al. 2023), as well as other strains assigned to the same species (Figure 5, Table 2). This species was not transferred to the genus *Limnospira* given the benthic character in the description of *A. platensis* by Gomont in 1892⁴². A recent study showed that *A. platensis* can present benthic and planktonic forms and suggests that this species should therefore be placed in the genus *Limnospira*²⁵³. The 16S rRNA gene sequences published in the above study fall into our *Limnospira* clade II. Therefore, we propose the second species of the genus *Limnospira* to be named *L. platensis*. The type strain of this species is *Limnospira platensis* PCC 7345. A list of more than 130 spirulina strains and their correct species identification is provided in the supplementary material (Table S1).

Spirulina exhibits a diversity and morphological plasticity that does not allow a formal identification of one or the other species^{3,38,35,45}. Nevertheless, we observed that the shape of the trichomes of *L. platensis* strain paracas (PAR_GP) is distinguished by the regularity of the pitch and the diameter of the helix. This regularity of coiling is also visible in the images of *L. platensis* PCC 7345 available in the photo library of the Pasteur Institute collection

(phototheque.pasteur.fr), as well as in the images of other strains of *L. platensis*²⁵³. However, this distinguishing feature must be confirmed by further studies on strains of the two *Limnospira* species, whose identification will ideally be based on (meta-)genome sequencing.

4.2. Taxonomic considerations on the genus *Limnospira*

Biological material or DNA was neither available for the first described *Arthrospira maxima* species (Setchell and Gardner 1917) nor for the first described *Arthrospira platensis* species (Gomont 1892).

The original description of the genus *Limnospira*⁴² is given with the following amendments including data that describes the type specie (*L. maxima*) and his heterotypic synonyms (*L. fusiformis* and *L. indica*).

Class: Cyanophyceae

Order: Oscillatoriales

Family: Microcoleaceae

Type species: *Limnospira maxima* (Setchell and Gardner 1917) Nowicka-Krawczyk et al. 2019.

Morphology: Trichomes solitary, isopolar, cylindrical, unbranched, more or less tapering towards the ends, not or slightly constricted at cross-walls, blue green or dark green. Trichomes are usually spirally coiled and can present different shapes – screw-like coiled, tightly coiled, weakly spiraled - with a tendency to loosening the coils until straight shape. Spiral diameter and pitch are usually irregular. Cells are always shorter (2-7 µm) than wide (6-12(16) µm). Terminal cells rounded or subcapitate with thickened outer cell wall or calyptra.

Ultrastructure: Thylakoids have an irregular arrangement. Aerotopes are facultatively present.

Ecology: Planktic in freshwater, brackish and alkaline-saline waters. Usually photoautotrophic and able of mixotrophy^{254,255}.

Etymology: Límni- [Gr., λίμνη], lake, lagoon; -speíra [Gr., σπείρα] - spiral; the generic name refers to the morphology of trichomes and typical habitat, i.e. lakes.

***Limnospira maxima* (Setchell and Gardner 1917) Nowicka-Krawczyk et al. 2019.**

Basonym: *Arthrospira maxima* (Setchell and Gardner 1917).

Heterotypic synonym: *Limnospira fusiformis* (Woronichin 1934) Nowicka-Krawczyk et al. 2019; *Limnospira indica* (Desikachary and Jeeji Bai 1992) Nowicka-Krawczyk et al. 2019.

Type strain: PCC 8005. Deposited in Pasteur Cyanobacteria Collection (France, as “*Arthrospira* sp.”), in DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures (Germany) and in SCK CEN (Belgium).

***Limnospira platensis* (Gomont 1892) comb. nov.**

Basonyms: *Arthrospira platensis* (Gomont 1892), *Spirulina platensis* (Geitler 1925).

Type strain: PCC 7345. Deposited in Pasteur Cyanobacteria Collection (France, as “*Arthrospira* sp.”) and in The University of Texas Culture Collection of Algae (USA, = UTEX LB 1926 as “*Spirulina platensis*”).

The description of *Limnospira platensis* is identical to that of *Limnospira* genus except for the following modifications.

Morphology: Regular helical shape with constant diameter and pitch, the latter greater than the diameter. The shape is stable without tendency to loosening the coils.

Ecology: Planktic, and rarely benthic.

4.3. *Limnospira* toxinogenesis

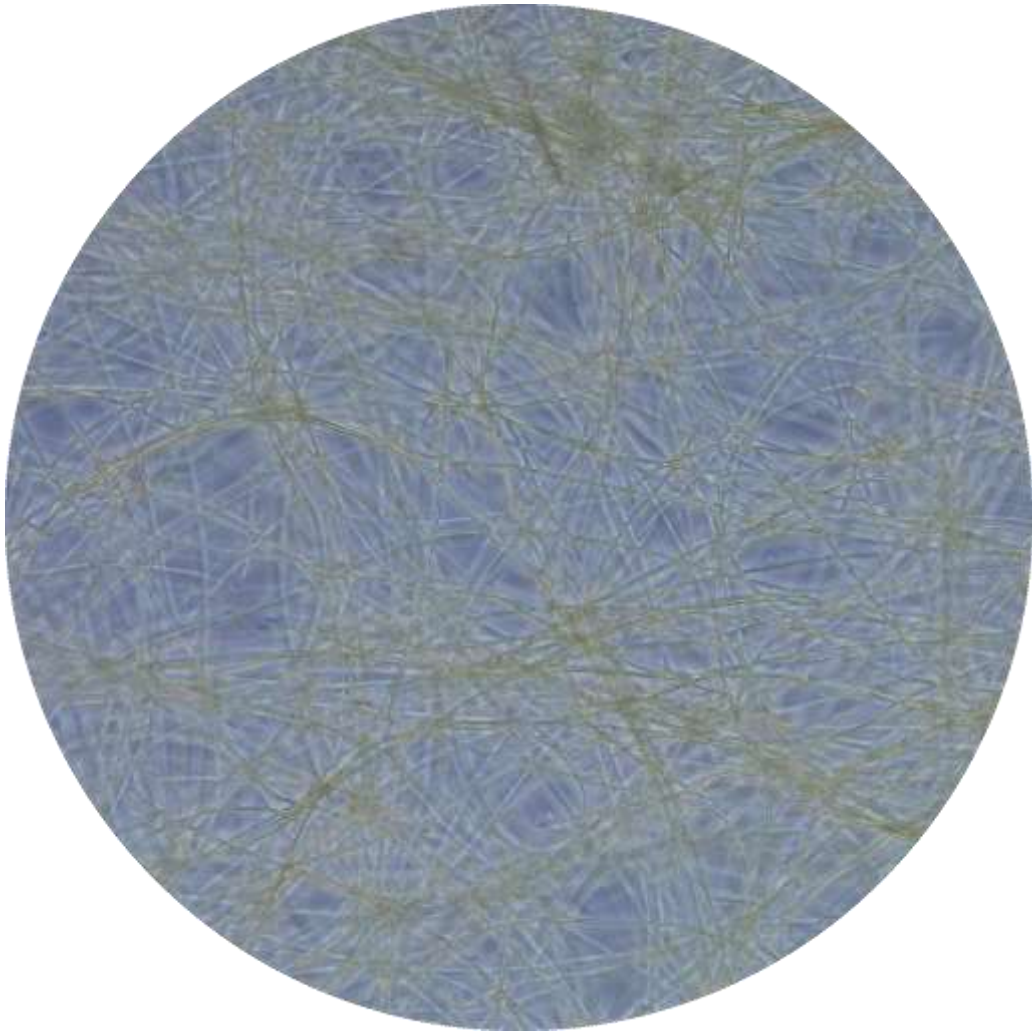
Examination of the three *Limnospira* sp. MAGs from this study and 19 reference genomes showed that the genus *Limnospira* do not contain any genes that are involved in the biosynthesis of microcystin. The results of Ballot et al. who reported about microcystins in Kenyan strains of *L. fusiformis* have never been reproduced by other studies focusing on the detection of toxins in *Limnospira* cultures^{1,2,154,178}. The hypothesis that the '*Arthrospira fusiformis*' cultures examined by Ballot et al. were contaminated by toxin-producing cyanobacteria of other genera cannot be ruled out. The protocol for isolating *A. fusiformis* has not been described, the isolates were not deposited in a public culture collection, and Lakes Sonachi and Bogoria, from which the studied '*A. fusiformis*' isolates originated, contain the microcystin-producing picocyanobacteria *Syncechococcus* sp. and *Synechocystis* sp.^{1,2}. Moreover, ten genes (*mcyA* to *mcyJ*), which are located in a 55 kb gene cluster in the genome of *Microcystis aeruginosa* PCC 7806SL and *Anabaena* sp. 90, are required for the biosynthesis of microcystin. None of these genes or corresponding proteins could be found in the 22 genomes studied, including four strains previously identified as *L. (A.) fusiformis* (SAG 85.79, KN01, CAM_GP, ETH_PS). Therefore, the assumption that certain strains of *Limnospira* can produce microcystins does not appear to be a credible hypothesis. Consequently, we propose that *Limnospira* sp., in particular *L. maxima* (previously *L. fusiformis*), should no longer be included in the lists of toxic cyanobacteria.

5. Limitations of the study

The Kenyan strains of '*Arthrospira fusiformis*' studied by Ballot et al. in 2005 are no longer available. We would have liked to include them in our study to check their supposed toxicity.

The observation of a morphological difference between the two *Limnospira* species was carried out with a single strain of *Limnospira platensis*. Although this observation is confirmed by images available on the web and in a publication²⁵³, it is necessary to complete the observations on a larger number of strains.

Chapitre III



Chapitre III : *Sodalinema* is a dominant non-toxic cyanobacterial contaminant of commercial spirulina (*Limnospira* spp.) cultures

Pierre-Etienne Pinchart^{1,2}, Pia Marter^{3,4}, Yann Quilichini¹, Mohamed Mysara^{5,6}, Jörn Petersen³, Vanina Pasqualini¹, Felice Mastroleo^{5,*}

- 1 UMR CNRS SPE, UAR CNRS Stella Mare, Université de Corse, 20250 Corte, France
- 2 Fédération des Spiruliniers de France (FSF), 34800 Clermont-l'Hérault, France
- 3 Leibniz Institute DSMZ – German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, Braunschweig, Germany
- 4 Julius Kühn Institute (JKI) – Federal Research Centre for Cultivated Plants, Quedlinburg, Germany
- 5 Microbiology Unit, Nuclear Medical Applications, Belgian Nuclear Research Centre, SCK CEN, 2400 Mol, Belgium
- 6 Bioinformatics Group, Center for Informatics Science, Nile University, Giza 12677, Egypt

Réécrit sur base de l'article :

Pinchart, P.-E., Marter, P., Quilichini, Y., Mysara, M., Petersen, J., Pasqualini, V., and Mastroleo, F. (in preparation). *Sodalinema* is a dominant non-toxic cyanobacterial contaminant of commercial spirulina (*Limnospira* spp.) cultures.

Contexte général et résumé

La spiruline est le nom commun et commercial de cyanobactéries comestibles assignées au genre *Limnospira* qui comprend les espèces *L. maxima* et *L. platensis*. Elle est cultivée dans des fermes aquacoles pour des usages alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques. En France, on dénombre 180 producteurs dont 120 sont réunis dans la Fédération des Spiruliniers de France (FSF). La spiruline possède une valeur nutritionnelle exceptionnelle qui a conduit l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) à la considérer comme un aliment d'intérêt majeur. Cependant, de nombreuses cyanobactéries sont connues pour produire diverses cyanotoxines et les compléments alimentaires dits à base d'algues bleu-vert (BGAS) – spiruline, klamath et chlorelle – sont depuis longtemps suspectés de contenir de telles toxines. Des microcystines (MCs), heptapeptides cycliques hépatotoxiques, ont été détectées pour la première fois en 1998 dans des compléments alimentaires à base de spiruline commercialisés aux Etats-Unis. Depuis, des recherches de MCs et autres cyanotoxines dans des BGAS ont montré des résultats variables allant de la non détection à des teneurs alarmantes.

Récemment notre analyse génomique de 22 souches de spiruline a démontré que les deux espèces, *L. maxima* et *L. platensis*, n'ont pas la capacité de produire des cyanotoxines. Des cyanobactéries toxiques, notamment *Microcystis aeruginosa*, peuvent contaminer les lacs où la spiruline se développe naturellement. Les cultures de spiruline peuvent aussi être contaminées par des cyanobactéries. Une analyse métagénomique (région V4-V6 du gène 16S rRNA) de 31 échantillons de spiruline d'origine diverses a permis d'identifier 15 taxons de cyanobactéries dont les genres *Microcystis*, *Nostoc* et *Anabaenopsis* connus pour leur potentielle toxicité. Des énumérations de cyanobactéries, basées sur la morpho-taxonomie, dans des échantillons de cultures et produits spiruline provenant de 95 fermes françaises ont permis d'identifier, 14 taxons dont les genres *Phormidium*, *Leptolyngbya*, *Cyanobium*, *Jaaginema* et *Planktolyngbya* associés à la production de cyanotoxines. La taxonomie et la nomenclature des cyanobactéries sont en pleine évolution avec l'essor des méthodes génétiques. Ces développements peuvent créer des confusions dans la désignation de taxons associés aux cyanotoxines. Par ailleurs, des études concluant à la toxicité de certaines cyanobactéries ont pu souffrir de biais. C'était le cas pour *Limnospira maxima* (syn. *L. fusiformis*) qui a été associée à tort à la production de MCs.

Au vu de ces développements, il apparaissait dès lors nécessaire de caractériser la cyanosphère des cultures commerciales de spiruline afin de mieux identifier les taxons des contaminants et leur toxicité potentielle.

Six échantillons de cultures de spiruline (CS1 à CS6), provenant de fermes adhérentes à la FSF, complétés par un prélèvement issu de l'étang Monro (Camargue, ES1), où se développe la souche de spiruline camarguaise, ont été étudiés. L'analyse métagénomique basée sur la région V3-V4 du gène 16S rRNA a révélé huit unités taxonomiques opérationnelles (OTUs) de cyanobactéries réparties dans les ordres Oscillatoriales, Nodosilineales, Nostocales et Synechococcales. L'OTU1 correspondante aux *Limnospira* est sans surprise présente dans tous les échantillons. Deux échantillons (CS1 et CS4) ne sont pas contaminés par d'autres cyanobactéries. L'OTU6 qui correspond au genre *Sodalinema* est présente dans les quatre autres échantillons de culture et dans l'échantillon environnemental ES1. Ce dernier contient la plus grande diversité de cyanobactéries avec six OTUs. L'échantillon CS5 est également

contaminé par une Nodosilineales, *Haloleptolyngbya alcalis*, connue pour coexister avec des *Limnospira* en milieu naturel et dont l'incapacité à produire des MCs, nodularines, anatoxine-a et saxitoxine a été démontrée.

362 OTUs de bactéries hétérotrophes ont également été obtenues. La diversité spécifique des échantillons et leur hétérogénéité sont élevées. La moitié des OTUs sont présentes dans un seul échantillon et seules quatre OTUs sont présentes dans tous les échantillons. Au niveau des 18 phyla observés, 9 sont présents dans tous les échantillons. Enfin, seulement 35% des OTUs peuvent être assignées à un genre et 15% à une espèce, ce qui révèle que les échantillons contiennent un grand nombre de bactéries encore inconnues. Parmi les genres et espèces identifiés, on trouve des taxons alcalophiles, des bactéries pourpres phototrophes et des bactéries dénitrifiantes pouvant engendrer des pertes d'azote dans les cultures. Aucun taxon pathogène n'a été identifié.

Une séquence du gène 16S rRNA de 1169bp de la cyanobactérie correspondant à l'OTU6 a été obtenue à partir de l'échantillon de culture CS3. Une analyse phylogénétique place cette séquence dans un clade *Sodalinema* à proximité des quatre souches types de ce genre. Ce clade intègre également des souches assignées au genre *Phormidium*. D'autres souches de *Phormidium* se situent dans des clades séparés montrant le caractère polyphylétique de ce genre. Le génome de la cyanobactérie *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 a été obtenu à partir d'un protocole de métagénomique. L'analyse phylogénomique de ce génome ayant conclu à une identité d'espèce avec la souche *Phormidium yuhuli* AB48, nous avons réalisé des comparaisons génomiques entre plusieurs souches assignées aux genre *Phormidium* et *Sodalinema* pour éclaircir cette confusion taxonomique. Nos résultats confirment que le contaminant OTU6-CS3 est une *Sodalinema* et permettent d'assigner à ce genre trois espèces de « *Phormidium* ». Les observations morphologiques réalisées sur *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 et la similarité de sa séquence 16S rRNA avec celle de l'espèce type *S. komarekii*, plaident pour assigner ce contaminant à cette dernière espèce. Cette assignation devra toutefois être confirmée par une comparaison génomique. Un protocole de culture de *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 et *Limnospira maxima* ETH_PS, mis en compétition dans cinq milieux de cultures différents par leur composition azotée, a montré qu'il est possible de limiter la prolifération de contaminants dans des conditions de faible concentration en ammonium et absence de nitrates. Ce protocole a également montré que cette cyanobactérie est capable de se développer dans un milieu sans azote. L'analyse génomique de *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 montre que cette cyanobactérie ne possède pas de gènes impliqués dans la biosynthèse de cyanotoxines. Cette analyse révèle la présence d'un opéron *nif* complet qui confirme que cette cyanobactérie est capable de diazotrophie.

Globalement, nos travaux n'ont pas révélé la présence de cyanobactéries toxiques dans les différents échantillons de culture étudiés.

Mots-clés : *Limnospira*, *Sodalinema*, cyanotoxines, cyanosphère

1. Introduction

Spirulina is the traditional and also the commercial name of edible filamentous cyanobacteria, which have first been assigned to the genera *Spirulina* and *Arthrospira*¹⁶⁰, and more recently to the genus *Limnospira*^{42,256}. Spirulina is naturally present in alkaline freshwater, rich in carbonates, bicarbonates, nitrates, phosphates and iron. It naturally grows mainly in the intertropical regions with a wide geographical distribution (Africa, Asia, America) and also in Southern Europe^{33,35,38}. Spirulina has long been used as human food, notably by the Kanembou in Africa (Lake Chad) and the Aztecs in Middle America (Lake Texcoco)⁴. Its exceptional nutritional value has led the United Nations Food and Agriculture Organization (FAO) to consider spirulina a food of major interest against malnutrition for the food security and the response to emergency food situations⁵. Spirulina also has strong potential for public health, especially in the fields of cardiovascular diseases, viral infections, cancer prevention and therapy, immune response, as well as diabetes and cholesterol control^{161,162}.

On the other hand, several cyanobacteria are known to produce cyanotoxins, and blue-green algae dietary supplements (BGAS) have long been suspected of containing such toxins¹⁶³. In 1996, microcystins (MCs) were detected for the first time in food supplements based on *Aphanizomenon flos-aquae*, a cyanobacterium collected in Klamath Lake (Oregon, USA) where *Microcystis aeruginosa*, a cyanobacteria known for its ability to produce MCs, coexists. In 1998, the presence of MCs in spirulina-based food supplements was demonstrated⁷⁴. Since then, the detection of MCs and others cyanotoxins, in spirulina and other BGAS samples from different markets (e.g. Australia, Belgium, Canada, China, France, Germany, Greece, India, Italy, Portugal, Serbia, Spain, Switzerland, Taiwan, USA) have shown highly variable results, ranging from non-detection to alarming values⁸⁸. Recently, the genome analysis of 22 spirulina strains showed that the two spirulina species *Limnospira maxima* (syn. *L. fusiformis*, *L. indica*) and *L. platensis* are unable to produce currently known cyanotoxins²⁵⁶. However, *M. aeruginosa* and other toxic cyanobacteria can contaminate lakes where spirulina naturally grows²⁵⁷. Most notably, Lake Chad²⁵⁸, where spirulina is harvested and consumed in the form of “Dihé”, can contain significant quantities of cyanotoxins²⁵⁹. Spirulina cultures can also be contaminated by other cyanobacteria, which may explain the presence of cyanotoxins in the products. 16S rRNA gene amplicon sequencing (V4-V6 region) of 31 samples of spirulina-based products from different origins allowed the identification of 15 taxa of contaminating cyanobacteria, including the genera *Microcystis*, *Nostoc* and *Anabaenopsis*, which are known to be potentially toxic¹⁷⁷. Another analysis based on amplicons of the *mcyE* gene allowed the identification of different taxa of the genus *Microcystis* in five samples of so-called Klamath (*Aphanizomenon flos-aquae*) containing MCs⁸⁶. Finally, the assessment of additional cyanobacteria in spirulina cultures and dry product samples from 95 small-scale spirulina productions in France, which was based on morpho-taxonomic criteria, allowed the identification of 14 taxa including the genera *Phormidium*, *Leptolyngbya*, *Cyanobium*, *Jaaginema* and *Planktolyngbya*, but not *Microcystis*²⁰⁹.

The taxonomy and nomenclature of cyanobacteria, particularly of taxa mentioned as possible contaminants of spirulina cultures, has changed significantly since the usage of phylogenetic, and more recently, phylogenomic methods. Thus, formerly misclassified strains of the genera *Phormidium* and *Geitlerinema* and other *Oscillatoriales*, which were located in different clades of the phylogenetic tree, have been reclassified and described as references for several new

genera: *Kamtonema*, *Anagnostidinema*, *Sodalinema*, *Baaleninema*, *Sodaleptolyngbya* and *Haloleptolyngbya*^{260–263}. Within the *Leptolyngbyales*, the genera *Leptolyngbya* and *Planktolyngbya* were found to be polyphyletic and were separated into new genera such as *Nodosilinea*, *Pantanalinema*, *Alkalinema* and *Limnolyngbya*^{264–266}. Strains of these genera originate from habitats that are similar to the environment of spirulina cultures in terms of salinity, alkalinity and carbonate.

The taxonomic reclassification could lead to confusion in the designation of taxa previously identified as toxin producers. Accordingly, studies suggesting the toxicity of certain cyanobacteria may be bias. This was the case with *Limnospira maxima* (syn. *L. fusiformis*), which was erroneously associated with the production of microcystins²⁵⁶. It therefore appears necessary to characterize the cyanobacterial content of commercial spirulina cultures in the light of these recent developments. This will allow a better identification of the hazards associated with these contaminants and help to find solutions to control their development and protect public health.

To address these questions, 16S rRNA amplicon sequencing and metagenomic analyses were carried out on six spirulina samples from commercial small-scale farms as well as one environmental sample, all located in France. In addition, *Sodalinema* sp., which has been identified as a common major contaminant of these cultures, was isolated and characterized at the phenotypical and taxonomical level.

2. Materials and methods

2.1. Samples and spirulina cultivation

The samples examined in this study come from i) a surface sample of Lake Monro (Camargue, France; ES1), which contains an ecotype of spirulina³, ii) a sample from a spirulina strain private collection (CS1) and iii) samples from five greenhouse cultivation ponds of spirulina producers which are members of the “Fédération des Spiruliniers de France (FSF)” (CS2-CS6; Table 1).

DNA extractions for amplicon sequencing were carried out on the samples received from the producers. Optical and electron microscopy observations and metagenomics were carried out on samples sub-cultivated in the laboratory. Spirulina samples were cultivated in cell culture flask with vented cap (Greiner Bio-One, Belgium), in modified Zarrouk medium (Cogne et al., 2003) at room temperature and day/night regime illumination (16h/8h). Flasks were continuously mixed using an orbital shaker at 120 rpm (Edmund Bühler, Germany).

Table 1. Sample used in this study. ES, environmental sample; CS, culture sample.

Sample ID	Spirulina strain ID	Description	Environnement	Provider
ES1	CAM_GP	Water sample	Brackish water lake, Camargue, France	spirulinasolutions.fr
CS1	PAR_GP	Spirulina culture	Zarrouk medium	spirulinasolutions.fr
CS2	ETH_VR	Spirulina culture	Greenhouse pond with alkaline and salty culture medium.	spirulinedugarlaban.com
CS3	IND_PP	Spirulina culture		laspiraleverte.com
CS4	ETH_PS	Spirulina culture		spirulinepourquoipas.com
CS5	PAR_RB	Spirulina culture		algosud.com
CS6	SEN_CD	Spirulina culture		spirulinedeslandes.com

2.2. Microscopy

Optical light microscopy (LM) observations were carried out on living samples using a Zeiss Axiolab microscope, an Axiocam 305 camera and Zeiss Zen 3.6 software.

For transmission electronic microscopy (TEM), the specimens were fixed in cold (4 °C) and saline (10 g NaCl per liter) solution of 2.5% glutaraldehyde in 0.1 M sodium cacodylate buffer at pH 7.2. Specimens' pellets obtained after centrifugation, were post-fixed in 2% osmium tetroxide in 0.1 M cacodylate buffer (pH 7.2) for 1 h at room temperature. The post-fixed specimens were processed in graded ethyl alcohol, propylene oxide, Spurr resin and polymerized for 24 h at 60 °C. Ultrathin sections (60-90 nm) were cut on an ultramicrotome (Power Tome PC, RMC; Boeckeler), placed on 300 and 200 mesh copper grids and stained with uranyl acetate followed by lead citrate. The samples were examined under a transmission electron microscope (Hitachi H-7650) at an accelerating voltage of 80 kV.

2.3. DNA isolation

DNA of the ecotype and culture samples were isolated using a protocol adapted for filamentous cyanobacteria of the genus *Limnospira* (*Arthrospira*)²¹⁶. Cells were collected by centrifugation of 5 ml of cultures (10 min, 3500 rpm). Cells were resuspended into 0.5 ml of 0.15 M NaCl and 0.1 M EDTA, and poured into 2 ml cryogenic vials. Three freeze thawing cycles, alternating freezing in liquid nitrogen and thawing at 37 °C in a water bath, were used to damage the cell walls and render the cells more susceptible to further enzymatic lysis. The cells were collected by centrifugation (10 min, 8000 rpm), resuspended in 0.5 ml TE Buffer (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8.0) and transferred to fresh 2 ml tubes for enzymatic cell wall lysis with 100 µl of 50 mg/ml lysozyme for 30 min at 37 °C. Proteins were degraded with 5 µl of 50 mg/ml proteinase K in 2% SDS final concentration, for 1 h at 37 °C. Polysaccharides, proteins and cell wall debris were thereafter removed by selective precipitation with CTAB in presence of NaCl: 150 µl of 5 M NaCl was added to the tubes, followed by 0.1 volume of a 10% CTAB stock solution. The samples were incubated at 65 °C for 10 min to optimize the formation of

CTAB–protein and –polysaccharides complexes. Nucleic acids purification was achieved by extraction in 1 volume of chloroform:isoamyl alcohol. The tubes were placed on ice for 30 min to allow precipitation of CTAB complexes, before being centrifuged (10 min, 8000 rpm). The supernatant was transferred to a fresh tube, gently mixed with 0.6 volume of isopropanol until DNA precipitated. The DNA pellets were recovered by centrifugation, (10 min, 4 °C, 15,000 rpm) and washed with 1 ml of ice-cold 70% ethanol to remove any residual salt. After a final centrifugation (5 min, 4 °C, 15,000 rpm), the supernatant was discarded, and the pellets were dried before being resuspended in 100 µl TE Buffer (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8.0). The samples were treated with 1 µl of RNase (10 mg/ml) for 1 h at 37 °C.

2.4. 16S rRNA gene amplicon sequencing analysis

High-throughput paired-end amplicon sequencing of the V3-V4 hypervariable region was conducted on BaseClear's Illumina MiSeq (V3 chemistry) platform according to the manufacturer's guidelines. 16S rRNA gene sequencing data were processed using OCToPUS pipeline v.1.0²¹⁷, and analyzed as previously described²¹⁸, generating the operational taxonomic units (OTUs). The OTUs were classified using Ribosomal Database Project (RDP v.18) dataset²¹⁹ and their purity was assessed using the oligotyping approach²²⁰ and classified using the Blastn algorithm choosing the rRNA/ITS database. OTUs with fewer than three occurrences, all samples combined, were discarded. The sequence alignments and their examination were carried out with MEGA 11²²¹. Phylogenetic analyses were conducted in MEGA11 using the Neighbor-Joining method²⁶⁷. The Taxonomic thresholds of bacteria and archaea based on 16S rRNA gene sequences²⁶⁸, was used to assign the OTUs to different taxonomic rank.

2.5. 16S rRNA gene sequence analysis

16S rRNA gene PCR amplification was performed (8R-1492R targeted rDNA primers). PCR products were purified (Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System, Promega) and prepared to manufacturer's protocols for sequencing (Eurofins, Germany).

2.6. Metagenome sequencing and binning

High-throughput short-read metagenome sequencing was conducted as previously described²²². The NEBNext Ultra II FS DNA Library Prep Kit (New England Biolabs) was used for the construction of the Illumina libraries. Sequencing was performed on the Illumina NovaSeq 6000 system using the v3 chemistry with 600 cycles. The fastq-mcf tool of ea-utils v1.04.803 was used for quality control and adapter clipping. We used our previously established metagenome assembly and binning pipeline for the analysis of short-read Illumina sequences²²². In short, processed sequence data were assembled with MEGAHIT²²³, metagenomic binning was conducted with three methods (MaxBin 2.0²²⁴, MetaBAT²²⁵, Concoct²²⁶ and subsequently analyzed with DAS Tool²²⁷ to retrieve the most reliable MAGs. The quality of the MAGs was investigated with CheckM²²⁸ and coverage values were calculated per bmap. Finally, genomes were annotated by DFAST²²⁹, InterProScan²³⁰ and SignalP²³¹.

2.7. Genome comparison

Average Nucleotide Identity (ANI) was calculated using the OrthoANI algorithm with OAT (Orthologous Average Nucleotide Identity Tool) version 0.93.1. OrthoANI is highly correlated with ANI and show approximately 0.1 % higher values than the original ANI ²³⁸.

Digital DNA-DNA Hybridization (dDDH) was calculated on the type strain genome server (<https://tygs.dsmz.de>) using the Genome-to-Genome Distance Calculator (GGDC 3.0, formula 2) ^{214,239}.

Genome accession numbers of the cyanobacteria analyzed in this study are listed in Table S1.

2.8. Genomic analysis

We used the software 'antibiotics and secondary metabolite analysis shell - antiSMASH 7.1.0' ²⁴² to detect the ability of genomes to produce secondary metabolites, including cyanotoxins. In particular, we searched regions encoding non-ribosomal peptide synthetase (NRPS) and polyketide synthetase (PKS) which are involved in the production of several cyanotoxins: microcystins, nodularin, saxitoxin, anatoxin-a, dihydroanatoxin and cylindrospermopsin ^{53,240}. The detection strictness was fixed to "relaxed", to detect also partial clusters missing functional parts. The regions (genome sequences) detected with antiSMASH were searched in the NCBI "Non-redundant protein sequences (nr)" database using Blastp algorithm ²⁴¹ to identify the corresponding proteins.

2.9. Nitrogen source competition assay

Six culture media with different nitrogen sources and concentrations (Table 2) were prepared with the following products: NaOH, NaHCO₃, NaCl, H₃PO₄, NH₄Cl, NaNO₃, K₂SO₄, MgSO₄·7H₂O, CaCl₂·2H₂O, Fe (13%) EDTA and trace element solution 1ml/L.

To compare the growth of *Limnospira maxima* in the presence of *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 under non-axenic culture condition, the following procedure was used: *Limnospira maxima* ETH_PS were harvested from a non-axenic culture by filtration (50µm) and then rinsed with demineralized water supplemented with 10 g/L NaCl and 10 g/L NaHCO₃. The *Limnospira* biomass obtained was inoculated into a culture medium initially prepared without nitrogen. The same harvesting procedure was carried out to obtain a *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 biomass. The latter was added to the culture medium already containing *Limnospira*. After homogenization by vigorous shaking, the culture medium was separated into five portions supplemented with nitrogen (NH₄Cl or NaNO₃) to obtain culture media A1, A2, N1, N2 and N3. Each culture medium was then aliquoted into three biological replicates. Expressed in number of trichomes, the initial populations of *Sodalinema* represented 2.5% of the populations of *Limnospira*. The cultures were then conducted as follows: Triplicate culture media (A1, A2, A3, N1, N2), culture in 1.5L flasks, continuous stirring by bubbling, artificial lighting 16 hours a day with horticultural LED lamps (400µmol/m²/s), average temperature of 25°C. The concentrations of NH₄⁺ and NO₃⁻ were checked daily with test strips (HACH products number 2755325 and 2745425). Nitrogen concentrations were adjusted once a day by adding NH₄Cl in A1, A2 and A3 media and NaNO₃ in N1 and N2 media in order to maintain initial concentrations.

Table 2. Composition (mmol/L) of the different culture media for the nitrogen source competition assay.

Medium	Na ⁺	Cl ⁻	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	K ⁺	SO ₄ ²⁻	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Fe
A1	183	69	0.37	0	0.87	2.3	2	0.81	0.27	0.05
A2	183	70	1.12	0	0.87	2.3	2	0.81	0.27	0.05
A3	183	71	1.87	0	0.87	2.3	2	0.81	0.27	0.05
N1	184	69	0	1.18	0.87	2.3	2	0.81	0.27	0.05
N2	195	69	0	11.77	0.87	2.3	2	0.81	0.27	0.05

The diazotrophic capacity of *Sodalinema* OTU6-CS3 was also assessed by stopping ammonium inputs in the A1 medium from day 19. This medium thus became a nitrogen-free (ZN) medium. Artificial lighting was set at 12 hours per day to increase the possibility of diazotrophy in this non-heterocystous cyanobacterium.

The trichomes of *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 were enumerated using a Sedgewick-Rafter chamber in which 10 cells of 15µl (3x5 cells of 1µl) were counted for each replicate^{269,270}. The trichomes of *Limnospira maxima* were also counted using a Sedgewick-Rafter chamber in which 10 cells of 1µl were counted.

3. Results

3.1. 16S rRNA gene amplicon sequencing

16S rRNA gene amplicon sequencing of the V3-V4 region (400 to 405 bp) from seven spirulina samples (Table 1), allowed the identification of eight Operational Taxonomic Units (OTUs) corresponding to *Cyanobacteriota* (Table S5). One OTU (OTU355) is assigned to the class *Vampirovibrionophyceae*; the other OTUs represent genuine *Cyanophyceae*. The phylogenetic analysis of these sequences distinguishes four clades corresponding to the taxonomic orders *Oscillatoriales*, *Nodosilineales*, *Nostocales* and *Synechococcales* (Figure 1).

OTU1 corresponded to the genus *Limnospira* (*Arthrospira*, *Oscillatoriales*), which was present in all samples as expected. Two cultivar samples, CS1 and CS4, contained only the cyanobacterial OTU1 and appeared to be free of other cyanobacteria. The lake water sample (ES1) contained the greatest diversity of cyanobacteria with six OTUs distributed across four taxonomic orders. Four cultivar samples contained OTU6, another cyanobacterium of the order *Oscillatoriales*, which appears to be the most common cyanobacterial contaminant of spirulina cultures. The cultivar sample CS5 is furthermore contaminated with two others cyanobacteria from the orders *Nodosilineales* (OTU65) and *Vampirovibrionales* (OTU355).

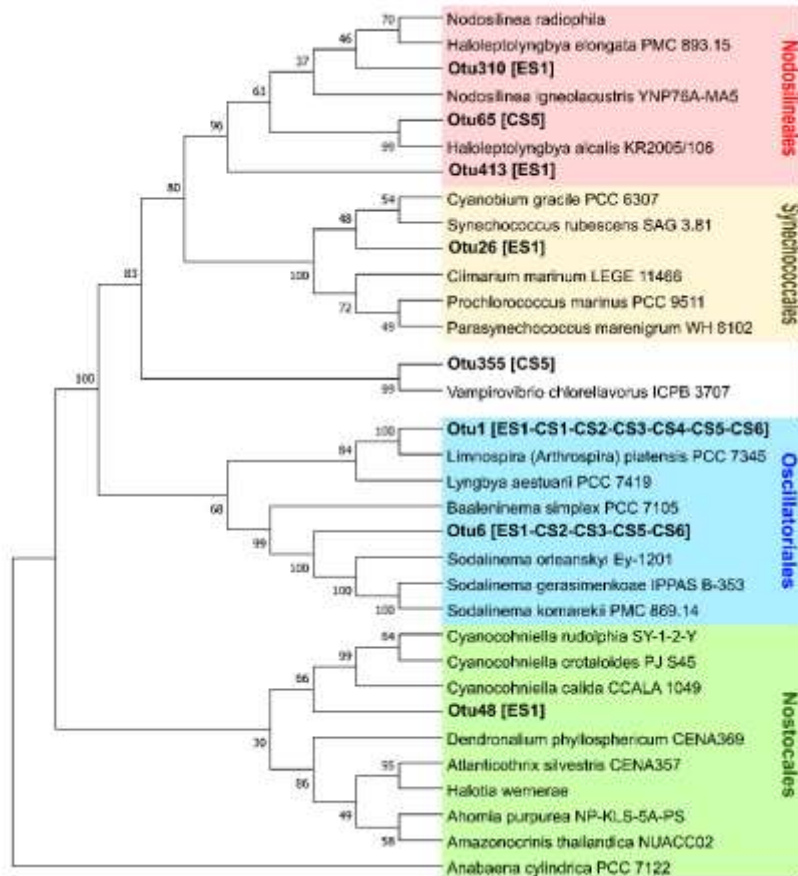


Figure 1. Neighbor-Joining phylogenetic tree based on the V3-V4 region of the 16S rRNA gene (405 bp) showing the positioning of the cyanobacterial OTUs among a set of 25 closely related type strains serving as a reference (accession numbers in table S4). OTUs are shown in bold followed by the occurrence in the seven samples (ES1, CS1-CS6) in square brackets. Colored rectangles show clades representing different taxonomic orders of *Cyanophyceae*. The numbers at the branches indicate statistical significance of the branching order as determined by bootstrap analysis of 1000 alternative trees.

The search for similar 16S rRNA gene sequences of type material in the NCBI database using the Blastn algorithm revealed an unambiguous affiliation to the genus *Limnospira* for OTU1 (identity 99.26%) and to the genus *Sodalinema* for OTU6 (identity 100%) in the order *Oscillatoriales*. Similarly, in the order *Nodosilineales*, OTU65 corresponded to the genus *Haloleptolyngbya* (identity 99.26%), while OTU310 and OTU413 showed much lower identities with the closest relatives of only 97.77% and 97.51%, respectively. OTU26 and OTU48 could only be reliably classified on family level as *Synechococcaceae* (97.52%), and *Nodulariaceae* (96.54%), respectively, while OTU355 (sample CS5) showed an identity of 90.75% with the predatory bacterium *Vampirovibrio chlorellavorus* (*Vampirovibrionophyceae*, *Cyanobacteriota*).

362 additional OTUs were classified as heterotrophic bacteria (Tables S2, S5). The percentages of identity between the sequences of these OTUs and 16S rRNA gene reference sequences of type strains (Genbank) allowed to assign all of them to a phylum, 97% to a class, 92% to an order, 82% to a family, 35% to a genus and only 15% to a species (Figure 2A).

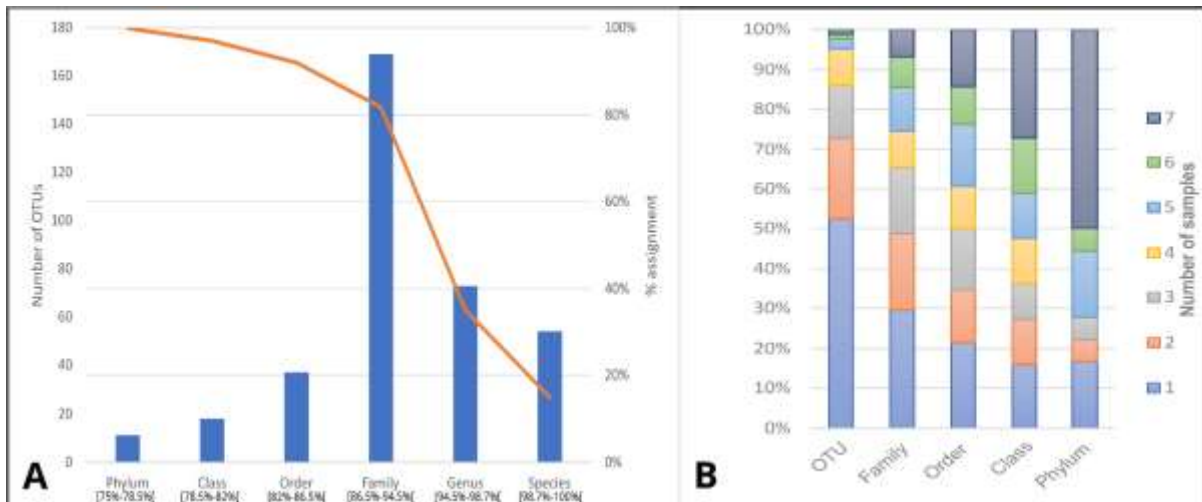


Figure 2. (A) Classification of OTUs according to 16S rRNA gene reference sequences from type strains. The histogram shows the distribution of the number of OTUs by identity range corresponding to the different taxonomic levels. The curve shows the decreasing cumulative percentage of OTUs classified on more specific taxonomic levels. (B) Proportion of unique (1x) and shared (2x - 7x) OTUs, families, orders, classes and phyla from seven spirulina samples.

More than half of the OTUs are present in only one sample, but only four OTUs (~1%) were discovered in all seven samples (Figure 2B). The specific diversity of the samples, expressed by the Shannon index, is high and relatively homogeneous except for the sample from a strain collection (CS1), which has a lower specific diversity (Figure 3). At the level of different taxonomic ranks, we observed a significant heterogeneity between the samples. Only half of the 18 identified phyla are observed in all samples (Figures 2B, 3).

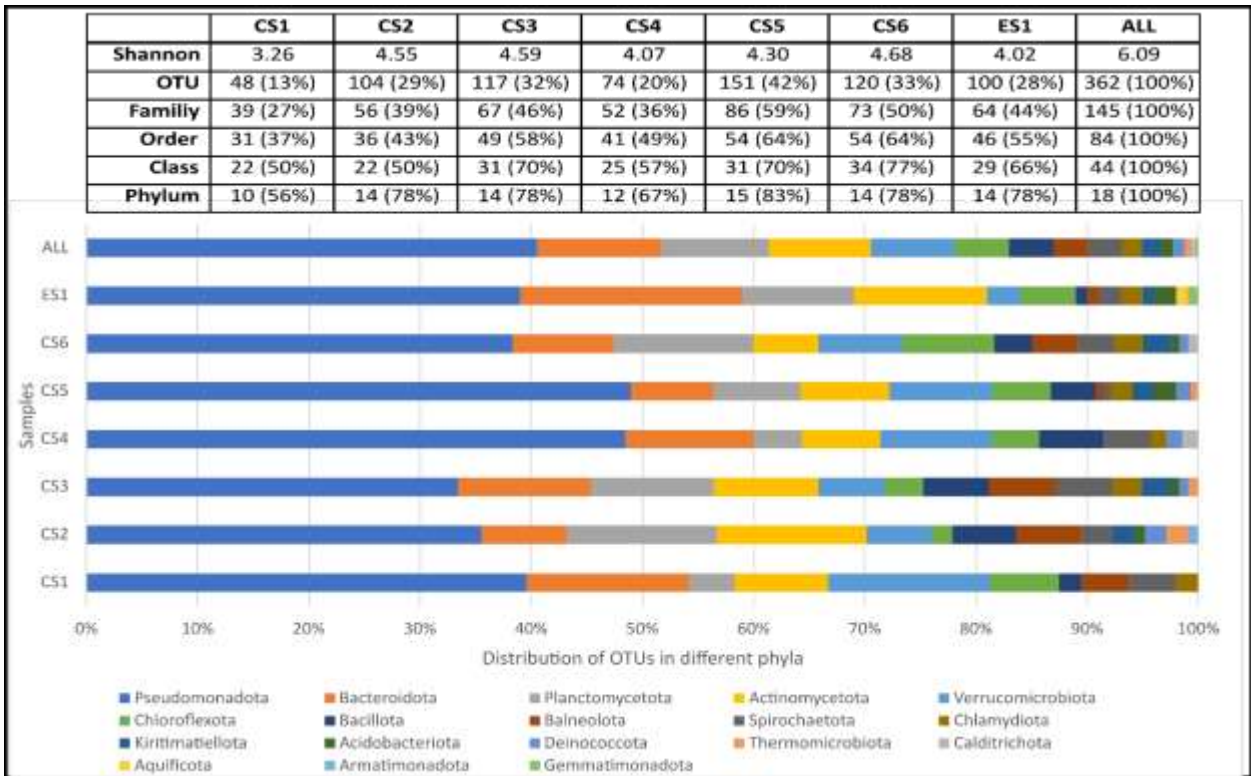


Figure 3. Taxonomic diversity of samples. The stacked bars indicate the proportion of phyla per sample (ALL = all samples) in number of OTUs. The table above mentions the Shannon index and the number and percentage of OTUs, families, orders, classes and phyla per sample.

OTUs present in at least four of the seven investigated samples and associated to the best taxonomic assignment score (similarity > 94.5%) are presented in Table 3.

Table 3. Most abundant non-cyanobacterial OTUs with highest percentage of identity (pid) ranked by occurrence among the seven samples (six pond samples + one environmental sample).

Group	ES1	CS1	CS2	CS3	CS4	CS5	CS6	Total read	Phylum	Class	Order	Family	Best hit taxa	pid
Otu10	129	31	1450	140	266	2318	88	4422	<i>Actinomycetota</i>	<i>Acidimicrobiia</i>	<i>Acidimicrobiales</i>	<i>Ilumatobacteraceae</i>	<i>Ilumatobacter fluminis</i>	95.78%
Otu14	2	70	254	1671	21	135	52	2205	<i>Pseudomonadota</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Rhodobacterales</i>	<i>Paracoccaceae</i>	<i>Rhodobaca</i> sp.	99.25%
Otu23	55	26	168	107	4	1067	127	1554	<i>Pseudomonadota</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Rhodobacterales</i>	<i>Paracoccaceae</i>	<i>Paracoccus</i> sp.	99.00%
Otu18	218	14	6	5	1067	31	48	1389	<i>Actinomycetota</i>	<i>Actinomycetes</i>	<i>Micrococcales</i>	<i>Microbacteriaceae</i>	<i>Rhodoluna</i> sp.	98.53%
Otu51	0	13	2453	928	209	14	926	4543	<i>Pseudomonadota</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Rhodobacterales</i>	<i>Paracoccaceae</i>	<i>Rhodobaculum claviforme</i>	98.26%
Otu27	0	28	739	222	6	73	108	1176	<i>Pseudomonadota</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Hyphomicrobiales</i>	<i>Salinarimonadaceae</i>	<i>Saliniramus fredricksonii</i>	99.75%
Otu54	0	38	33	239	21	19	33	383	<i>Verrucomicrobiota</i>	<i>Opitutia</i>	<i>Puniceococcales</i>	<i>Puniceococcaceae</i>	<i>Coralimargarita</i> sp.	94.98%
Otu28	0	21	686	147	656	0	64	1574	<i>Actinomycetota</i>	<i>Nitriliruptoria</i>	<i>Egicoccales</i>	<i>Egicoccaceae</i>	<i>Egicoccus halophilus</i>	95.33%
Otu81	4	13	0	137	0	102	10	266	<i>Planctomycetota</i>	<i>Planctomycetia</i>	<i>Planctomycetales</i>	<i>Planctomycetaceae</i>	<i>Rubinisphaera brasiliensis</i>	97.30%
Otu2	2	3	2	0	0	7905	0	7912	<i>Bacteroidota</i>	<i>Flavobacteriia</i>	<i>Flavobacteriales</i>	<i>Flavobacteriaceae</i>	<i>Planktosalinus lacus</i>	96.21%
Otu11	0	0	944	0	3	2102	129	3178	<i>Pseudomonadota</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Maricaulales</i>	<i>Maricaulaceae</i>	<i>Glycoaulis abyssii</i>	100%
Otu9	0	0	2236	392	129	0	59	2816	<i>Pseudomonadota</i>	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Chromatiales</i>	<i>Wenzhouxiangellaceae</i>	<i>Wenzhouxiangella marina</i>	99.07%
Otu16	0	0	1112	9	0	5	10	1136	<i>Actinomycetota</i>	<i>Acidimicrobiia</i>	<i>Acidimicrobiales</i>	<i>Lamiaceae</i>	<i>Dermatobacter hominis</i>	97.04%
Otu282	0	0	38	8	0	80	265	391	<i>Pseudomonadota</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Hyphomicrobiales</i>	<i>Phyllobacteriaceae</i>	<i>Chelativorans multitrophicus</i>	98.76%
Otu40	0	0	364	3	0	2	17	386	<i>Pseudomonadota</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Hyphomicrobiales</i>	<i>Devosiaceae</i>	<i>Pelagibacterium limicola</i>	98.51%

Otu93	0	0	0	9	8	283	4	304	<i>Pseudomonadota</i>	<i>Gammaproteobacteria</i>	Not assigned	Not assigned	<i>Alkalimonas collagenimarina</i>	99.53%
Otu68	4	0	0	55	15	175	0	249	<i>Pseudomonadota</i>	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Rhodocyclales</i>	<i>Zoogloeaceae</i>	<i>Azoarcus taiwanensis</i>	100.00%
Otu67	0	0	40	176	0	13	18	247	<i>Planctomycetota</i>	<i>Planctomycetia</i>	<i>Pirellulales</i>	<i>Pirellulaceae</i>	<i>Crateriforma conspicua</i>	95.52%
Otu109	2	0	76	81	0	0	14	173	<i>Pseudomonadota</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Rhodobacterales</i>	<i>Paracoccaceae</i>	<i>Rubribacterium polymorphum</i>	99.75%
Otu126	0	8	11	20	62	0	0	101	<i>Spirochaetota</i>	<i>Spirochaetia</i>	<i>Spirochaetales</i>	<i>Spirochaetaceae</i>	<i>Spirochaeta lutea</i>	97.16%
Otu191	0	0	11	8	0	3	27	49	<i>Bacteroidota</i>	<i>Cytophagia</i>	<i>Cytophagales</i>	<i>Cyclobacteriaceae</i>	<i>Cecembia lonarensis</i>	99.76%

3.2. Cyanobacterial 16S rRNA gene sequence

A partial sequence of the 16S rRNA gene with a length of 1169 bp, which was obtained from 16S rRNA gene PCR amplification of culture CS3 is corresponding to the cyanobacterial OTU6. It was designated OTU6-CS3.

A phylogenetic analysis of 16S rRNA sequences from different *Sodalinema* strains and closely related *Oscillatoriales* revealed a distinct subtree of the genus *Sodalinema* including the four validly described type strains that is supported by 100% bootstrap proportion (BP; Figure 4). The closest related cyanobacterium is *Baaleninema simplex* PCC 7105T, followed by a common branch comprising *Limnospira platensis* PCC 7345T and *Lyngbya aestuarii* PCC 7419T, which is in agreement with the V3-V4 tree presented in Figure 1.

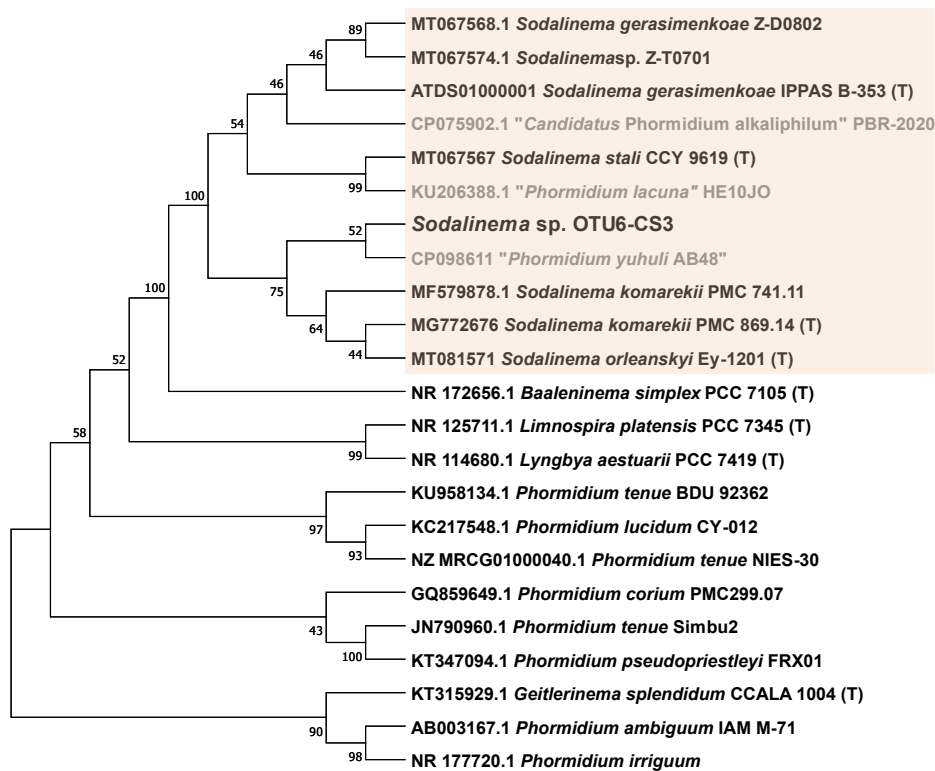


Figure 4. Neighbor-Joining tree based on partial 16S rRNA genes sequences (1169 bp) showing the phylogenetic position of the cyanobacterial contaminant OTU6-CS3 among strains from the NCBI database (19/02/2024). The colored rectangle shows the genus *Sodalinema*. Taxa without validly published names (LPSN: ‘not correct name’ or ‘not validly published’) are show in gray with quotation marks. (T), type strain.

The nested localization of two strains, namely “*Candidatus Phormidium alkaliphilum*” PBR-2020 and “*Phormidium yuhuli*” AB48 (LPSN: not validly published), within the *Sodalinema* subtree provides clear evidence that they have been misclassified. Our 16S rRNA phylogeny showed a polyphyletic localization of *Phormidium* strains in three further subtrees which reflects the necessity of a taxonomic reassessment of this genus. Irrespective of more than 150 different *Phormidium* species validly published under the ICN (Botanical Code; taxonomic status: “correct name” [LPSN]) there is currently no reference strain of the type species (*P. lucidum*) of this genus deposited in a public culture collection. Our 16S rRNA gene sequence of *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 showed a nested localization within the *Sodalinema* subtree and had a sequence identity of 99.14% with the type species of the genus *S. komarekii* PMC

869.14. The closest relative of *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 is the misclassified strain “*Phormidium yuhuli*” AB48 (99.74% identity) (Koch et al. 2022).

Another 16S rRNA gene sequence that is corresponding to OTU310 was obtained from metagenomic data from sample ES1. OTU310-ES1 had a sequence identity of 98.67% with the sequence of *Nodosilinea radiophila* (NR_177717.1). A corresponding phylogenetic analysis (Figure S1) confirmed the close relationship of OTU310-ES1 with *N. radiophila* and documented its localization within a subtree representing the genus *Nodosilinea*.

3.3. Metagenome assembly and binning

Metagenome sequencing, assembly and binning of four spirulina cultivar and ecotype samples (ES1, CS1, CS3, CS4) resulted in five metagenome-assembled genomes (MAGs). In addition to the three *Limnospira* sp. MAGs in ES1 (CAM_GP), CS1 (PAR_GP) and CS4 (ETH_PS) analyzed in our recent study ²⁵⁶, we detected two additional cyanobacterial MAGs (Table 4). Culture ES1 comprised a second cyanobacterial MAG of *Nodosilinea* sp. (OTU310-MAG), while a single *Sodalinema* sp. genome (OTU6-MAG) was detected in CS3. Both MAGs have an excellent quality with a calculated completeness of 95.6% and 98.6% respectively and a contamination rate of less than 1%, correlating with a comparably low number of contigs (74x, 169x). Mapping of the Illumina reads on the MAGs resulted in 101-fold and 5,370-fold genome coverage, which is 2- to 100-fold higher than required for reliable clustering ²⁵¹.

These MAGs are deposited in GenBank with the following accession numbers: (not yet available).

Table 4. Cyanobacterial MAGs and their characteristics

MAG	Sample	Classification ¹	Completeness (%)	Contamination (%)	Mean contig length (bp)	N50 (contigs)	Coding density	# contigs	Genome size (bp)	GC (%)	Coverage
OTU6-MAG	CS3	<i>Sodalinema</i> sp.	98.64	00.54	28005	58579	0.88	169	4,732,929	0.52	5370
OTU310-MAG	ES1	<i>Nodosilinea</i> sp.	95.62	00.68	71807	147214	0.84	74	5,313,730	0.57	101
ETH_PS-MAG01	CS4	<i>Limnospira fusiformis</i>	97.09	00.44	6052	16808	0.83	881	5,332,277	44.67	1613
CAM_GP-MAG01	ES1	<i>Limnospira fusiformis</i>	96.00	00.66	13773	20213	0.84	356	4,903,374	44.51	2912
PAR_GP-MAG01	CS1	<i>Limnospira platensis</i>	98.14	00.00	7946	33073	0.83	678	5,387,508	44.43	1958

¹ According to the current study. In gray, MAGs previously analyzed ²⁵⁶.

66 additional non-cyanobacterial MAGs of good quality (completeness > 90% and contamination <5%) that were detected in the metagenomes of the four spirulina cultures are presented in Table S3. Genome-based analyses using the Type Strain Genome Server (TYGS) revealed digital DNA-DNA hybridization values of less than 70% with the closest related type strain for 57 of these MAGs, indicating that they are reflecting potential new species.

3.4. Average Nucleotide Identity and digital DNA-DNA Hybridization analysis

105 pairwise OrthoANI and dDDH comparisons among 15 *Phormidium* and *Sodalinema* strains are presented in Figure 5.

The OrthoANI genome comparison of *Sodalinema* sp. OTU6-MAG and *Sodalinema* sp. (“*P. yuhuli*”) AB48 revealed a nucleotide identity of 98.64% (Figure 5), which provides clear evidence that both cyanobacteria represent the same species (threshold >95%). They show OrthoANI values >80% with four other available genomes of the genus *Sodalinema* including the type strain *S. gerasimenkoae* IPPASB-353.

Taxon	<i>P. tenue</i> NIES-30	<i>P. tenue</i> FACHB-1052	<i>Phormidium</i> sp. FACHB-322	<i>Phormidium</i> sp. FACHB-77	<i>P. pseudopriestleyi</i> FRX01	<i>Phormidium</i> sp. CCY1219	<i>P. ambiguum</i> IAM M-71	<i>Phormidium</i> sp. LEGE 05292	<i>Phormidium</i> sp. FACHB-592	<i>P. tanganyikae</i> FIG-MK23	<i>S. (P.) lacuna</i> HE10JO	<i>S. (P.) alkaliphilum</i> PBR-2020	<i>S. gerasimenkoae</i> IPPAS B-353	<i>S. (P.) yuhuli</i> AB48	<i>Sodalinema</i> sp. OTU6-CS3
	OrthoANI														
<i>P. tenue</i> NIES-30		99.99	88.59	88.58	66.20	66.71	65.38	65.35	67.79	66.51	66.85	66.90	67.06	66.96	66.83
<i>P. tenue</i> FACHB-1052	100		88.56	88.52	66.32	66.88	65.36	65.32	67.82	66.52	66.93	67.02	67.15	67.04	67.00
<i>Phormidium</i> sp. FACHB-322	35.20	35.20		99.99	66.07	66.90	65.17	65.16	67.83	66.61	66.96	67.07	66.94	66.97	66.76
<i>Phormidium</i> sp. FACHB-77	35.20	35.20	99.90		66.11	66.86	65.41	65.28	68.25	67.04	66.98	67.06	66.98	67.04	66.80
<i>P. pseudopriestleyi</i> FRX01	20.00	20.00	18.30	18.30		72.43	67.93	68.17	67.09	67.18	67.94	67.91	68.04	67.76	67.73
<i>Phormidium</i> sp. CCY1219	24.80	25.00	24.20	24.10	20.00		67.64	67.74	67.29	67.13	67.99	68.01	67.88	68.10	67.85
<i>P. ambiguum</i> IAM M-71	33.50	33.50	25.70	32.60	18.40	20.10		86.54	67.28	67.72	66.21	66.13	66.05	66.00	66.05
<i>Phormidium</i> sp. LEGE 05292	23.20	23.20	26.40	28.10	17.70	19.60	32.40		67.48	67.72	66.43	66.33	66.25	66.28	66.28
<i>Phormidium</i> sp. FACHB-592	22.10	22.10	22.70	25.60	17.60	21.00	21.70	20.60		69.45	66.57	66.60	66.69	66.66	66.64
<i>P. tanganyikae</i> FIG-MK23	27.20	27.20	27.00	29.30	19.40	21.90	24.90	23.00	27.10		66.35	66.27	66.39	66.27	66.20
<i>S. (P.) lacuna</i> HE10JO	29.20	29.30	30.60	29.80	20.70	28.50	20.40	25.70	24.80	26.70		81.84	82.61	81.49	81.45
<i>S. (P.) alkaliphilum</i> PBR-2020	25.80	25.80	25.40	25.40	20.40	23.30	20.90	31.20	27.80	20.20	25.10		91.67	85.18	85.12
<i>S. gerasimenkoae</i> IPPAS B-353	23.10	23.10	26.70	26.20	20.00	21.30	28.60	26.30	26.50	23.00	26.40	44.50		85.48	85.47
<i>S. (P.) yuhuli</i> AB48	26.30	26.30	29.60	29.60	21.00	27.70	23.10	29.50	27.30	26.10	25.20	28.50	29.00		98.64
<i>Sodalinema</i> sp. OTU6-CS3	21.50	21.50	23.20	23.20	20.50	24.50	22.80	24.40	22.90	22.90	24.80	28.50	29.00	86.10	
	dDDH														

Figure 5. Pairwise OrthoANI and dDDH comparisons among *Sodalinema* and *Phormidium* strains.

The genome comparison of two *P. tenue* strains (FACHB-1052, NIES-30) and two *Phormidium* sp. strains (FACHB-77, FACHB-322) revealed almost indistinguishable genomes, which could even reflect clonal lineages of the same isolate. In contrast, the comparison of *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 and *Sodalinema* sp. (“*P. yuhuli*”) AB48 resulted in a dDDH value of 86.10% (threshold >70%). This data, which is consistent with the OrthoANI value of 98.64%, clearly

show that both cyanobacteria represent different strains of the same species. Therefore, strain AB48 was previously incorrectly classified as “*Phormidium yuhuli*”²⁷¹ and must be assigned to the genus *Sodalinema*.

3.5. Morphology and ultrastructure

The *Sodalinema* sp. OTU6 (V3-V4 region, 16S rRNA gene) was detected in five of seven spirulina samples analyzed (ES1, CS2, CS3, CS5, CS6; Figure 1), and metagenome sequencing of sample CS3 indicated that the corresponding MAG represents the dominant cyanobacterium in the culture (Table 4). The corresponding culture was hence used for microscopic studies (Figures 6, 7).

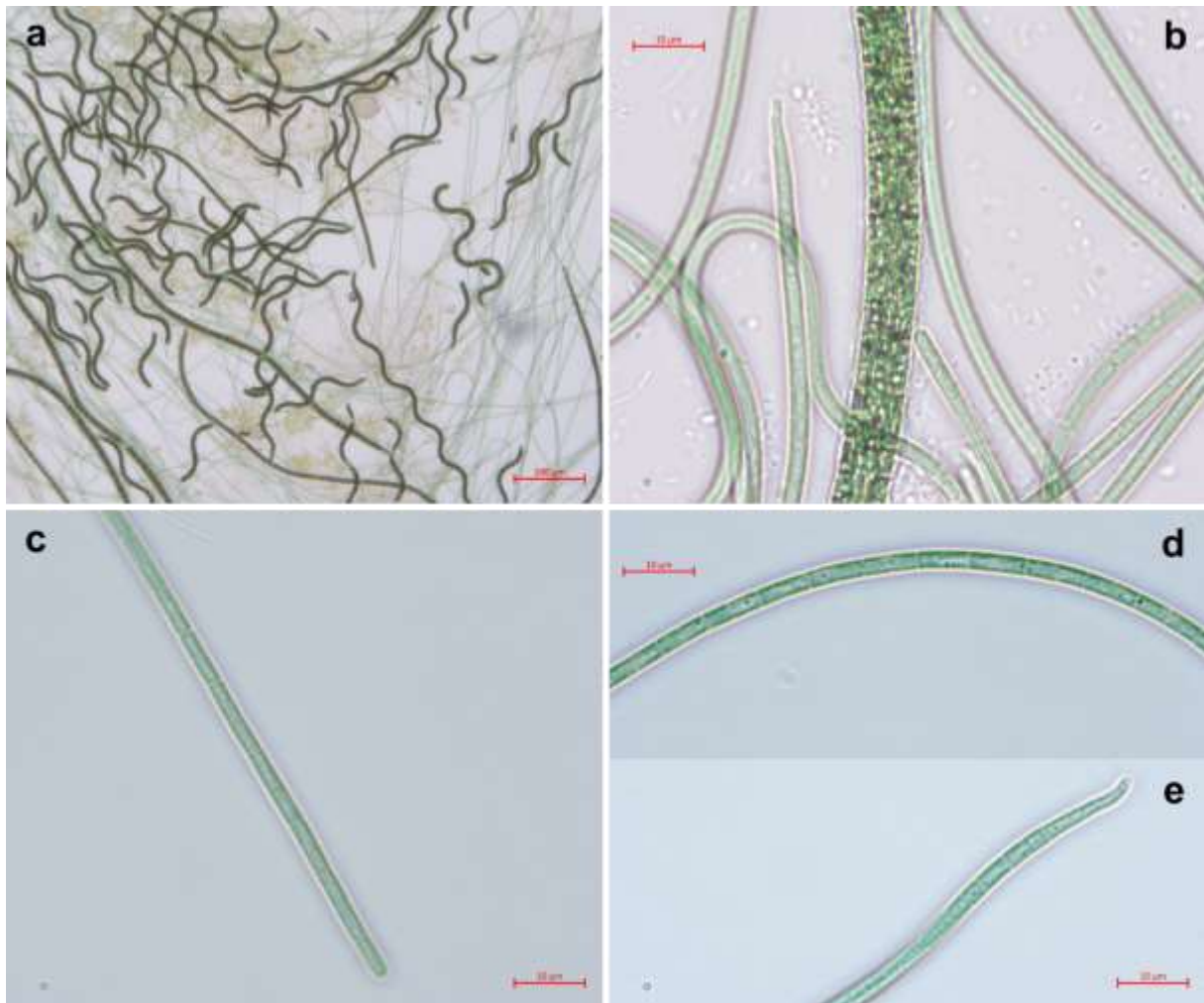


Figure 6. Light microscopy micrographs of the *Sodalinema* sp. OTU6-CS3, contaminant in *Limnospira maxima* cultures. Scales bars: 100µm (a), 10 µm (b,c,d,e). The thicker trichomes (a, b) correspond to specimens of *L. maxima*.

Sodalinema sp. OTU6-CS3 has long almost straight and flexuous filaments that are motile, slightly constricted at cross-walls and slightly attenuated towards the end. Apical cells are generally rounded (Figure 6C) and sometimes thinned and hooked (Figure 6E). Large refractive granules are visible on one or both sides of the cross-wall (Figures 6D, 7A). The cell shape is elongated with a cell length between 3.4 and 6.1 µm and a cell width between 2.1

and 2.8 μm . The thylakoids are arranged in 7 to 10 concentric layers parallel to the cell wall (Figure 7). Carboxysomes, cyanophycin granules and polyphosphate granules can be found in the cells (Figure 7).

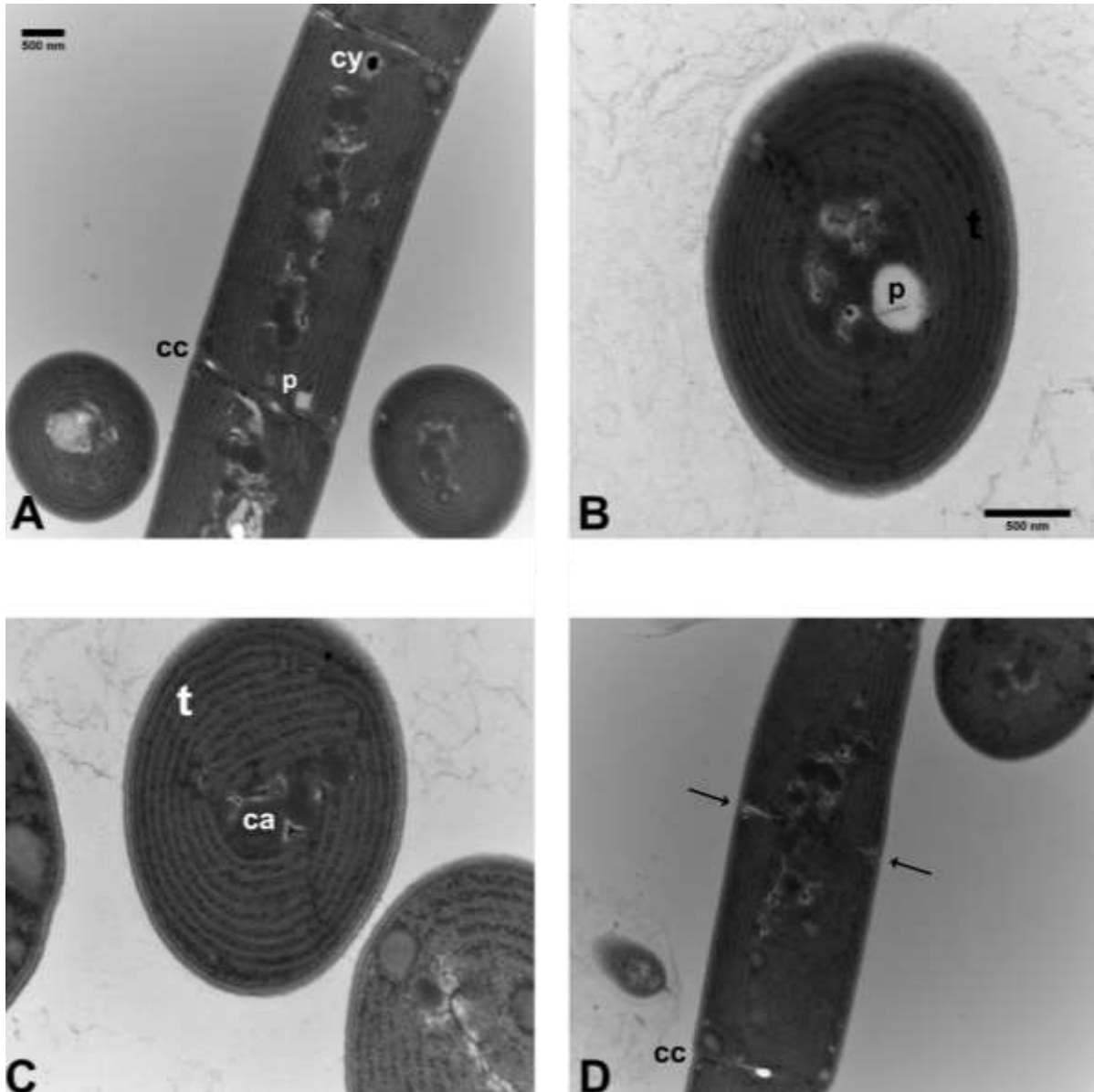


Figure 7. Transmission electron micrographs of *Sodalinema* sp. OTU6-CS3. ca: carboxysome, cc: cross-wall constriction, cy: cyanophycin granule, p: polyphosphate granule, t: thylakoids. Arrows: cell binary fission. Scale bars = 500 nm.

3.6. Genomic analysis – Secondary metabolites

Using antiSMASH 7.1.0 to detect genes involved in the production of secondary metabolites, including cyanotoxins, we examined five available genomes of the genus *Sodalinema*, namely *Sodalinema* sp. OTU6-CS3, *S. gerasimenkoae* IPPAS B-353, *S. stali* (*P. lacuna*) HE10JO, *Sodalinema* sp. ("*P. yuhuli*") AB48, and *Sodalinema* sp. ("*P. alkaliphilum*") PBR-2020 (Figure 4). In these five genomes, four regions were found that are related to terpene biosynthesis,

which may be associated with carotenoid metabolism. A non-ribosomal peptide synthase (NRPS)-like fragment associated to an amino-acid adenylation function and the thioesterase domain *EntF* was also found in these genomes. This enzyme family is also involved in the biosynthesis of fatty acids, phospholipids and other biological functions²⁷². In the genomes of *S. stali* HE10JO and PBR-2020, a second NRPS-like region related to an aminotransferase function was found.

Our analysis of five available *Sodalinema* genomes revealed no genomic sequences related to cyanotoxins - including microcystins, nodularin, saxitoxin, anatoxin-a, dihydroanatoxin and cylindrospermopsin.

The MAG of *Nodosilinea* sp. OTU310, from environmental sample ES1, was also analyzed with antiSMASH. It contains a region with a PatA/PatG family cyanobactin maturation protease, which is involved in the macrocyclization step of the biosynthesis of various cyanobactins²⁷³. It also contains two regions related to terpene biosynthesis. This genome also includes a region related to the biosynthesis of aryl polyenes, bacterial pigments that are structurally similar to carotenoids²⁷⁴.

The antiSMASH analysis of the genome of *Vampirovibrio chlorellavorus* (accession number GCA_001858525.1), the closest related species of OTU355 from sample CS5, did not reveal any genomic sequences related to toxin production. *Haloleptolyngbya alkalis*, the closest related species of OTU65 from sample CS5, could not be examined due to the lack of a genome-sequenced strain (Genbank, GTDB).

3.7. Genomic analysis – Nitrogen metabolism

In the context of the nitrogen competition experiment of this study, the annotated MAG of *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 was analyzed to find genes related to nitrogen metabolism. A complete *nif* operon for nitrogen fixation was identified, comprising the genes *nifA*, *nifB*, *nifD*, *nifE*, *nifH*, *nifJ*, *nifK*, *nifL*, *nifS*, *nifU* and *nifV*. The other genes found encode the nitrate and nitrite reductase and their respective transporters, an ammonium transporter and a type I glutamate-ammonia ligase.

3.8. Nitrogen source competition assay

We compared the growth rates of two morphologically clearly distinguishable filamentous cyanobacteria, namely *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 and *Limnospira maxima* (Figure 6), in relation to the nitrogen concentration in the culture medium (Figure 8). Growth was monitored in three media with ammonium ranging from 0.37 to 1.87 mmol (A1-A3) and two media with nitrate concentrations ranging from 1.18 to 11.77 mmol (N1, N2).

The growth rates of *Limnospira maxima* ETH_PS were similar in all culture media. We observed an increase of the trichomes by a factor of sixteen (mean=16.08, SD=1.52) over a period of 19 to 20 days (Figure 8A). The growth rates of *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 were similar in nitrate-based media (N1 and N2) and in media with a high dose of ammonium (A2 and A3), in which nitrification is observed from day seven onwards. These growth rates were also higher than those observed for *Limnospira maxima*, except in the first week. The growth of *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 in the low concentration ammonium media (A1), which also lacked nitrate, is slowed down or even blocked. From day 19, the ammonium inputs to the A1 environments were stopped and they became zero-nitrogen environments, in which we

observed an increase of the *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 population by a factor of six after a period of 15 days (Figure 8B).

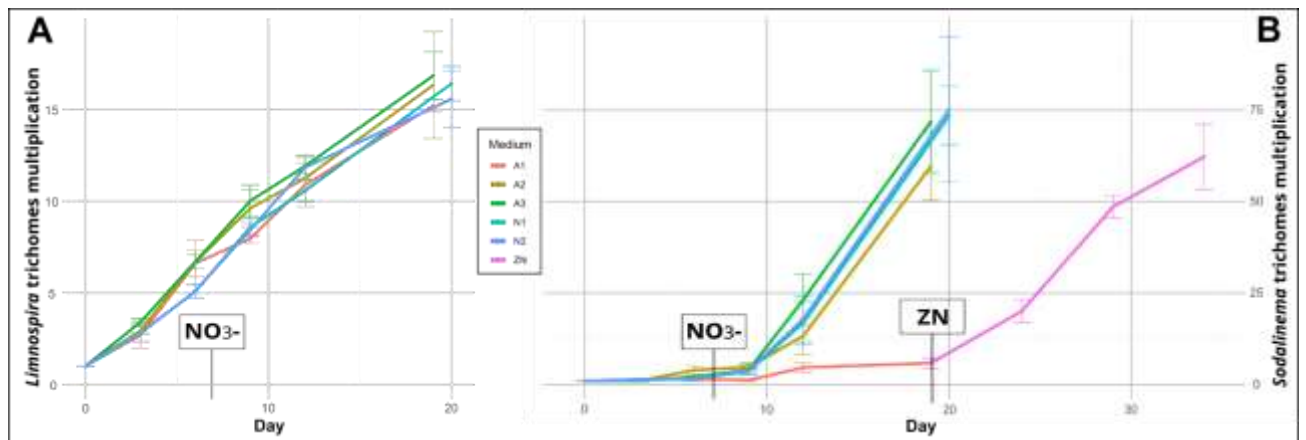


Figure 8. Trichome multiplication of *Limnospira maxima* ETH_PS (A) and *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 (B) competing in five culture media with different nitrogen sources and concentrations. A1: 0.37 mmol NH₄⁺; A2: 1.12 mmol NH₄⁺; A3: 1.87 mmol NH₄⁺; N1: 1.18 mmol NO₃⁻; N2: 11.77 mmol NO₃⁻. n=3; error bars represent standard deviation. The "NO₃⁻" sign indicates the start of nitrification observations in A2 and A3. The "ZN" sign indicates the passage of A1 medium to a zero-nitrogen media.

4. Discussion

4.1. Taxonomy considerations

The phylogenetic analysis, the OrthoANI comparisons and microscopic observations of *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 presented in this paper unambiguously showed that it represents the genus *Sodalinema*. The morphology, except for the occasional observation of thinned and hooked apical cells, and the arrangement of thylakoids are similar to those described for *S. komarekii*²⁶². The 16S rRNA sequences of *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 and *S. komarekii* PMC 869.14 show an identity of 99.14%, which is above the species delimitation threshold of 98.7%²⁶⁸. However, this threshold cannot be considered as proof of species identity, which must be confirmed by a genome comparison with the type species of the genus *S. komarekii* PMC 869.14²⁵¹. This has been shown in the genus *Limnospira*, whose two species have 16S rRNA sequence identities of more than 99%, but could be unequivocally distinguished by a genomic comparison²⁵⁶.

A genome comparison between *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 and *Sodalinema* sp. AB48 ("*Phormidium yuhuli*") revealed that these two strains belong to the same species, based on an OrthoANI value of 98.64% and a dDDH value of 86.10%, which is clearly above the threshold values for species delimitation of 95% and 70%, respectively^{214,238,246}. Strain AB48 was assigned to the genus *Phormidium* in 2022 due to its proximity to the MAG of "*Candidatus Phormidium alkaliphilum*" PBR-2020^{271,275}. However, the naming of these two taxa is neither correct (see current study) nor validly published to LPSN. Phylogenetic analysis based on 16S rRNA gene sequences and genomic comparisons showed that the corresponding strain of PBR-2020 belongs to the genus *Sodalinema*, but is distinct from the species *S.*

gerosimenkoeae, *S. komarekii*, *S. orleanskyi* and *S. stali* as well as *Sodalinema* sp. OTU6-CS3. It therefore represents a new species of the genus *Sodalinema*, whose preferred name is “*Candidatus Sodalinema alkaliphilum*” PBR-2020.

A genome comparison between the type strain *S. komarekii* PMC 869.14, *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 and “*S. yuhuli*” AB48 needs to be performed to determine whether *S. komarekii* and “*S. yuhuli*” are different species or whether “*S. yuhuli*” is a heterotypic synonym of *S. komarekii*.

The phylogenetic tree (Figure 4) shows that the strain “*P. lacuna*” HE10JO described in 2017²⁷⁶ is part of the *Sodalinema* subtree and close to the type strain *S. stali* CCY 9619, which is consistent with the designation *S. stali* HE10JO provided by the authors who described *S. stali*²⁶³. However, it is hazardous to assign these two strains to the same species without a genomic comparison (OrthoANI and dDDH).

Phylogenetic analyzes based on 16S rRNA gene sequences (Figure 4) and on 16S-23S ITS region sequences²⁶³ place the type strain *S. orleanskyi* Ey-1201 in close proximity to the type strain *S. komarekii* PMC 869.14. The partial sequences (1160bp) of the 16S gene of these two strains present an identity of 99.48%. Given these elements, it appears necessary to carry out a genomic comparison to verify that these two type strains really belong to two different species.

Our results show that several “*Phormidium*” taxa should be assigned to the genus *Sodalinema* and that the latter includes a larger number of species than those previously identified.

4.2. Cyanobacterial contaminants

The cyanobacterial composition of the environmental sample (ES1) is the most diverse with six taxa from four orders, which is consistent with other inventories of cyanobacteria in lagoon environments^{277–279}. In comparison, two spirulina culture samples contained only *Limnospira*, three contained *Limnospira* and one additional cyanobacterial taxon and only one contains *Limnospira* and three other cyanobacteria. This result reflects the selection due to the extremely alkaline environment in spirulina culture media (pH > 9.6).

OTU6 represents a cyanobacterium of the genus *Sodalinema*, which was found in four out of five spirulina pond samples. Our metagenome analyses showed that the corresponding *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 and all other strains of the genus *Sodalinema* (*Oscillatoriales*) whose genomes are currently available are not capable of producing cyanotoxins. Nevertheless, this cyanobacterium is a contaminant of spirulina cultures, which should only contain *Limnospira* species. Strains of *Sodalinema*, a genus proposed in 2018²⁶², have been regularly confused with other *Oscillatoriales*, notably particularly species of the ambiguous genus *Phormidium*, which have similar morphologies²⁶³. The genus *Phormidium* has also been reported as a major contaminant, in terms of biovolume, in small scale French spirulina production²⁰⁹. The reasonable assumption that that these contaminations previously observed in spirulina cultures actually belong to the genus *Sodalinema* has to be confirmed e.g. by analyses of 16S rRNA gene amplicons on a larger number of culture samples.

OTU65 represents a cyanobacterial contamination of the spirulina sample CS5 that is very closely related to *Haloleptolyngbya alkalis* (>99% identity). It is a filamentous cyanobacterium from the order *Nodosilineales* that occurs together with *Limnospira maxima* (synonym

Arthrospira fusiformis) in Kenya's Soda Lake Nakuru ²⁸⁰. PCR-based analyses of the *H. alkalis* type strain did not reveal any genetic potential for the production of microcystins, nodularins, anatoxin-a and saxitoxin ²⁸⁰. This species may have been confused with *Leptolyngbya*-like filamentous cyanobacteria ²⁶², which are similar to those already reported for small-scale spirulina cultures in France ²⁰⁹.

Another interesting coinhabitant of the spirulina sample CS5 is OTU355, whose closest relative is *Vampirovibrio chlorellavorus* (90.75% identity). The corresponding heterotrophic bacterium of the class *Vampirovibrionophyceae* (*Cyanobacteriota*) is a parasite of the green alga *Chlorella* ²⁸¹, a chlorophyte that was supposed to contaminate spirulina cultures ¹¹. Thus, this bacterium could prove useful in the biological control of *Chlorella* in spirulina cultures. *V. chlorellavorus* is the only species of *Vampirovibrionales* published (LPSN, 07/11/2024). The comparably low sequence identity between this bacterium and OTU355 (90.75%) indicates that the latter may represent a new genus, or even a new family of *Vampirovibrionales*.

OTU48, which was only detected in the environmental sample ES1, represents the genus *Cyanocohniella* (96.54% identity) of the family *Nodulariaceae*. This family of the order *Nostocales* includes taxa known to produce cyanotoxins, notably nodularins ⁴⁸. OTU26, another unique amplicon sequence from ES1, belongs to the family *Synechococcaceae*, which includes taxa known to produce microcystins ¹⁵².

The genus *Microcystis*, which contains several species producing the eponymous microcystins ⁴⁸, was not found in the six spirulina culture samples. This result is consistent with the absence of *Microcystis* sp. in 102 culture samples also from small French spirulina productions ²⁰⁹. In contrast, the presence of *Microcystis* sp. has already been detected in spirulina and klamath BGAS samples from Greek and Belgian markets ^{86,177}. However, another study has shown that the cultivation conditions of spirulina are unsuitable for *M. aeruginosa* and suggested that *L. platensis* could inhibit its growth ¹⁹⁶. The high pH of the culture media used for the cultivation of spirulina (pH > 9.6 for French production) does not explain the absence of *M. aeruginosa*, which can tolerate a pH above 10 ²⁸²⁻²⁸⁵. On the other hand, the high salinity of spirulina culture media (above 12 g NaCl L⁻¹) can be an inhibitory factor for *M. aeruginosa* ²⁸⁶.

Our result showed the presence of cyanobacterial taxa, which are known to produce toxins, in the environmental sample ES1. In contrast, no cyanotoxin-producing cyanobacterium for which toxin production or biosynthesis gene clusters are known could be detected in the six spirulina culture samples examined. In particular, the genus *Sodalinema*, which is able to grow in the same environment as *Limnospira*, especially in spirulina cultures, is non-toxic, as shown in this study.

4.3. Heterotrophic bacteria

Only a third of the 362 identified OTUs was closely related to an existing species or genus, which suggested that the spirulina samples contain a large number of still unknown heterotrophic bacteria. Similarly, about 8% of OTUs have an identity percentage that does not allow them to be assigned to a taxonomic order. This implies that the samples also contain some bacteria of higher taxonomic ranks that are still unknown.

Considering bacterial contaminants identified with high confidence and present in at least 50% of our samples, we identified *Bacteroidota* and *Pseudomonadota* (previously Proteobacteria)

as the most abundant phyla. Both phyla were also reported by a previous study¹⁷⁷ for spirulina products from the Greek market. More specifically, within the *Pseudomonadota*, the classes *Alphaproteobacteria* and *Gammaproteobacteria* dominated in terms of reads in both studies. A third phylum, namely *Verrucomicrobiota* was found in both projects as well. This suggested that those phyla are universal in open-pond cultivation of spirulina in the mediterranean region.

We identified the genus *Alkalimonas* in four out of our six spirulina ponds samples. Interestingly, this psychrotolerant and obligate alkaliphilic bacterium was the most abundant bacterial contaminant identified in a recent study²⁸⁷ in which viromic and metagenomic analyses of two French spirulina farms were presented.

Pond sample CS5 was the most contaminated in term of number of different reads, particularly the dominant OTU2, which corresponds to the recently described flavobacterium *Planktosalinus lacus*²⁸⁸. This bacterium is not able to reduce nitrate or nitrite and therefore does not interfere with the nitrogen cycle of the pond ecosystem. On the other hand, the betaproteobacterium *Azoarcus taiwanensis* (OTU68), which was detected in three pond samples and in the environmental sample, showed facultative denitrification activity²⁸⁹ and could therefore contribute to nitrogen loss in the spirulina cultures. Overall, our results indicate that the bacterial composition in spirulina pond ecosystems is very diverse but completely harmless to the consumer, and contained several phyla that are linked to the geographical location.

4.4. Nitrogen sources

Our results indicated that *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 cannot proliferate, in competition with *Limnospira*, when the sole nitrogen source is ammonium in low concentration (A1 medium, Figure 8B). In contrast, the growth of *Limnospira maxima* was not affected under the same conditions. Analysis of *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 genome revealed the presence of genes encoding ammonia transporters, which implies its ability to use this nitrogen source. Our results suggest that the ammonium assimilation capacity of *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 is lower than in the *Limnospira maxima*, which gives a competitive advantage to the latter when concentrations are low. The presence of nitrifying bacteria in media A2 and A3 altered their nitrogen composition, which did not allow us to conclude on the capacity of *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 to use ammonium at higher concentrations. The moderate growth of *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 observed between days 8 and 12 (Figure 8B) is likely due to a slight undetected nitrification.

Our results showed that *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 can grow in a nitrogen-free medium (ZN medium, Figure 8B). This observation appears to indicate that *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 is diazotrophic; however, the involvement of heterotrophic bacteria cannot be ruled out. Our findings indicate the presence of taxa belonging to the *Puniceicoccaceae* family among heterotrophic bacteria (Tables S2, S3), which encompasses diazotrophic strains^{290,291}. We also discovered a complete *nif* operon in the genome of PAR_MAG06, which belongs to the same family. Nevertheless, the presence of a complete *nif* operon in the genome of *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 supports the hypothesis that this strain is diazotrophic. *NifA* is the key activator of *nif* gene expression, and *NifL* controls *NifA* activity to prevent *nif* gene expression when ammonium is present²⁹². Therefore, the presence of ammonium in the medium should prevent the nitrogen fixation of *Sodalinema* sp. OTU6-CS3.

Spirulina can utilize various forms of nitrogen, including nitrates, ammonium, and urea (carbamide). Besides the use of a specific concentration of ammonium, which can limit the growth of *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 mentioned above, nitrate could also be useful to control other cyanobacteria. Thus, the use of a culture medium rich in nitrate (9.9 g L^{-1}) is likely to inhibit the growth of cyanobacteria rich in phycoerythrin as shown by a study on *Synechococcus* spp.²⁹³. It therefore appears that examining the form and concentration of nitrogen utilized in the formulation of a culture medium may provide solutions to spirulina producers in limiting the growth of certain contaminating cyanobacteria.

5. Data availability statement

The genetic data used in this article are available in NCBI GenBank. Metagenome data are deposited in the following BioProjects: PRJNA1085564 (sample ES1), PRJNA1085629 (sample CS1), PRJNA1171631 (sample CS3) and PRJNA1085565 (sample CS4). Fastq files of the 16S rRNA amplicon were submitted to NCBI's Short Read Archive and are publicly available under accession number PRJNA1095467. OTUs fasta sequences are presented in Table S5.

Discussion et Perspectives

Dans cette section, nous discuterons en premier lieu sur les questions relatives à la spiruline afin de clarifier leur nomenclature pour la suite de la discussion et d'aborder prioritairement la problématique de leur toxicité supposée.

En deuxième partie, nous discuterons des questions relatives à la cyanosphère des cultures de spiruline avec un accent particulier sur les cyanobactéries qui sont par nature soupçonnées de produire des cyanotoxines. Cette deuxième partie comprend également une discussion sur les approches méthodologiques de taxonomies utilisées dans nos travaux.

En troisième partie, nous discuterons des résultats d'analyse de microcystines réalisés sur les productions françaises afin de dégager des hypothèses sur l'origine des résultats positifs et de conclure sur le risque sanitaire potentiel pour les consommateurs.

Une synthèse des recommandations et perspectives terminera cette discussion.

1. Espèces des souches de spiruline et leur toxicité supposée

1.1. Taxonomie des spirulines

Proposer une révision taxonomique des spirulines, comme nous l'avons fait dans le chapitre II, n'était pas un objectif initial de la thèse. Étudier la taxonomie des spirulines avait pour but d'identifier l'espèce *Limnospira fusiformis* afin de vérifier l'hypothèse de sa toxicité présumée.

Les quatre espèces de spiruline ont toutes été décrites selon des critères morphologiques et écologiques et valablement publiées selon le code taxonomique ICN (code botanique). Il existe toutefois un consensus sur l'existence de deux lignées de spiruline démontrée dès 1999 par Scheldeman et al.³⁷ et maintes fois confirmée notamment par Baurain et al.³⁸ en 2001, Manen et Falquet en 2002⁴⁰ et Miklaszewska et al.⁴¹ en 2012. Un premier clade (I) regroupe les souches assignées aux espèces *Limnospira (Arthrospira) fusiformis*, *L. (A.) indica* et *L. (A.) maxima* ainsi que certaines souches assignées à l'espèce *A. platensis* ou non assignées (*Arthrospira* sp.). Dans le deuxième clade (II), on retrouve exclusivement des souches assignées à l'espèce *A. platensis* ou non assignées.

Lorsque nous avons obtenu les génomes issus de l'analyse métagénomique (MAGs) de nos échantillons de spirulines, ils ont été comparés à la base de données génomiques à vocation taxonomique GTDB (Genome Taxonomy Database) pour obtenir leur identification. A cette occasion, nous avons constaté que ce service avait adopté l'appellation *L. fusiformis* pour désigner toutes les souches de spiruline du clade I. Ce choix, qui n'est pas supporté par une publication scientifique, nous a semblé arbitraire et inopportun compte tenu de la suspicion de toxicité et des limitations réglementaires qui concernent cette espèce.

Dès lors, il nous est apparu nécessaire d'entreprendre une étude de la taxonomie des spirulines afin d'éclaircir leur nomenclature.

Dans le même temps, Roussel et al. ont proposé, en 2023, une révision taxonomique monospécifique du genre *Limnospira* et adopté l'appellation *L. platensis* pour désigner les souches des deux clades de spiruline⁴⁵. Cette proposition qui bouscule l'existence de deux

lignées de spiruline semble motivée par des considérations réglementaires comme le suggèrent l'introduction et la discussion de cet article. Elle s'appuie sur une interprétation discutable du seuil inter-espèces de la méthode de comparaison génomique ANI (Average Nucleotide Identity). En effet, les valeurs ANI inter-clades, obtenues par Roussel et al. (93,4% \pm 0.1%) avec l'algorithme OrthoANIu ²⁹⁴, se situent dans la zone de transition entre le seuil intra-espèce (>95%) et le seuil inter-espèces (<83%) définie par l'étude de Jain et al. ²⁴⁷. Ces derniers ont réalisé en 2018 des comparaisons génomiques sur 90.000 génomes de prokaryotes avec l'algorithme FastANI. Ils ont ainsi montré une distribution bimodale des valeurs obtenues et une zone de transition entre les deux modes qui comprend 2,5% des valeurs calculées. Les valeurs ANI situées dans cette zone de transition doivent être interprétées avec précaution d'autant plus si elles sont calculées avec des algorithmes différents. Ainsi des valeurs ANI de 93-94% ne permettent pas de conclure une identité d'espèce.

Nos comparaisons génomiques entre les souches de *Limnospira*, réalisées avec l'algorithme OrthoANI, ont donné des valeurs inter-clades de 94% \pm 0.5% et intra-clade de 99,2% \pm 0.5% à comparer au seuil de délimitation des espèces (95-96%) proposé pour cet algorithme par Lee et al. ²³⁸. Ces résultats confirment l'existence de deux clades et montrent clairement une identité d'espèces au sein de chaque clade. Les valeurs inter-clades, inférieures au seuil de délimitation des espèces, indiquent que les deux clades représentent des espèces différentes sans toutefois permettre une conclusion solide compte tenu du faible écart entre ces valeurs et le seuil. La deuxième méthode de comparaison génomique que nous avons utilisée, la dDDH (digital DNA-DNA hybridization), donne des valeurs inter-clades (49,6% à 56,6%) et intra-clade (85,5% à 96,9%) bien éloignées du seuil de délimitation des espèces fixé à 70% pour cette méthode ²⁵¹. Ces derniers résultats confirment que les deux clades de spiruline représentent chacun une seule espèce. Enfin, les valeurs dDDH intra-clade sont supérieures au seuil de délimitation des sous-espèces (79-80%) proposés par Meier-Kolthoff et al. ²⁵² ce qui montre qu'il n'existe pas de sous-espèce au sein d'un même clade.

Selon les règles d'antériorité des codes ICN (International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants) et ICNP (International Code of Nomenclature of Prokaryotes), les espèces *L. fusiformis*, *L. indica* et *L. maxima* du clade I peuvent maintenant être désignées *L. maxima*. On pourra apprécier que ce nom d'espèce soit autorisé par les différentes réglementations et qu'il puisse décrire cette cyanobactérie de grande taille à morphologie variable et cosmopolite sans donner d'indication morphologique (versus *L. fusiformis*) ou géographique (versus *L. indica*).

Les souches du clade II étaient assignées à l'espèce *A. platensis* ou non assignées. Une étude récente a montré que cette espèce pouvait présenter des formes benthiques ou planktoniques ²⁵³ ce qui lève le doute sur leur appartenance au genre *Limnospira* compte tenu du caractère benthique de la description originale faite par Gomont en 1892 ⁴². En conséquence, le nom d'espèce *L. platensis* est retenu pour désigner les souches du clade II.

Les descriptions amendées du genre *Limnospira* et de ses deux espèces que nous avons publiées (chapitre II) sont conformes aux règles du code taxonomique des prokaryotes (ICNP). Dès lors, notre publication sera présentée au bureau éditorial du journal IJSEM (International

Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology), la publication officielle du Comité international de systématique des procaryotes (ICSP), pour validation.

Il nous a semblé utile, notamment pour les producteurs, de trouver une méthode permettant de distinguer les deux espèces sans devoir réaliser un séquençage du génome ou d'une séquence complète du gène 16S rRNA.

Nos résultats montrent que la région hypervariable V3-V4 du gène 16S rRNA est suffisante pour distinguer les deux espèces. Cette séquence peut être obtenue avec un protocole de métagénétique qui ne nécessite pas d'isoler la souche étudiée et devient relativement accessible compte tenu des évolutions technologiques en matière de séquençage.

Plus simple et encore plus abordable, serait une méthode basée sur la morphologie. Nos résultats ont permis de constater que la souche *Limnospira platensis* PAR_GP présente une forme régulière et stable. A contrario, les souches de *L. maxima* étudiées présentent des formes d'hélice irrégulières (diamètre et pas) et variables pouvant conduire à des formes droites. Cette observation est en adéquation avec les résultats de Mühling et al. ²⁹⁵ qui ont réalisé en 2006 une analyse phénotypique de 33 souches de spirulines réparties dans les deux clades. Ils ont suggéré que le cluster I soit composé de souches, incluant les espèces *A. fusiformis*, *A. maxima* et *A. indica*, présentant des filaments irréguliers et que le cluster II, incluant la plupart des *A. platensis* analysées, soit composé de souches présentant une forme spiralée régulière.

Il est curieux de constater qu'un critère morphologique simple à observer, la forme globale des trichomes, permet de distinguer les deux espèces alors que par le passé des nouvelles espèces ont été décrites sur base de différences morphologiques relevant du détail comme la forme des calyptres dans le cas de *Arthrospira indica* ³⁶.

La forme des trichomes doit être observée sur une population puisque c'est la régularité du profil d'hélice qui permet de distinguer les deux espèces. L'observation d'un seul trichome peut conduire à une erreur d'identification. Nous avons en effet observé (Figure 3 du chapitre II) qu'une souche de *L. maxima* évoluant d'une forme spiralée vers une forme droite peut présenter des trichomes hélicoïdaux réguliers.

Cette distinction morphologique entre les deux espèces doit encore être validée à plus grande échelle en menant une étude combinant des observations morphologiques et une méthode permettant de s'assurer de l'identification de l'espèce des souches étudiées. A priori, une telle étude devrait s'appuyer sur les souches en collection. A notre connaissance, il est peu probable de trouver d'autres souches *L. platensis*, autre que la souche Paracas déjà étudiée, parmi les cultivars utilisés en France.

1.2. Non toxicité de *Limnospira maxima* (syn. *L. fusiformis*)

Nos résultats démontrent l'absence des gènes codant des enzymes NRPS ou PKS dans les 22 génomes de *Limnospira* analysés incluant 11 génomes de *L. maxima* (*L. fusiformis*) ce qui prouve leur incapacité à produire les cyanotoxines pour lesquelles les voies de biosynthèse sont identifiées. Toutefois nous n'avons pas pu analyser les souches AB2002/02 et AB2002/10 de *L. (A.) fusiformis* présumées être associées à la production de microcystines (MCs) et anatoxines (ATXs) par Ballot et al. ^{1,2}.

Dans un échange personnel au début de cette thèse (2 novembre 2020), cet auteur nous écrit : « *Regarding toxicity: I am not sure today if these strains were really producing toxins. The amounts in the culture were relatively low. According to my experience are real toxin producers characterized by relatively high concentrations of in the culture. So I assume that the measurements which were done by another Lab were not correct. [...]. And several cyanobacterial species exist were non-toxigenic and toxic strains coexist. So why not in Arthrospira?* »

Dès lors, l'hypothèse que certaines souches de *L. fusiformis* puissent produire des cyanotoxines est-elle crédible ?

Comme nous n'avons trouvé aucune trace des gènes impliqués dans la production de MCs et ATXs dans les 22 génomes de *Limnospira* examinés, l'hypothèse de souches productrices et non-productrices de ces toxines ne peut pas s'appuyer sur une explication de pertes ou mutations de l'une ou l'autre région codante sauf à envisager la perte complète de clusters. Cette hypothèse pourrait toutefois trouver une autre explication basée sur l'éventualité du transfert d'un cluster *mcy* ou *atx* d'une espèce toxique vers une souche de *Limnospira*.

Pour examiner ces différentes possibilités, nous pouvons nous appuyer sur les résultats obtenus avec d'autres espèces de cyanobactéries présentant des souches toxiques et non toxiques.

Le genre *Microcystis* comprend des souches productrices de MCs et d'autres qui ne le sont pas ²⁹⁶. Les congénères de MCs peuvent également varier selon les souches. En 2002, Mikalsen et al. ²⁹⁷ ont analysé les gènes *mcyABC* de souches du genre *Microcystis* et ont observé plusieurs variants de ces gènes dans onze souches et leur absence dans sept. Les auteurs ont suggéré que ces résultats pouvaient s'expliquer par des recombinaisons entre réplicas imperfectifs, des pertes de gènes et des transferts horizontaux. La même année, Christiansen et al. ⁵⁵ ont comparé le cluster des gènes *mcy* de *Planktothrix agardhii* CYA 126 avec ceux de deux souches de *Microcystis aeruginosa* productrices de MCs. Les auteurs ont conclu que les similarités et différences observées entre ces clusters ne pouvaient pas s'expliquer par des transferts horizontaux entre genres.

En 2003, Rantala et al. ²⁹⁸ ont réalisé une analyse phylogénétique comparée de gènes de synthèse de MCs (*mcyA*, *mcyD* et *mcyE*), et des gènes constitutifs 16S rRNA et *rpoC1*. Leurs résultats montrent une coévolution des gènes *mcy* et des gènes constitutifs des genres *Anabaena* (*Dolichospermum*), *Microcystis*, *Nodularia*, *Nostoc* et *Planktothrix*. En 2005, Jungblut et Neilan ²⁹⁹ ont montré qu'une analyse phylogénétique de séquences du domaine aminotransférase des gènes *mcyE* de souches de Chroococcales, Nostocales et Oscillatoriales révélait les mêmes clusters préalablement identifiés avec des séquences du gène 16s rRNA. Ces résultats montrent une congruence entre l'évolution de gène 16S rRNA et des gènes *mcy* ce qui supporte l'hypothèse d'une évolution verticale de ces derniers.

Dès lors la distribution sporadique des gènes associés à la synthèse de MCs dans les cyanobactéries ne peut pas s'expliquer par des transferts horizontaux entre genres mais plutôt par des évolutions et des pertes de gènes dans les lignées dérivées d'ancêtres communs. De même, les différences observées entre les gènes *mcy* des différents taxons producteurs de MCs ne plaident pas pour une hypothèse de transferts latéraux de ces gènes entre genres.

En 2011, Rantala-Ylinen et al.³⁰⁰ ont comparé les clusters des gènes *ana* de souches des genres *Anabaena* et *Oscillatoria*, associés à la production de ATXs, et ont montré des différences d'une part dans l'organisation des gènes au sein des clusters et d'autre part entre les séquences génétiques de ces gènes, qui sont similaires à celles rencontrées entre les espèces productrices de MCs. Cette observation ne plaide pas en faveur d'une hypothèse de transferts horizontaux des gènes impliqués dans la production des ATXs.

Tous ces résultats montrent que la présence de souches toxiques et non-toxiques au sein des espèces associées à la production de MCs et ATXs trouve une explication dans des pertes ou mutations de gènes. Toutefois, aucune perte totale d'un cluster n'a pu être mise en évidence dans ces résultats.

Les résultats précités de Rantala et al. et de Jungblut et Neilan semblent infirmer l'hypothèse de transferts horizontaux de cluster *mcy* entre espèces ou souches. Concernant les ATXs, nous n'avons pas trouvé d'étude portant sur l'évolution du cluster *atx* permettant d'infirmer l'hypothèse de transferts horizontaux et qui expliquerait la distribution sporadique des gènes associés à leur production dans les cyanobactéries.

De plus, il apparaît que les *Limnospira* possèdent plusieurs mécanismes de défense de leur génome contre l'incorporation de matériel génétique provenant d'un transfert horizontal. Les analyses des génomes de plusieurs souches de *Limnospira* ont révélé la présence de nombreux sites liés aux systèmes restriction-modification (RM) qui interviennent dans la destruction de l'ADN exogène^{157,159,206,301-303}. Jeamton et al.³⁰⁴ ont montré qu'il est nécessaire de désactiver les enzymes de restriction (endonucléase) pour introduire un gène dans le génome de la souche *L. maxima* C1 (désignée *A. platensis* C1 dans leur article).

Le génome des *Limnospira* comprend aussi plusieurs sites CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats)^{206,305,306} qui sont un élément du système CRISPR-Cas qui fournit un mécanisme d'immunité adaptative permettant l'identification et la destruction de séquences génétiques étrangères au génome^{307,308}.

Enfin, les spirulines sont entourées d'exopolysaccharides qui constituent une barrière physique pouvant entraver le contact avec des cellules ou molécules d'ADN extérieures^{309,310}.

Dès lors, l'hypothèse que certaines souches de *Limnospira maxima* (*L. fusiformis*) puissent acquérir un cluster complet de gènes de synthèse de MCs ou ATXs et que certaines souches puissent produire ces toxines nous semble très improbable.

Enfin, l'absence de toute trace des gènes associés à ces toxines ne plaide pas pour la coexistence de souches toxiques et non-toxiques.

1.3. La souche de spiruline camarguaise

La souche camarguaise, issue de l'échantillon environnemental, présente un morphotype « *fusiformis* » qui a pu justifier son assignation à l'espèce *Arthrospira fusiformis*, les soupçons de sa toxicité, et l'interdiction de l'utiliser comme ingrédient de complément alimentaire au regard de la réglementation française.

Nos travaux permettent de réhabiliter cette souche pour sa culture et sa consommation. D'une part, la révision taxonomique proposée permet d'assigner cette souche à l'espèce *Limnospira* (*A.*) *maxima* qui est acceptée dans toutes les législations relatives aux espèces de spiruline.

D'autre part, l'analyse du génome de cette souche a démontré l'absence de gènes associés à la production de cyanotoxines.

Compte tenu de ces résultats, la souche camarguaise a été mise en production à partir de 2023 dans la ferme aquacole partenaire de cette thèse et depuis 2024 dans quelques fermes adhérentes de la FSF.

2. Cyanosphère des cultures de spiruline

2.1. Cyanobactéries contaminantes des cultures de spiruline

L'inventaire des cyanobactéries contaminantes des cultures de spiruline présentées dans le chapitre I comprend 14 genres répartis dans les ordres des Chroococcales, Geitlerinematales, Gomontiellales, Leptolyngbyales, Nodosilineales, Oscillatoriales, Spirulinales et Synechococcales. Par contre, l'analyse des amplicons 16S rRNA présentée dans le chapitre III ne révèle que trois taxons appartenant aux ordres des Nodosilineales, Oscillatoriales et Vampirovibrionales. En outre, les trois genres identifiés dans le chapitre III ne figurent pas dans l'inventaire du chapitre I.

Plusieurs facteurs peuvent expliquer ces différences.

L'inventaire du chapitre I a été réalisé avec des données acquises sur 437 échantillons de spiruline sèche et 102 échantillons de culture provenant de 109 sites de production. Ces échantillons ont été récoltés entre 2017 et 2021 durant la saison de production qui s'étale d'avril à octobre. L'analyse phylogénétique du chapitre III a été réalisée sur six échantillons de culture récoltés en novembre 2019.

Ces différences de nature des échantillons, de leur nombre et des périodes d'échantillonnage sont des éléments susceptibles d'expliquer la différence de diversité des taxons observés.

Les méthodes d'identification des taxons sont également très différentes. Les données du chapitre I proviennent d'énumérations des contaminants réalisées par un laboratoire privé pour le compte des producteurs et sont basées uniquement sur des méthodes morpho-taxonomiques classiques qui ne prennent pas en compte les récentes évolutions de la taxonomie. Ces méthodes morpho-taxonomiques sont réputées moins fiables que les méthodes phylogénétiques, utilisées dans le chapitre III.

Cinq sites de production de spiruline ont fourni des échantillons pour ces deux chapitres. Le tableau 1 compare les résultats obtenus.

Le genre *Cyanobium* a été identifié comme un contaminant majeur lors de l'analyse des résultats d'énumérations de cyanobactéries réalisées sur 437 échantillons de spiruline sèche (paillettes) et 102 échantillons de cultures de spiruline (chapitre I). Toutefois, la phylogénétique ne l'a décelé dans aucun des six échantillons de culture examinés dans le chapitre III. Ce genre de picocyanobactérie, qui comprend l'espèce *C. rubescens*, est associé par la profession à une coloration rouge du milieu de culture³¹¹. L'analyse phylogénétique des échantillons du chapitre III a montré la présence de plusieurs bactéries pourpres, notamment le genre *Rhodobaca*, qui présentent une couleur similaire et des morphologies (taille, forme ovoïde) pouvant être confondues avec celles de *Cyanobium*^{312,313}. Dès lors, l'hypothèse d'une

erreur d'identification, confusion entre *Cyanobium* et une bactérie pourpre, nous semble crédible pour expliquer la différence relative à ce taxon entre les deux chapitres.

Tableau 1 : Comparaison des identifications taxonomiques entre les chapitres I (morpho-taxonomie) et III (phylogénétique).

Site production	Chapitre I			Chapitre III
	Année	Nature échantillon	Taxons	Taxons
CS2	2019	Paillettes spiruline	<i>Cyanobium, Leptolyngbya, Phormidium, Planktolyngbya, Pseudanabaena</i>	<i>Sodalinema</i>
CS3	2021	Culture	<i>Cyanobium, Geitlerinema</i>	<i>Sodalinema</i>
CS4	2021	Culture	<i>Cyanobium, Cyanodictyon, Gomontiella, Jaaginema, Planktolyngbya, Pseudanabaena, Romeria, Spirulina</i>	Néant
CS5	2019	Paillettes spiruline	<i>Cyanobium, Jaaginema, Phormidium, Planktolyngbya</i>	<i>Sodalinema Haloleptolyngbya</i>
CS6	2019	Paillettes spiruline	<i>Cyanobium, Jaaginema, Planktolyngbya, Pseudanabaena</i>	<i>Sodalinema</i>

Inversement, le genre *Sodalinema* a été identifié comme un contaminant majeur par l'analyse phylogénétique réalisée sur six échantillons de culture de spiruline (chapitre III) mais il est absent de l'inventaire des contaminants présenté dans le chapitre I. Ce genre a été proposé récemment en 2018 par Cellamare et al. ²⁶² et ne figure pas dans les clés de détermination plus anciennes utilisées pour la morpho-taxonomie. L'espèce type, *S. komarekii*, présente une morphologie similaire aux *Leptolyngbya* avec ses longs filaments fins (diamètre $\leq 3 \mu\text{m}$). La famille des Leptolyngbyaceae comprend également le genre *Planktolyngbya*. L'analyse phylogénétique (16S rRNA) place *S. komarekii* à proximité de souches des genres *Geitlerinema* et *Spirulina*. Samylina et al. ont décrit en 2021 trois nouvelles espèces de *Sodalinema* – *S. gerasimenkoeae*, *S. orleanskyi* et *S. stali* – en étudiant le cluster des « *Geitlerinema* marines » ²⁶³ qui comprend des souches du genre *Phormidium*. Ce dernier comprend des espèces devant être déplacées dans le genre *Sodalinema* selon les résultats présentés dans le chapitre III. Tous ces éléments permettent d'émettre l'hypothèse que des souches de *Sodalinema* ont aisément pu être confondues avec des souches de *Phormidium*, de *Leptolyngbya*, de *Geitlerinema* ou encore de *Planktolyngbya*.

Ce qui précède illustre les limites des méthodes morpho-taxonomiques pour identifier des taxons de cyanobactéries. Par ailleurs, on peut s'interroger sur la fiabilité d'identification de cyanobactéries contaminants des échantillons de spirulines sèches réhydratés pour l'observation. De plus de telles observations n'apportent aucune information fiable sur l'éventuelle toxicité des taxons.

Nous recommandons donc à la profession de ne plus consacrer de moyens pour réaliser des énumérations de cyanobactéries sur des échantillons de spiruline sèche et de privilégier la surveillance des cultures sur site. L'objectif premier des observations microscopiques des cultures est de détecter la présence d'un contaminant, sans pour autant pouvoir l'identifier précisément. Le cas échéant, des actions telles que le contrôle des cyanotoxines dans les productions devraient être déclenchées. Il est par ailleurs recommandé à la profession de se former pour mener à bien ce type d'observation.

2.2. Toxicité des contaminants

L'identification sur base morpho-taxonomique des 14 genres de cyanobactéries présentées dans le chapitre I est sujette à caution comme nous l'avons discuté ci-avant. Par ailleurs, les genres associés à la production de cyanotoxines comprennent des espèces et/ou souches non toxiques. Enfin, la seule présence du genre *Arthrospira*, basée sur le cas de *A. fusiformis*, dans les listes de cyanobactéries toxiques permet de mettre en doute leur fiabilité. Il est dès lors hasardeux d'associer formellement l'un ou l'autre de ces 14 taxons à la production de cyanotoxines.

On notera toutefois que l'ordre des Nostocales, qui comprend la moitié des genres associés aux cyanotoxines (tableau 7 de l'introduction), n'est pas représenté dans ces 14 taxons. Les genres *Microcystis*, *Planktothrix*, *Dolichospermum* et *Nostoc*, principalement associés à la production de MCs⁴⁷, sont également absents de l'inventaire des contaminants présentés au chapitre I (figure 4). Enfin, aucune corrélation n'a pu être établie entre les dénombrements des taxons de cet inventaire et les résultats d'analyses de MCS (méthode Adda-ELISA) également présentés au chapitre I.

Ces éléments ne plaident pas en faveur d'une hypothétique présence de cyanobactéries toxiques dans les 95 sites de production de spiruline dont sont issues les données analysées dans le chapitre I.

L'analyse phylogénétique réalisée sur 6 échantillons de cultures (chapitre III) a permis d'identifier deux taxons de cyanophyceae. Le génome du premier, *Sodalinema* sp., a pu être analysé et nous avons démontré son incapacité à produire des cyanotoxines. Le second, *Haloleptolyngbya alkalis*, n'a pas pu être isolé ni caractérisé mais une analyse PCR de la souche type de ce taxon réalisée par Dadheech *et al.* 2012 a permis de montrer l'absence des gènes marqueurs associés aux microcystines, nodularines, anatoxine-a et saxitoxines²⁸⁰.

Dans leur ensemble, nos travaux n'ont pas permis d'identifier de taxons cyanobactériens associés à la production de cyanotoxines dans les cultures de spiruline. A contrario, l'analyse phylogénétique réalisée sur l'échantillon environnemental contenant la souche de spiruline camarguaise a permis d'identifier deux taxons putativement associés à des cyanotoxines : le genre *Cyanocohniella* de la famille Nodulariaceae associée aux nodularines et la famille Synechococcaceae associée au MCs.

Pour compléter cette discussion, notons que les bactéries hétérotrophes identifiées (362 OTUs) par l'analyse des amplicons 16S des échantillons de cultures, ne comprennent pas de taxons pathogènes.

2.3. Origine des contaminants

Les genres de cyanobactéries identifiés dans les échantillons de cultures françaises de spiruline examinés dans les chapitres I et III ne comprennent pas les taxons dominants trouvés en milieu naturel sur des territoires identiques ou voisins : *Plankthothrix*, *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon* et *Woronichinia* ^{200–205}. A contrario, les genres *Aphanocapsa*, *Merismopedia*, *Phormidium*, *Pseudanabaena* and *Romeria* ont pu être identifiés dans ses mêmes territoires ^{200–204} et dans les échantillons analysés au chapitre I. De même *Sodalinema* sp. a été identifié dans des échantillons de cultures et dans l'échantillon environnemental étudiés au chapitre III.

Ces résultats montrent que les cultures de spiruline peuvent être contaminées par des cyanobactéries présentes dans l'environnement mais que certains taxons n'ont pas la capacité de s'installer dans les milieux alcalins utilisés pour cultiver la spiruline. En particulier l'absence de *Microcystis* sp. dans les cultures concorde avec les résultats de Costa et al. ¹⁹⁶ qui ont montré l'incapacité de *M. aeruginosa* de survivre dans une culture de spiruline.

A contrario, certains genres, en particulier *Jaaginema* et *Planktolyngbya*, sont présents dans une majorité des fermes réparties sur tout le territoire français, alors qu'ils n'apparaissent pas dans la littérature comme étant des taxons dominants sur ces territoires.

L'échange de souches, à partir de cultures non isolées ni contrôlées, entre producteurs pour les besoins d'inoculation est largement répandue. Ce qui peut expliquer la dispersion de cyanobactéries contaminantes au-delà de leur territoire d'origine. Cette pratique est également susceptible d'augmenter la diversité des contaminants présents sur une ferme dès lors que plusieurs souches se succèdent et sont parfois mélangées.

L'échange de souches entre producteurs a des raisons économiques et pratiques. Les volumes de biomasse disponibles sont suffisants pour pouvoir ensemercer un bassin de culture et démarrer rapidement une production. En comparaison, les volumes disponibles auprès d'une souche ou d'une collection nécessitent plusieurs semaines à plusieurs mois de multiplication avant de pouvoir démarrer une production.

Au regard du risque de contamination, nous recommandons à la profession d'utiliser des *inocula* vérifiés pour ne pas contenir d'autres cyanobactéries que la spiruline. La mise en œuvre de cette recommandation nécessite de développer un nouveau métier, équivalent au métier de pépiniériste dans le domaine végétal, pour fournir des *inocula* répondant aux besoins des producteurs de spiruline.

2.4. Contrôle des contaminations

La culture de la spiruline dans un photobioréacteur (PBR), inoculé avec une souche isolée (mono-cyanobactériale), est certainement la meilleure solution pour éviter les contaminations. Les niveaux d'investissements et de complexité de ces systèmes ¹⁸⁰ ne sont toutefois pas en adéquation avec le modèle paysan qui caractérise la production française.

Cependant, plusieurs paramètres cultureux sont à la disposition des producteurs pour limiter les contaminations.

Les *Limnospira* sont des organismes halophiles pouvant supporter une salinité totale de 1,1 à 300 g L⁻¹ en milieu naturel¹⁶². Les travaux de Tonk et al.²⁸⁶ montrent que le taux de croissance de *Microcystis aeruginosa* et sa production de MCs sont nuls pour une salinité dépassant 12 g L⁻¹. Selon Vergali et al.³¹⁴ la souche *Planktothrix agardhii* PMC1014.18 supporte des concentrations de NaCl de 12,5 g L⁻¹ mais décline drastiquement à 15 g L⁻¹. Houliez et al.³¹⁵ ont montré que deux souches productrices de STX, *Aphanizomenon gracile* PMC627.10 et *Cylindrospermopsis raciborskii* PMC00.01, ne survivent pas à des concentrations de NaCl dépassant 15 g L⁻¹. Ces exemples montrent qu'il est possible d'éviter certaines contaminations en utilisant des milieux de culture de salinité élevée.

Les *Limnospira* sont également des organismes alcalophiles pouvant supporter des pH élevé (pH 11) et dont l'optimum de croissance se situe entre pH 9 et 9,5 selon Zarrouk³¹⁶. L'étude de Maileht et al.³¹⁷ a révélé que l'alcalinité est l'un des déterminants principaux des taxons dominants dans 1500 lacs de 20 pays européens, montrant ainsi le caractère sélectif de ce paramètre. Les lacs sodiques sont des milieux extrêmes avec des pH se situant entre 9 et 12 dans lesquelles seuls des organismes alcalophiles peuvent prospérer. Dans ces milieux, *Limnospira* est le taxon cyanobactérien dominant et l'on y trouve également des souches des genres *Anabaenopsis*, *Haloleptolybys*, *Picocystis* et *Sodalinema*^{262,318}.

La combinaison d'une salinité et d'une alcalinité élevées constitue une barrière à la contamination des cultures de spiruline par la plupart des (cyano)bactéries^{180,319}.

Il est donc recommandé aux producteurs de démarrer et de maintenir leurs cultures dans des conditions de salinité et d'alcalinité élevées. En pratique, les milieux de culture en phase de production ont une salinité supérieure à 12 g L⁻¹ et un pH proche de 10¹¹. Un pH supérieur ou égal à 9,6 est une contrainte imposée par le guide des bonnes pratiques et d'hygiène (GBPH) de la FSF. Toutefois, lors du démarrage d'une culture le milieu présente généralement un pH inférieur¹¹.

Le protocole de culture de *Limnospira* et *Sodalinema*, mis en compétition dans des milieux présentant des compositions azotées différentes (chapitre III), a montré qu'il est possible de limiter la prolifération de *Sodalinema* en absence de nitrate et avec une faible concentration en ammonium. Une telle approche nécessite toutefois d'étudier les conséquences sur la composition de la spiruline cultivée et de développer un système de mesure de l'ammonium en continu permettant de contrôler sa concentration.

Enfin, la comparaison des contaminations entre les milieux de cultures et les spirulines récoltées dans ceux-ci (chapitre I) suggère qu'il est possible de limiter les petites cyanobactéries indésirables, en particulier les picocyanobactéries, dans la biomasse récoltée. Dans les filtres à plat (filtration frontale), la biomasse s'accumule sur la toile de filtration et constitue progressivement un filtre additionnel qui empêche les petits éléments de passer dans le filtrat. Les cyanobactéries de taille inférieure à la maille du filtre peuvent donc être retenues dans la biomasse de spiruline. L'utilisation de filtres rotatifs (filtration tangentielle) évite ce phénomène.

2.5. Approches méthodologiques de taxonomie

Lorsque nous avons cherché à identifier la cyanobactérie contaminante majeure de nos échantillons dans le chapitre III, les premiers résultats basés sur les séquences de la région V3-V4 du gène 16S rRNA ont placé cette dernière à proximité de trois souches du genre *Sodalinema*. Mais lorsque nous avons obtenu son génome (MAG), sa comparaison avec la base de données GTDB a conduit à l'assigner à l'espèce *Phormidium yuhuli*. L'analyse phylogénétique d'une séquence plus complète du gène 16S rRNA nous a permis de confirmer les premiers résultats et de montrer que la souche *Phormidium yuhuli* AB48 décrite et proposée par Koch et al.²⁷¹ devait être assignée au genre *Sodalinema*. Ces auteurs ont assigné en 2022 la souche AB48 au genre *Phormidium* en se basant sur les données génomiques qui montraient une proximité avec la souche « *Phormidium alkaliphilum* PBR2020 » et en utilisant la taxonomie génomique proposée par le GTDB. Notons que le GTDB a récemment (septembre 2024) réassigné les souches AB48 et PBR2020 au genre *Sodalinema* ce qui est conforme à nos résultats.

On peut considérer qu'une identification basée sur un génome est plus fiable que celle basée sur une séquence du seul gène 16S rRNA. Mais quelle que soit la méthode, son résultat dépend des bases de données utilisées pour rechercher des génomes ou séquences similaires. Au 7 septembre 2024, la base de données génomiques du NCBI comprend 6227 génomes de Cyanobacteriota dont seuls 219 sont des génomes de référence. La base de données RefSeq des séquences 16S rRNA du NCBI comprend 237893 entrées à la même date pour ce même phylum. Dès lors, il est aujourd'hui plus probable que le genre d'une cyanobactérie étudiée soit représenté dans une base de données de séquences 16S rRNA que dans une base de données génomiques.

Notre expérience d'identification du contaminant *Sodalinema* illustre ce propos et nous amène à recommander l'utilisation des séquences du gène 16S rRNA pour assigner un genre à une souche inconnue. Cette recommandation est également valable pour les rangs taxonomiques supérieurs pour lesquels des seuils de similarité ont été définis pour les séquences du gène 16S rRNA²⁶⁸.

Notons que la méthode ANI peut également être utilisée pour délimiter les genres comme l'ont proposé en 2020 Barco et al.³²⁰ Nos résultats du chapitre III confirment cette approche avec une bonne corrélation entre les résultats de comparaison ANI et l'analyse phylogénétique des séquences 16S rRNA. Cette approche est toutefois sujette aux limitations des bases de données génomiques évoquées précédemment et ne devrait pas être utilisée pour assigner le genre d'une souche inconnue mais seulement pour confirmer une identité de genre. Ces limitations liées aux bases de données génomiques s'appliquent par extension aux méthodes phylogénomiques.

L'assignation d'une souche à une espèce ne peut pas être confirmée avec les séquences 16S rRNA car des espèces différentes peuvent présenter une similarité de leur séquence 16S rRNA supérieure au seuil de délimitation des espèces²⁵¹. C'est notamment le cas pour *Limnospira maxima* et *L. platensis*.

La confirmation de l'assignation de l'espèce peut être réalisée avec les méthodes de comparaison génomiques ANI et dDDH que nous avons utilisées dans les chapitres II et III à condition de disposer des génomes. A défaut, nous considérons qu'il est préférable de ne pas

conclure sur l'espèce au risque d'une fausse assignation ou d'une création infondée d'une nouvelle espèce.

La méthode dDDH présente des valeurs qui s'éloignent brusquement du seuil de délimitation dès lors que l'on compare des espèces différentes ²⁴⁶ (Figure 5, chapitre III). Cette caractéristique rend cette méthode inutilisable pour délimiter les genres mais plus fiable pour délimiter les espèces avec des valeurs plus contrastées que celles de la méthode ANI comme observé dans les résultats du chapitre II.

3. Microcystines dans les produits spirulines

3.1. Interprétation des résultats d'analyse

Les résultats du chapitre I montrent une détection de MCs dans 58% des échantillons de paillettes de spiruline analysés avec la méthode Adda-ELISA. Quatre échantillons sur les 623 analysés présentent un taux de MCs supérieur à la limite réglementaire (1 ppm) avec un maximum de 1,31 ppm. Ces quatre échantillons, ainsi qu'un cinquième présentant un taux de MCs à 0,6 ppm, ont également été analysés avec la méthode HPLC-MS/MS qui n'a pas confirmé les résultats précédents sur les 9 variants de MCs recherchés. Ces variants incluent les MC-LR, MC-LA et MC-YR qui sont les MCs les plus toxiques ^{49,52}.

Enfin, nonobstant l'exactitude des taxons identifiés, aucune corrélation n'a pu être établie entre les résultats d'analyse MCs et les identifications et dénombrements de cyanobactéries (chapitre I).

Ces résultats d'analyse de MCs concordent avec ceux présentés dans l'introduction (Tableau 5), relatifs à des spirulines commercialisées en Europe : d'un côté des détections de MCs avec la méthode Adda-ELISA et de l'autre l'absence de détection des variants de MCs recherchés avec des méthodes de chromatographie couplées à de la spectrométrie de masse.

Pour expliquer ces différences de résultats selon les méthodes utilisées, plusieurs hypothèses sont relatives à la méthode Adda-ELISA qui cible spécifiquement l'acide aminé Adda pour détecter et quantifier les MCs :

i) Sur matrice BGAS, une autre méthode ELISA (kit EnviroLogix EP-022, non Adda-ELISA) a montré une bonne corrélation des quantifications de MCs avec une méthode LC-MS ⁸³. La méthode Adda-ELISA est susceptible de réagir avec les produits de dégradation des MCs contenant le groupe Adda ¹⁹², ce qui peut conduire à une surestimation des concentrations réelles de MCs.

ii) L'acide aminé Adda est commun aux MCs et aux nodularines (NODs). Ces dernières n'étaient pas recherchées dans les études basées sur la LC et la MS évoquées ci-avant. Il est donc possible que les échantillons testés positifs par Adda-ELISA aient été contaminés par des NODs et non pas par des MCs. Toutefois, les résultats présentés dans les chapitres I et III n'ont pas permis d'identifier, dans les cultures ou produits spiruline, des cyanobactéries de l'ordre des Nostocales dans lesquelles on trouve les taxons pouvant être associés à la production de NODs.

iii) Les méthodes d'analyses basées sur la LC et la MS ne peuvent détecter que les 8 à 10 variants de MCs recherchés. Il est donc possible que les échantillons soient contaminés par d'autres variants de MCs. Cette hypothèse nous semble peu solide dans la mesure où ces

variants recherchés, incluant les MC-LR, MC-RR, MC-LA, MC-LF, MC-LY, MC-LW, MC-YR, sont les plus couramment produits par les cyanobactéries productrices de MCs ⁴⁷.

En comparaison, ces résultats d'analyse de MCs sur des produits spirulines sont différents de ceux obtenus sur des échantillons de Klamath (*Aphanizomenon flos-aquae*). Ces derniers sont positifs aux MCs quelle que soit la méthode d'analyse utilisée (Tableau 5 de l'introduction). Heussner et al. ¹⁰⁰ ont par ailleurs montré une forte corrélation entre les résultats obtenus avec la méthode Adda-ELISA et ceux obtenus avec la méthode LC-MS/MS sur neuf échantillons de Klamath. On peut en déduire que ces analyses Adda-ELISA réalisées sur la Klamath détectent bien des MCs et en particulier les variants recherchés par LC-MS/MS (MC-LR, MC-LA, MC-RR, MC-YR, MC-LF, MC-LW, [As p3]-MC-RR et [Asp3]-MC-LR dans l'étude précitée).

Heussner et al. ont également montré avec une analyse PCR que des échantillons de Klamath positifs aux MCs contenaient le gène *mcyE*.

La Klamath a été associée à plusieurs reprises à la cyanobactérie *Microcystis*. L'étude de Gilroy et al. ⁷⁴ montrant la contamination de produits Klamath par des MCs à des niveaux atteignant 18 ppm faisait suite à une prolifération de *M. aeruginosa* dans le lac Klamath dans lequel est récoltée *Aphanizomenon flos-aquae*. Le congénère principalement détecté dans cette étude était la MC-LR. Van Hassel et al. ont montré la présence de *Microcystis sp.* par une analyse phylogénétique de séquence *mcyE* présentes dans des échantillons de Klamath positif aux MCs, à des niveaux atteignant 5 ppm, détectées par HPLC-MS/MS. Les variants identifiés étaient les MC-LR, MC-LA, MC-LY, MC-RR et MC-YR.

Cette comparaison des résultats relatifs à la spiruline et à la Klamath est riche d'enseignements. Dans le cas de la Klamath, les détections de MCs concernent les variants les plus répandus de MCs, ce qui explique la bonne corrélation entre les résultats d'analyses réalisés avec les méthodes Adda-ELISA et LC-MS/MS. Ces contaminations sont associées à la présence de *Microcystis sp.* ce qui est cohérent avec les taux élevés de MCs constatés ²⁰⁸.

Dans le cas des spirulines, les niveaux de contamination sont i) beaucoup plus faibles, ii) ne concernent pas les principaux variants de MCs et iii) n'ont pas pu être associés à un taxon de cyanobactéries connues pour produire des MCs.

Dès lors, nous pouvons poser l'hypothèse que les résultats positifs des analyses Adda-ELISA ne correspondent pas à des cyanotoxines produites par des cyanobactéries présentes dans les cultures de spiruline.

Pour confirmer ou infirmer cette hypothèse il sera nécessaire de mener des études complémentaires sur les produits et cultures de spiruline combinant des analyses Adda-ELISA, la recherche du gène *mcyE* (sur les échantillons positifs) et, le cas échéant, des analyses phylogénétiques des séquences obtenues pour identifier d'éventuelles cyanobactéries potentiellement productrices de MCs.

La dégradation des MCs produit des composés qui contiennent l'acide aminé Adda comme l'on montré Yang et al. ³²¹ en étudiant la biodégradation de la MC-LR réalisée par *Sphingopyxis* sp. On constate que l'acide aminé Adda est conservé durant plusieurs étapes de cette biodégradation (Figure 1).

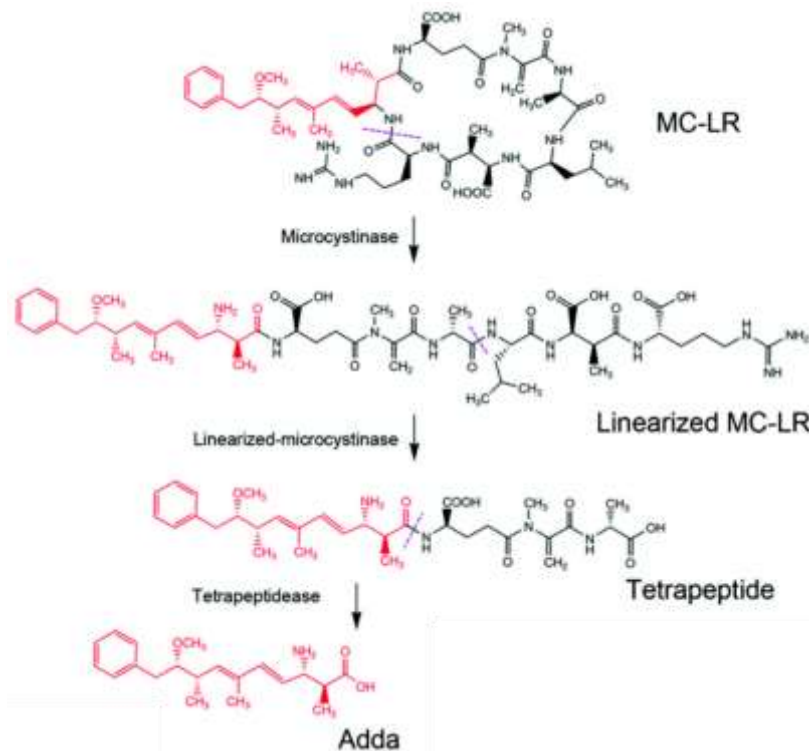


Figure 1. Premières étapes de la biodégradation de la MC-LR par *Sphingopyxis* sp. D'après Yang et al., 2020, Elsevier Ltd.

Notons que la perte de sa structure cyclique rend la MC-LR non toxique en réduisant considérablement son interaction avec sa cible ³²².

Kumar et al. ³²³ ont également montré que la biodégradation de la MC-LR, par les bactéries *Pseudomonas* sp. et *Chryseobacterium* sp. dans des unités de traitement de l'eau potable, produit des composés qui contiennent l'acide aminé Adda.

D'autres bactéries - incluant des α -proteobacteria , β -proteobacteria, γ -proteobacteria, Actinobacteria et Bacilli - ont été identifiées comme pouvant dégrader divers variants de MCs ³²⁴. Toutes ces voies de biodégradations n'ont pas été étudiées, mais il est probable qu'elles conduisent également à produire des composés intermédiaires contenant l'acide aminé Adda. Ces biodégradations des MCs interviennent en milieu naturel et elles sont aussi utilisées pour le traitement de l'eau destinée à la consommation humaine.

Des méthodes chimiques, incluant l'oxydation avec du ferrate (FeO_4^{2-}) et du chlorure ferrique (FeCl_3), sont également utilisées pour le traitement de l'eau.

Islam et al. ³²⁵ ont montré que la dégradation de la MC-LR par le ferrate produit des composés contenant l'acide aminé Adda. Takenata et Tanaka ^{326,327} ont également identifié l'acide aminé Adda, issu de la dégradation des MCs, dans des eaux de surface et des eaux traitées avec du chlorure ferrique pour la consommation humaine.

Ces différentes études montrent que les eaux utilisées pour cultiver la spiruline sont susceptibles d'être contaminées par des produits de dégradation des MCs d'origine tiers qui contiennent l'acide aminé Adda.

Ces composés étant détectables par les analyses utilisant la méthode Adda-ELISA, nous posons l'hypothèse que les résultats positifs obtenus par cette méthode sur les produits et cultures de spiruline peuvent s'expliquer par une contamination, via l'eau utilisée, par des produits de dégradation des MCs.

Pour confirmer ou infirmer cette hypothèse il sera nécessaire de mener des études sur les eaux utilisées pour cultiver la spiruline en réalisant des analyses Adda-ELISA et, le cas échéant, en réalisant des contre-analyses avec une autre méthode pour distinguer les MCs de leurs produits de dégradation.

3.2. Evaluation du risque microcystine (hépatotoxique) des productions françaises de spiruline

La moyenne des résultats d'analyse Adda-ELISA sur 623 échantillons de spiruline sèche est de 0,21 $\mu\text{g MCs g}^{-1}$ (chapitre I). Au regard de la valeur toxicologique de référence (VTR) établie par l'OMS (0,04 $\mu\text{g MC-LR kg}^{-1} \text{ bw day}^{-1}$) pour une exposition continue, cette moyenne permet d'envisager une consommation quotidienne de plus de 11 g de spiruline sèche pour un individu de 60 kg. Une quantité supérieure aux 3 à 5 g généralement conseillés par la profession. Pour des expositions de courte durée (15 jours maximum), la VTR est 10 fois supérieure (0,4 $\mu\text{g MC-LR kg}^{-1} \text{ bw day}^{-1}$) ce qui permet d'envisager ponctuellement une consommation plus importante.

Cette discussion a également montré que les résultats d'analyses Adda-ELISA surestiment probablement les teneurs en MC-LR et autres congénères de MCs réputés toxiques. Cela a été démontré pour les cinq échantillons ayant fait l'objet d'une contre-analyse par HPLC-MS/MS.

Au vue des connaissances dégagées par nos travaux, nous pouvons conclure que les spirulines produites par la filière paysanne française ne présentent pas de risque sanitaire lié aux MCs.

Cependant, le risque MCs doit être appréhendé dans le contexte global de l'alimentation. Les exemples présentés en introduction (Tableau 4), montrent que de nombreux secteurs alimentaires peuvent être impactés par les cyanotoxines. Les produits issus de l'aquaculture, de la pêche, de l'élevage et des cultures irriguées peuvent contenir des cyanotoxines avec parfois des teneurs présentant un risque de santé aigu. Ainsi, un niveau de contamination record de 18 mg MC-LR $\text{kg}^{-1} \text{ FW}$ a été détecté par LC-MS dans des écrevisses en Espagne⁹³.

Dès lors, la profession doit se fixer l'objectif de produire de la spiruline « zéro-cyanotoxines ».

3.3. Limitations de l'étude

Nos résultats relatifs à la détection et la quantification de cyanotoxines dans les produits spiruline concernent uniquement les microcystines. Roy-Lachapelle et al.¹⁷¹ ont détecté deux variants d'anatoxines dans trois échantillons de produits spiruline sur 14 analysés avec une méthode couplant chromatographie et spectrométrie. Papadimitriou et al.¹⁰⁴ ont détecté de

la cylindrospermopsin dans deux échantillons de produits spiruline sur 31 analysés avec une méthode ELISA (Kit Abraxis 522011). Bien que ces échantillons ne provenaient pas de la filière française, ces exemples montrent la nécessité de rester prudent et d'étendre les études, et probablement la surveillance des cultures, à d'autres cyanotoxines.

4. Recommandations

Pour diminuer le risque de contamination des cultures de spiruline par d'autres cyanobactéries, les mesures préventives suivantes sont recommandées :

Utiliser des inocula exempts de cyanobactérie contaminante. Au vu de cette recommandation, la pratique d'échange de souches non contrôlées entre producteurs doit être remise en question.

Conduire les cultures dans des conditions de salinité et d'alcalinité élevées.

Pour la surveillance des cultures et des productions au regard du risque de contamination, les mesures suivantes sont recommandées :

Privilégier l'observation microscopique des cultures sur site pour détecter la présence de cyanobactéries contaminantes.

Consacrer des moyens de formation et d'équipement pour que les producteurs puissent mener ces observations sur site.

Utiliser la méthode Adda-ELISA pour détecter les microcystines et nodularines dans les produits spiruline. Cette méthode détecte tous les congénères de microcystines et de nodularines ainsi que leurs produits de dégradation. Elle est donc susceptible de produire des faux positifs en termes de détection de MCs, notamment la MC-LR, mais elle est la plus prudentielle du point de vue de la sécurité sanitaire. Les échantillons présentant un résultat positif devraient être analysés avec une autre méthode pour vérifier la présence des congénères toxiques, notamment la MC-LR.

Nos travaux ont montré que les cyanobactéries formellement identifiées dans les échantillons de cultures de spiruline ne peuvent être associées à la production de cyanotoxines. Nous n'avons pas pu identifier les causes, endogènes ou exogènes aux cultures, qui conduisent à obtenir des résultats positifs d'analyses Adda-ELISA sur des produits ou cultures de spiruline.

Il est dès lors nécessaire de mener des études supplémentaires pour déterminer ce qui génère ces résultats positifs en incluant les eaux utilisées par les producteurs dans le champ des recherches.

Enfin, le critère morphologique permettant de distinguer les deux espèces de *Limnospira* devra être confirmé par une étude vérifiant que les souches de *L. platensis* ont systématiquement une morphologie spiralée régulière.

Conclusion Générale

Le premier objectif de cette thèse était d'apporter des connaissances sur les contaminations, par des cyanotoxines et par des cyanobactéries, des cultures et des productions de spiruline issues de la filière paysanne française.

L'examen de 623 résultats d'analyses de microcystines (MCs), réalisées avec la méthode Adda-ELISA, sur des spirulines produites par cette filière, a montré que les concentrations détectées étaient en moyenne cinq fois inférieures à la limite réglementaire. Sur les échantillons présentant les concentrations les plus élevées, les contre-analyses réalisées avec une méthode LC-MS/MS n'ont pas confirmé les résultats de la méthode Adda-ELISA. Par ailleurs, aucune corrélation n'a pu être établie entre ces derniers et les taxons de cyanobactéries, identifiés par des méthodes morpho-taxonomiques, présents dans les cultures de spiruline. L'ensemble de ces résultats suggèrent une contamination des cultures par des produits de dégradation des MCs, via les apports en eaux.

De plus, une analyse métagénomique réalisée sur six échantillons de culture a montré la présence de cyanobactéries halo-alcalophiles qui ne sont pas associées à la production de cyanotoxines. Parmi celles-ci, le genre *Sodalinema* s'avère être un contaminant dominant et récurrent. Sa caractérisation génétique a démontré sa non-toxicité. A contrario, l'analyse d'un échantillon environnemental issu de l'étang Monro, où se développe la souche de spiruline camarguaise, a révélé la présence de cyanobactéries Nostocales et Synechococcales potentiellement toxiques.

Nos travaux, étayés par la littérature scientifique, montrent que des environnements sodiques et alcalins, tels que les milieux de cultures de spiruline utilisés en France, ne sont pas propices au développement des genres de cyanobactéries connus pour être les principaux producteurs de MCs.

En conclusion, les résultats de nos travaux montrent que les productions de spiruline issues de la filière paysanne française ne présentent pas de risque sanitaire lié aux contaminations par des microcystines.

Le second objectif de cette thèse consistait à identifier les différentes espèces de spiruline cultivées en France et à vérifier si ces taxons, en particulier *Limnospira fusiformis* peuvent produire des cyanotoxines.

Nos travaux nous ont conduits à proposer une révision taxonomique des spirulines qui résout la confusion qui affectait leur nomenclature. Des comparaisons génomiques entre 22 souches ont démontré qu'il n'existe que deux espèces de spiruline : *Limnospira maxima* et *Limnospira platensis*. En conséquence, les appellations *L. fusiformis* et *L. indica* sont des synonymes hétérotypes de *L. maxima*.

Une analyse de 22 génomes de spiruline - 11 de chaque espèce - réalisée avec trois méthodes différentes a démontré l'absence de séquence génétique pouvant être associée à la production de cyanotoxines. Nous avons démontré en particulier que la souche de spiruline camarguaise, une *Limnospira maxima*, est non toxique et qu'elle peut être mise en production.

Pour conclure, nous pouvons affirmer que les souches de spiruline cultivées en France sont non toxiques et que leur nomenclature autorise leur utilisation au regard des réglementations françaises et internationales.

Nos travaux apportent des réponses scientifiques aux principales questions développées dans l'introduction. D'une part, nous démontrons les hypothèses de la non-toxicité et d'une séparation en deux espèces du genre *Limnospira*. D'autre part, nous apportons des connaissances sur les contaminations par des microcystines et la cyanosphère des cultures de spiruline, notamment sur le genre *Sodalinema*. Enfin, nous établissons des hypothèses pour expliquer les résultats positifs des analyses Adda-ELISA.

Références Bibliographiques

1. Ballot, A., Krienitz, L., Kotut, K., Wiegand, C., Metcalf, J.S., Codd, G.A., and Pflugmacher, S. (2004). Cyanobacteria and cyanobacterial toxins in three alkaline Rift Valley lakes of Kenya—Lakes Bogoria, Nakuru and Elmenteita. *J. Plankton Res.* 26, 925–935. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbh084>.
2. Ballot, A., Krienitz, L., Kotut, K., Wiegand, C., and Pflugmacher, S. (2005). Cyanobacteria and cyanobacterial toxins in the alkaline crater lakes Sonachi and Simbi, Kenya. *Harmful Algae* 4, 139–150. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2004.01.001>.
3. Fox, R.D. (1996). *Spirulina : production & potential* (Edisud).
4. Ciferri, O. (1983). *Spirulina, the Edible Microorganism*. *Microbiol. Rev.* 47, 551--578. <https://doi.org/10.1128%2Fmr.47.4.551-578.1983>.
5. Capelli, B., and Cysewski, G.R. (2010). Potential health benefits of spirulina microalgae. *Nutrafoods* 9, 19–26. <https://doi.org/doi.org/10.1007/BF03223332>.
6. FAO Fisheries Division - Yearbook of Fishery and Aquaculture Statistics (2022). https://www.fao.org/fishery/static/Yearbook/YB2019_USBcard/navigation/index_intro_e.htm.
7. Hendrickx, L., De Wever, H., Hermans, V., Mastroleo, F., Morin, N., Wilmotte, A., Janssen, P., and Mergeay, M. (2006). Microbial ecology of the closed artificial ecosystem MELiSSA (Micro-Ecological Life Support System Alternative): reinventing and compartmentalizing the Earth's food and oxygen regeneration system for long-haul space exploration missions. *Res. Microbiol.* 157, 77–86.
8. Poughon, L., Laroche, C., Creuly, C., Dussap, C.-G., Paille, C., Lasseur, C., Monsieurs, P., Heylen, W., Coninx, I., Mastroleo, F., et al. (2020). *Limnospira indica* PCC8005 growth in photobioreactor: model and simulation of the ISS and ground experiments. *Life Sci. Space Res.* 25, 53–65. <https://doi.org/10.1016/j.lssr.2020.03.002>.
9. FSF Spiruline Française - Fédération des Spiruliniers de France. <https://www.spiruliniersdefrance.fr/>. <https://www.spiruliniersdefrance.fr/>.
10. Enquête aquaculture 2022|Agreste, la statistique agricole <https://agreste.agriculture.gouv.fr/agreste-web/disaron/Chd2403/detail/>.
11. Jourdan, J.-P. (2018). Manuel de culture artisanale de spiruline. https://www.spiruliniersdefrance.fr/pdf/JP-JOURDAN-Manuel-cult-art-spiruline-_MAJ-02.02.2018.pdf.
12. UE (2014). Regulation (EC) No 1924/2006 of the european parliament and of the council of 20 December 2006 on nutrition and health claims made on foods.
13. UE (2011). Règlement (UE) n o 1169/2011 du Parlement européen et du Conseil du 25 octobre 2011 concernant l'information des consommateurs sur les denrées alimentaires, modifiant les règlements (CE) n o 1924/2006 et (CE) n o 1925/2006 du Parlement européen et du Conseil et abrogeant la directive 87/250/CEE de la Commission, la directive 90/496/CEE du Conseil, la directive 1999/10/CE de la Commission, la directive 2000/13/CE du Parlement européen et du Conseil, les directives 2002/67/CE et 2008/5/CE de la Commission et le règlement (CE) n o 608/2004 de la Commission Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE.
14. Gershwin, M.E., and Belay, A. eds. (2008). *Spirulina in human nutrition and health* (CRC Press).
15. de la Jara, A., Ruano-Rodriguez, C., Polifrone, M., Assunção, P., Brito-Casillas, Y., Wägner, A.M., and Serra-Majem, L. (2018). Impact of dietary *Arthrospira* (*Spirulina*) biomass consumption on human health: main health targets and systematic review. *J. Appl. Phycol.* 30, 2403–2423. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1468-4>.

16. EFSA (2012). "General function" health claims under Article 13 | EFSA. <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/general-function-health-claims-under-article-13>.
17. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) (2010). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to various food(s)/food constituent(s) and protection of cells from premature aging, antioxidant activity, antioxidant content and antioxidant properties, and protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA J.* 8, 1489. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1489>.
18. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) (2010). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to various food(s)/food constituent(s) claiming maintenance of normal blood glucose concentrations (ID 1987, 2091, 2135, 2179, 2335, 2461, 2642, 3145, 3230, 3244, 3258, 3291, 3345, 3375, 3408, 3438, 3457, 3471, 3528, 3534, 3540, 3554, 3557, 3583, 3625, 3628, 3730, 3782, 3851, 3971, 4034, 4043) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA J.* 8, 1490. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1490>.
19. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) (2011). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to beta carotene and protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage (ID 19, 197, 1262, 1460), protection of the skin from UV-induced (including photo-oxidative) damage (ID 178, 197, 1263, 1461, 1968, 2320) and maintenance of the normal function of the immune system (ID 200, 1462) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA J.* 9, 2021. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2021>.
20. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) (2009). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to gamma linolenic acid and reduction of inflammation (ID 1772) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA J.* 7, 1234. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1234>.
21. Ho, L.W. and J.A. (2007). Antioxidative and Hepatoprotective Effects of Spirulina. In *Spirulina in Human Nutrition and Health* (CRC Press).
22. Chopra, K., and Bishnoi, M. (2007). Antioxidant Profile of Spirulina: A Blue-Green Microalga. In *Spirulina in Human Nutrition and Health* (CRC Press).
23. Chu, W.-L., Lim, Y.-W., Radhakrishnan, A.K., and Lim, P.-E. (2010). Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. *BMC Complement. Altern. Med.* 10, 53. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-10-53>.
24. Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., and Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn. Rev.* 4, 118–126. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>.
25. Falquet, J., and Hurni, J.P. (1986). *Spiruline: aspects nutritionnels* (Flamant vert France).
26. Puyfoulhoux, G., Rouanet, J.-M., Besançon, P., Baroux, B., Baccou, J.-C., and Caporiccio, B. (2001). Iron Availability from Iron-Fortified Spirulina by an in Vitro Digestion/Caco-2 Cell Culture Model. *J. Agric. Food Chem.* 49, 1625–1629. <https://doi.org/10.1021/jf001193c>.
27. Leal-Esteban, L.C., Nogueira, R.C., Veauvy, M., Mascarenhas, B., Mhatre, M., Menon, S., Graz, B., and von der Weid, D. (2021). Spirulina supplementation: A double-blind, randomized, comparative study in young anemic Indian women. *Clin. Epidemiol. Glob. Health* 12, 100884. <https://doi.org/10.1016/j.cegh.2021.100884>.
28. UE (2015). Règlement (UE) 2015/2283 du Parlement européen et du Conseil du 25 novembre 2015 relatif aux nouveaux aliments, modifiant le règlement (UE) n° 1169/2011 du Parlement européen et du Conseil et abrogeant le règlement (CE) n° 258/97 du Parlement européen et du Conseil et le règlement (CE) n° 1852/2001 de la Commission (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE).

29. FR Arrêté du 24 juin 2014 établissant la liste des plantes, autres que les champignons, autorisées dans les compléments alimentaires et les conditions de leur emploi.
30. Marles, R.J., Barrett, M.L., Barnes, J., Chavez, M.L., Gardiner, P., Ko, R., Mahady, G.B., Dog, T.L., Sarma, N.D., Giancaspro, G.I., et al. (2011). United States Pharmacopeia Safety Evaluation of *Spirulina*. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* *51*, 593–604. <https://doi.org/10.1080/10408391003721719>.
31. Piccolo, A. (2011). *Spirulina*: a livelihood and a business venture.
32. FAO Accueil | CODEXALIMENTARIUS FAO-WHO. <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/home/fr/>.
33. Fužinato, S., Fodora, A., and Subakov-Simić, G. (2010). *Arthrospira fusiformis* (Voronichin) Komarek et Lund (Cyanoprokaryota) A new species for Europe. *Algol. Stud.* *134*, 17–24. <https://doi.org/10.1127/1864-1318/2010/0134-0017>.
34. Herdman, M., Janvier, M., Waterbury, J.B., Rippka, R., Stanier, R.Y., and Mandel, M. (1979). Deoxyribonucleic Acid Base Composition of Cyanobacteria. *J. Gen. Microbiol.* *111*, 63–71. <https://doi.org/10.1099/00221287-111-1-63>.
35. Sili, C., Torzillo, G., and Vonshak, A. (2012). *Arthrospira* (*Spirulina*). In *Ecology of cyanobacteria II* (Springer), pp. 677–705.
36. Tomaselli, L. (1997). Morphology, ultrastructure and taxonomy of *Arthrospira* (*Spirulina*) *maxima* and *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*. *Spirulina Platensis Arthrospira Physiol. Cell-Biol. Biotechnol.*, 1–16.
37. Scheldeman, P., Baurain, D., Bouhy, R., Scott, M., Mühling, M., Whitton, B.A., Belay, A., and Wilmotte, A. (1999). *Arthrospira* ('*Spirulina*') strains from four continents are resolved into only two clusters, based on amplified ribosomal DNA restriction analysis of the internally transcribed spacer. *FEMS Microbiol. Lett.* *172*, 213–222. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13471.x>.
38. Baurain, D., Renquin, L., Grubisic, S., Scheldeman, P., Belay, A., and Wilmotte, A. (2002). Remarkable conservation of Internally Transcribed Spacer sequences of *Arthrospira* (*Spirulina*) (*Cyanophyceae*, *Cyanobacteria*) strains from four continents and of recent and 30-year-old dried samples from Africa. *J. Phycol.* *38*, 384–393. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2002.01010.x>.
39. Li, R., Debella, H.J., and Carmichael, W.W. (2001). Isolates identifiable as *Arthrospira maxima* and *Arthrospira fusiformis* (*Oscillatoriales*, *Cyanobacteria*) appear identical on the basis of a morphological study in culture and 16S rRNA gene sequences. *Phycologia* *40*, 367–371. <https://doi.org/10.2216/i0031-8884-40-4-367.1>.
40. Manen, J.-F., and Falquet, J. (2002). The *cpcB-cpcA* locus as a tool for the genetic characterization of the genus *Arthrospira* (*Cyanobacteria*): evidence for horizontal transfer. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* *52*, 861–867. <https://doi.org/10.1099/00207713-52-3-861>.
41. Miklaszewska, M., Waleron, M., Morin, N., Calusinska, M., Wilmotte, A., Tandeau De Marsac, N., Rippka, R., and Waleron, K. (2012). Elucidation of the gas vesicle gene clusters in cyanobacteria of the genus *Arthrospira* (*Oscillatoriales*, *Cyanophyta*) and correlation with ITS phylogeny. *Eur. J. Phycol.* *47*, 233–244. <https://doi.org/10.1080/09670262.2012.692817>.
42. Nowicka-Krawczyk, P., Mühlsteinová, R., and Hauer, T. (2019). Detailed characterization of the *Arthrospira* type species separating commercially grown taxa into the new genus *Limnospira* (*Cyanobacteria*). *Sci. Rep.* *9*, 694. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36831-0>.
43. Papapanagiotou, G., and Gkelis, S. (2019). Taxonomic revision of commercially used *Arthrospira* (*Cyanobacteria*) strains: a polyphasic approach. *Eur. J. Phycol.* *54*, 595–608. <https://doi.org/10.1080/09670262.2019.1624832>.

44. Misztak, A.E., Waleron, M., Furmaniak, M., Waleron, M.M., Bazhenova, O., Daroch, M., and Waleron, K.F. (2021). Comparative genomics and physiological investigation of a new *Arthrospira/Limnospira* strain O9. 13F isolated from an alkaline, winter freezing, siberian lake. *Cells* 10, 3411. <https://doi.org/doi.org/10.3390/cells10123411>.
45. Roussel, T., Halary, S., Duval, C., Piquet, B., Cadoret, J.-P., Vernès, L., Bernard, C., and Marie, B. (2023). Monospecific renaming within the cyanobacterial genus *Limnospira* (*Spirulina*) and consequences for food authorization. *J. Appl. Microbiol.* 134, lxad159. <https://doi.org/10.1093/jambio/lxad159>.
46. Parte, A.C., Sardà Carbasse, J., Meier-Kolthoff, J.P., Reimer, L.C., and Göker, M. (2020). List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 70, 5607–5612. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004332>.
47. Chorus, I., and Welker, M. (2021). *Toxic Cyanobacteria in Water A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management* Second Edition. *Toxic Cyanobacteria Water*, 109. <https://doi.org/10.1201/9781003081449>.
48. Bernard, C., Ballot, A., Thomazeau, S., Maloufi, S., Furey, A., Mankiewicz Boczek, J., Pawlik Skowronska, B., Capelli, C., and Salmasso, N. (2017). Cyanobacteria associated with the production of cyanotoxins. In *Handbook on cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis* (Wiley), pp. 501–525.
49. Lalić, D. (2024). Cyanobacterial Toxins: Foes from the Water. In <https://doi.org/10.5772/intechopen.1005888>.
50. Buratti, F.M., Manganelli, M., Vichi, S., Stefanelli, M., Scardala, S., Testai, E., and Funari, E. (2017). Cyanotoxins: producing organisms, occurrence, toxicity, mechanism of action and human health toxicological risk evaluation. *Arch. Toxicol.* 91, 1049–1130. <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1913-6>.
51. ANSES OPINION on the proposed TRV by the oral route for microcystin-LR (CAS No. 101043-37-2) (2019). Anses - Agence Natl. Sécurité Sanit. L'alimentation L'environnement Trav. <https://anmv.anses.fr/en/content/anses-opinion-proposed-trv-oral-route-microcystin-lr-cas-no-101043-37-2>.
52. World Health Organization (2020). Cyanobacterial toxins: microcystins. Background document for development of WHO Guidelines for drinking-water quality and Guidelines for safe recreational water environments.
53. Bashir, F., Bashir, A., Bouaïcha, N., Chen, L., Codd, G.A., Neilan, B., Xu, W.-L., Ziko, L., Rajput, V.D., Minkina, T., et al. (2023). Cyanotoxins, biosynthetic gene clusters, and factors modulating cyanotoxin biosynthesis. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 39, 241. <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03652-x>.
54. Tillett, D., Dittmann, E., Erhard, M., Döhren, H. von, Börner, T., and Neilan, B.A. (2000). Structural organization of microcystin biosynthesis in *Microcystis aeruginosa* PCC7806: an integrated peptide–polyketide synthetase system. *Chem. Biol.* 7, 753–764. [https://doi.org/10.1016/S1074-5521\(00\)00021-1](https://doi.org/10.1016/S1074-5521(00)00021-1).
55. Christiansen, G., Fastner, J., Erhard, M., Börner, T., and Dittmann, E. (2003). Microcystin Biosynthesis in *Planktothrix*: Genes, Evolution, and Manipulation. *J. Bacteriol.* 185, 564–572. <https://doi.org/10.1128/jb.185.2.564-572.2003>.
56. Genes Coding for Hepatotoxic Heptapeptides (Microcystins) in the Cyanobacterium *Anabaena* Strain 90 | Applied and Environmental Microbiology <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/aem.70.2.686-692.2004>.

57. Moffitt, M.C., and Neilan, B.A. (2004). Characterization of the Nodularin Synthetase Gene Cluster and Proposed Theory of the Evolution of Cyanobacterial Hepatotoxins. *Appl. Environ. Microbiol.* *70*, 6353–6362. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.11.6353-6362.2004>.
58. Chorus, I. (2001). Toxic Effects and Substances in Cyanobacteria other than Microcystins, Anatoxin-a and Saxitoxins. In *Cyanotoxins: Occurrence, Causes, Consequences*, I. Chorus, ed. (Springer), pp. 281–315. https://doi.org/10.1007/978-3-642-59514-1_7.
59. Méjean, A., Paci, G., Gautier, V., and Ploux, O. (2014). Biosynthesis of anatoxin-a and analogues (anatoxins) in cyanobacteria. *Toxicon* *91*, 15–22.
60. Méjean, A., Mann, S., Maldiney, T., Vassiliadis, G., Lequin, O., and Ploux, O. (2009). Evidence that biosynthesis of the neurotoxic alkaloids anatoxin-a and homoanatoxin-a in the cyanobacterium *Oscillatoria* PCC 6506 occurs on a modular polyketide synthase initiated by L-proline. *J. Am. Chem. Soc.* *131*, 7512–7513.
61. Llewellyn, L.E. (2006). Saxitoxin, a toxic marine natural product that targets a multitude of receptors. *Nat. Prod. Rep.* *23*, 200–222.
62. Cusick, K.D., and Saylor, G.S. (2013). An overview on the marine neurotoxin, saxitoxin: genetics, molecular targets, methods of detection and ecological functions. *Mar. Drugs* *11*, 991–1018.
63. D'Agostino, P.M., Moffitt, M.C., and Neilan, B.A. (2014). Current knowledge of paralytic shellfish toxin biosynthesis, molecular detection and evolution. *Toxins Biol. Act. Compd. Microalgae* *1*, 251–280.
64. Kellmann, R., Mihali, T.K., Jeon, Y.J., Pickford, R., Pomati, F., and Neilan, B.A. (2008). Biosynthetic intermediate analysis and functional homology reveal a saxitoxin gene cluster in cyanobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* *74*, 4044–4053.
65. World Health Organization (2020). Cyanobacterial toxins: cylindrospermopsins. Background document for development of WHO Guidelines for drinking-water quality and guidelines for safe recreational water environments. (World Health Organization).
66. Mihali, T.K., Kellmann, R., Muenchhoff, J., Barrow, K.D., and Neilan, B.A. (2008). Characterization of the gene cluster responsible for cylindrospermopsin biosynthesis. *Appl. Environ. Microbiol.* *74*, 716–722.
67. Breinlinger, S., Phillips, T.J., Haram, B.N., Mareš, J., Martínez Yerena, J.A., Hrouzek, P., Sobotka, R., Henderson, W.M., Schmieder, P., and Williams, S.M. (2021). Hunting the eagle killer: A cyanobacterial neurotoxin causes vacuolar myelinopathy. *Science* *371*, eaax9050.
68. Cadel-Six, S., Dauga, C., Castets, A.M., Rippka, R., Bouchier, C., Tandeau de Marsac, N., and Welker, M. (2008). Halogenase Genes in Nonribosomal Peptide Synthetase Gene Clusters of *Microcystis* (Cyanobacteria): Sporadic Distribution and Evolution. *Mol. Biol. Evol.* *25*, 2031–2041. <https://doi.org/10.1093/molbev/msn150>.
69. Codd, G.A., and Nunn, P.B. (2019). Cyanotoxin production beyond the cyanobacteria. *Toxicon* *168*, 93–94. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.06.226>.
70. Nunn, P.B. (2017). 50 years of research on α -amino- β -methylaminopropionic acid (β -methylaminoalanine). *Phytochemistry* *144*, 271–281. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.10.002>.
71. Pierozan, P., Cattani, D., and Karlsson, O. (2020). Hippocampal neural stem cells are more susceptible to the neurotoxin BMAA than primary neurons: effects on apoptosis, cellular differentiation, neurite outgrowth, and DNA methylation. *Cell Death Dis.* *11*, 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-03093-6>.

72. Cox, P.A., Banack, S.A., Murch, S.J., Rasmussen, U., Tien, G., Bidigare, R.R., Metcalf, J.S., Morrison, L.F., Codd, G.A., and Bergman, B. (2005). Diverse taxa of cyanobacteria produce β -N-methylamino-l-alanine, a neurotoxic amino acid. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *102*, 5074–5078. <https://doi.org/10.1073/pnas.0501526102>.
73. Mantas, M.J.Q., Nunn, P.B., Codd, G.A., and Barker, D. (2022). Genomic insights into the biosynthesis and physiology of the cyanobacterial neurotoxin 3-N-methyl-2,3-diaminopropanoic acid (BMAA). *Phytochemistry* *200*, 113198. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2022.113198>.
74. Gilroy, D.J., Kauffman, K.W., Hall, R.A., Huang, X., and Chu, F.S. (2000). Assessing potential health risks from microcystin toxins in blue-green algae dietary supplements. *Environ. Health Perspect.* *108*, 435–439.
75. Chen, Y., Xu, J., Li, Y., and Han, X. (2011). Decline of sperm quality and testicular function in male mice during chronic low-dose exposure to microcystin-LR. *Reprod. Toxicol.* *31*, 551–557. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2011.02.006>.
76. World Health Organization (2020). Cyanobacterial toxins: anatoxin-a and analogues. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality and Guidelines for Safe Recreational Water Environments. (World Health Organization).
77. ANSES (2020). ANSES opinion on the update of the risk assessment on the presence of cyanobacteria and their toxins in drinking water, recreational water and water intended for professional and recreational fishing activities.
78. ANSES (2019). Avis de l'ANSES relatif à la proposition de VTR subchronique par voie orale pour la cylindrospermopsine.
79. World Health Organization (2020). Cyanobacterial toxins: saxitoxins. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality and Guidelines for Safe Recreational Water Environments. (World Health Organization).
80. ANSES (2020). AVIS et RAPPORT de l'Anses relatif à la proposition de VTR aiguë par voie orale pour la saxitoxine (CAS n °35523-89-8). Anses - Agence Natl. Sécurité Sanit. L'alimentation L'environnement Trav. <https://www.anses.fr/fr/content/avis-et-rapport-de-lanses-relatif-%C3%A0-la-proposition-de-vtr-aigu%C3%AB-par-voie-orale-pour-la>.
81. Testai, E., Buratti, F.M., Funari, E., Manganelli, M., Vichi, S., Arnich, N., Biré, R., Fessard, V., and Sialehaamo, A. (2016). Review and analysis of occurrence, exposure and toxicity of cyanobacteria toxins in food. *EFSA Support. Publ.* *13*. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2016.EN-998>.
82. Chu, F.S., Huang, X., Wei, R.D., and Carmichael, W.W. (1989). Production and characterization of antibodies against microcystins. *Appl. Environ. Microbiol.* *55*, 1928–1933. <https://doi.org/10.1128/aem.55.8.1928-1933.1989>.
83. Lawrence, J.F., Niedzwiedek, B., Menard, C., Lau, B.P., Lewis, D., Kuper-Goodman, T., Carbone, S., and Holmes, C. (2001). Comparison of liquid chromatography/mass spectrometry, ELISA, and phosphatase assay for the determination of microcystins in blue-green algae products. *J. AOAC Int.* *84*, 1035–1044.
84. Massey, I.Y., Wu, P., Wei, J., Luo, J., Ding, P., Wei, H., and Yang, F. (2020). A Mini-Review on Detection Methods of Microcystins. *Toxins* *12*, 641. <https://doi.org/10.3390/toxins12100641>.
85. Díez-Quijada, L., Prieto, A.I., Guzmán-Guillén, R., Jos, A., and Cameán, A.M. (2019). Occurrence and toxicity of microcystin congeners other than MC-LR and MC-RR: A review. *Food Chem. Toxicol.* *125*, 106–132. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.12.042>.
86. Van Hassel, W.H.R., Ahn, A.-C., Huybrechts, B., Masquelier, J., Wilmotte, A., and Andjelkovic, M. (2022). LC-MS/MS Validation and Quantification of Cyanotoxins in Algal Food Supplements from

the Belgium Market and Their Molecular Origins. *Toxins* 14, 513. <https://doi.org/10.3390/toxins14080513>.

87. US EPA (2024). Method 545: Determination of Cylindrospermopsin and Anatoxin-a in Drinking Water by Liquid Chromatography Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry (LC/ESI-MS/MS). Natl. Serv. Cent. Environ. Publ. NSCEP. <https://nepis.epa.gov>.
88. Drobac Backović, D., and Tokodi, N. (2024). Cyanotoxins in food: Exposure assessment and health impact. *Food Res. Int.* 184, 114271. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114271>.
89. Papadimitriou, T., Kagalou, I., Stalikas, C., Pilidis, G., and Leonardos, I.D. (2012). Assessment of microcystin distribution and biomagnification in tissues of aquatic food web compartments from a shallow lake and evaluation of potential risks to public health. *Ecotoxicology* 21, 1155–1166. <https://doi.org/10.1007/s10646-012-0870-y>.
90. Gkelis, S., Lanaras, T., and Sivonen, K. (2006). The presence of microcystins and other cyanobacterial bioactive peptides in aquatic fauna collected from Greek freshwaters. *Aquat. Toxicol.* 78, 32–41. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.02.001>.
91. Pawlik-Skowrońska, B., Toporowska, M., and Rechulicz, J. (2012). Simultaneous accumulation of anatoxin-a and microcystins in three fish species indigenous to lakes affected by cyanobacterial blooms. *Oceanol. Hydrobiol. Stud.* 41, 53–65. <https://doi.org/10.2478/s13545-012-0039-6>.
92. Vareli, K., Zarali, E., Zacharioudakis, G.S.A., Vagenas, G., Varelis, V., Pilidis, G., Briasoulis, E., and Sainis, I. (2012). Microcystin producing cyanobacterial communities in Amvrakikos Gulf (Mediterranean Sea, NW Greece) and toxin accumulation in mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Harmful Algae* 15, 109–118. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2011.12.005>.
93. Ríos, V., Moreno, I., Prieto, A.I., Puerto, M., Gutiérrez-Praena, D., Soria-Díaz, M.E., and Cameán, A.M. (2013). Analysis of MC-LR and MC-RR in tissue from freshwater fish (*Tinca tinca*) and crayfish (*Procambarus clarkii*) in tench ponds (Cáceres, Spain) by liquid chromatography–mass spectrometry (LC–MS). *Food Chem. Toxicol.* 57, 170–178. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.03.025>.
94. Codd, G.A., Metcalf, J.S., and Beattie, K.A. (1999). Retention of *Microcystis aeruginosa* and microcystin by salad lettuce (*Lactuca sativa*) after spray irrigation with water containing cyanobacteria. *Toxicon* 37, 1181–1185. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(98\)00244-X](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(98)00244-X).
95. Mazur-Marzec, H., Sutryk, K., Kobos, J., Hebel, A., Hohlfeld, N., Błaszczuk, A., Toruńska, A., Kaczkowska, M.J., Łysiak-Pastuszek, E., Kraśniewski, W., et al. (2013). Occurrence of cyanobacteria and cyanotoxin in the Southern Baltic Proper. Filamentous cyanobacteria versus single-celled picocyanobacteria. *Hydrobiologia* 701, 235–252. <https://doi.org/10.1007/s10750-012-1278-7>.
96. Sipiä, V.O., Sjövall, O., Valtonen, T., Barnaby, D.L., Codd, G.A., Metcalf, J.S., Kilpi, M., Mustonen, O., and Meriluoto, J.A.O. (2006). Analysis of nodularin-R in eider (*Somateria mollissima*), roach (*Rutilus rutilus* L.), and flounder (*Platichthys flesus* L.) liver and muscle samples from the western Gulf of Finland, northern Baltic Sea. *Environ. Toxicol. Chem.* 25, 2834–2839. <https://doi.org/10.1897/06-185R.1>.
97. Masseret, E., Banack, S., Boumediène, F., Abadie, E., Brient, L., Pernet, F., Juntas-Morales, R., Pageot, N., Metcalf, J., Cox, P., et al. (2013). Dietary BMAA Exposure in an Amyotrophic Lateral Sclerosis Cluster from Southern France. *PLOS ONE* 8, e83406. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083406>.
98. Réveillon, D., Abadie, E., Séchet, V., Brient, L., Savar, V., Bardouil, M., Hess, P., and Amzil, Z. (2014). Beta-N-Methylamino-L-Alanine: LC-MS/MS Optimization, Screening of Cyanobacterial Strains and Occurrence in Shellfish from Thau, a French Mediterranean Lagoon. *Mar. Drugs* 12, 5441–5467. <https://doi.org/10.3390/md12115441>.

99. Jiang, L., Kiselova, N., Rosén, J., and Ilag, L.L. (2014). Quantification of neurotoxin BMAA (β -N-methylamino-L-alanine) in seafood from Swedish markets. *Sci. Rep.* *4*, 6931. <https://doi.org/10.1038/srep06931>.
100. Heussner, A.H., Mazija, L., Fastner, J., and Dietrich, D.R. (2012). Toxin content and cytotoxicity of algal dietary supplements. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* *265*, 263–271. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2012.10.005>.
101. Aparicio-Muriana, M. del M., Lara, F.J., Olmo-Iruela, M.D., and García-Campaña, A.M. (2023). Determination of Multiclass Cyanotoxins in Blue-Green Algae (BGA) Dietary Supplements Using Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Toxins* *15*, 127. <https://doi.org/10.3390/toxins15020127>.
102. Vinogradova, T., Danaher, M., Baxter, A., Moloney, M., Victory, D., and Haughey, S.A. (2011). Rapid surface plasmon resonance immunobiosensor assay for microcystin toxins in blue-green algae food supplements. *Talanta* *84*, 638–643.
103. Vichi, S., Lavorini, P., Funari, E., Scardala, S., and Testai, E. (2012). Contamination by *Microcystis* and microcystins of blue–green algae food supplements (BGAS) on the Italian market and possible risk for the exposed population. *Food Chem. Toxicol.* *50*, 4493–4499.
104. Papadimitriou, T., Kormas, K., and Vardaka, E. (2021). Cyanotoxin contamination in commercial *Spirulina* food supplements. *J. Consum. Prot. Food Saf.* *16*, 227–235.
105. Rawn, D.F., Niedzwiadek, B., Lau, B.P.-Y., and Saker, M. (2007). Anatoxin-a and its metabolites in blue-green algae food supplements from Canada and Portugal. *J. Food Prot.* *70*, 776–779.
106. Nguyen, L.T.T., Cronberg, G., Moestrup, Ø., and Daugbjerg, N. (2013). *Annamia toxica* gen. et sp. nov. (Cyanobacteria), a freshwater cyanobacterium from Vietnam that produces microcystins: ultrastructure, toxicity and molecular phylogenetics. *Phycologia* *52*, 25–36.
107. Domingos, P., Rubim, T.K., Molica, R.J.R., Azevedo, S., and Carmichael, W.W. (1999). First report of microcystin production by picoplanktonic cyanobacteria isolated from a northeast Brazilian drinking water supply. *Environ. Toxicol. Int. J.* *14*, 31–35.
108. Furtado, A.L.F.F., Calijuri, M. do C., Lorenzi, A.S., Honda, R.Y., Genuário, D.B., and Fiore, M.F. (2009). Morphological and molecular characterization of cyanobacteria from a Brazilian facultative wastewater stabilization pond and evaluation of microcystin production. *Hydrobiologia* *627*, 195–209.
109. Vezie, C., Brient, L., Sivonen, K., Bertru, G., Lefeuvre, J.-C., and Salkinoja-Salonen, M. (1998). Variation of microcystin content of cyanobacterial blooms and isolated strains in Lake Grand-Lieu (France). *Microb. Ecol.* *35*, 126–135.
110. Sivonen, K., and Jones, G. (1999). Cyanobacterial toxins. *Toxic Cyanobacteria Water Guide Their Public Health Consequences Monit. Manag.* *1*, 43–112.
111. Via-Ordorika, L., Fastner, J., Kurmayer, R., Hisbergues, M., Dittmann, E., Komarek, J., Erhard, M., and Chorus, I. (2004). Distribution of microcystin-producing and non-microcystin-producing *Microcystis* sp. in European freshwater bodies: detection of microcystins and microcystin genes in individual colonies. *Syst. Appl. Microbiol.* *27*, 592–602.
112. Park, H., Watanabe, M.F., Harada, K., Nagai, H., Suzuki, M., Watanabe, M., and Hayashi, H. (1993). Hepatotoxin (microcystin) and neurotoxin (anatoxin-a) contained in natural blooms and strains of cyanobacteria from Japanese freshwaters. *Nat. Toxins* *1*, 353–360.
113. dos S Vieira, J.M., de P Azevedo, M.T., de Oliveira Azevedo, S.M.F., Honda, R.Y., and Corrêa, B. (2003). Microcystin production by *Radiocystis fernandoi* (Chroococcales, Cyanobacteria) isolated from a drinking water reservoir in the city of Belém, PA, Brazilian Amazonia region. *Toxicon* *42*, 709–713.

114. Richardson, L.L., Sekar, R., Myers, J.L., Gantar, M., Voss, J.D., Kaczmarek, L., Remily, E.R., Boyer, G.L., and Zimba, P.V. (2007). The presence of the cyanobacterial toxin microcystin in black band disease of corals. *FEMS Microbiol. Lett.* 272, 182–187.
115. Borges, H.L.F., Branco, L.H.Z., Martins, M.D., Lima, C.S., Barbosa, P.T., Lira, G., Bittencourt-Oliveira, M.C., and Molica, R.J.R. (2015). Cyanotoxin production and phylogeny of benthic cyanobacterial strains isolated from the northeast of Brazil. *Harmful Algae* 43, 46–57.
116. Preußel, K., Wessel, G., Fastner, J., and Chorus, I. (2009). Response of cylindrospermopsin production and release in *Aphanizomenon flos-aquae* (Cyanobacteria) to varying light and temperature conditions. *Harmful Algae* 8, 645–650.
117. Rapala, J., Sivonen, K., Luukkainen, R., and Niemelä, S.I. (1993). Anatoxin-a concentration in *Anabaena* and *Aphanizomenon* under different environmental conditions and comparison of growth by toxic and non-toxic *Anabaena*-strains—a laboratory study. *J. Appl. Phycol.* 5, 581–591.
118. Osswald, J., Rellán, S., Gago-Martinez, A., and Vasconcelos, V. (2009). Production of anatoxin-a by cyanobacterial strains isolated from Portuguese fresh water systems. *Ecotoxicology* 18, 1110–1115. <https://doi.org/10.1007/s10646-009-0375-5>.
119. Pereira, P., Li, R., Carmichael, W., Dias, E., and Franca, S. (2004). Taxonomy and production of paralytic shellfish toxins by the freshwater cyanobacterium *Aphanizomenon gracile* LMECYA40. *Eur. J. Phycol.* 39, 361–368.
120. Ledreux, A., Thomazeau, S., Catherine, A., Duval, C., Yéprémian, C., Marie, A., and Bernard, C. (2010). Evidence for saxitoxins production by the cyanobacterium *Aphanizomenon gracile* in a French recreational water body. *Harmful Algae* 10, 88–97.
121. Casero, M.C., Ballot, A., Agha, R., Quesada, A., and Cirés, S. (2014). Characterization of saxitoxin production and release and phylogeny of sxt genes in paralytic shellfish poisoning toxin-producing *Aphanizomenon gracile*. *Harmful Algae* 37, 28–37. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2014.05.006>.
122. Ferreira, F.M., Soler, J.M.F., Fidalgo, M.L., and Fernández-Vila, P. (2001). PSP toxins from *Aphanizomenon flos-aquae* (cyanobacteria) collected in the Crestuma-Lever reservoir (Douro river, northern Portugal). *Toxicon* 39, 757–761.
123. Hawkins, P.R., Chandrasena, N.R., Jones, G.J., Humpage, A.R., and Falconer, I.R. (1997). Isolation and toxicity of *Cylindrospermopsis raciborskii* from an ornamental lake. *Toxicon* 35, 341–346.
124. Matsunaga, S., Moore, R.E., Niemczura, W.P., and Carmichael, W.W. (1989). Anatoxin-a (s), a potent anticholinesterase from *Anabaena flos-aquae*. *J. Am. Chem. Soc.* 111, 8021–8023.
125. Bhaskar, A., Nidhi, G., Jayaraj, R., Subramanian, G., and Lakshmana Rao, P. (2004). Toxicity assessment of Indian marine cyanobacterial strains. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 72.
126. Pereyra, J.P.A., D'Agostino, P.M., Mazmouz, R., Woodhouse, J.N., Pickford, R., Jameson, I., and Neilan, B.A. (2017). Molecular and morphological survey of saxitoxin-producing cyanobacterium *Dolichospermum circinale* (*Anabaena circinalis*) isolated from geographically distinct regions of Australia. *Toxicon* 138, 68–77. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2017.08.006>.
127. McGregor, G.B., Sendall, B.C., Hunt, L.T., and Eaglesham, G.K. (2011). Report of the cyanotoxins cylindrospermopsin and deoxy-cylindrospermopsin from *Raphidiopsis mediterranea* Skuja (Cyanobacteria/Nostocales). *Harmful Algae* 10, 402–410.
128. Yunes, J.S., De La Rocha, S., Giroldo, D., Silveira, S.B. da, Comin, R., Bicho, M. da S., Melcher, S.S., Sant'anna, C.L., and Vieira, A.A.H. (2009). RELEASE OF CARBOHYDRATES AND PROTEINS BY A SUBTROPICAL STRAIN OF RAPHIDIOPSIS BROOKII (CYANOBACTERIA)

ABLE TO PRODUCE SAXITOXIN AT THREE NITRATE CONCENTRATIONS 1. *J. Phycol.* *45*, 585–591.

129. Mohamed, Z.A., and Al Shehri, A.M. (2007). Cyanobacteria and their toxins in treated-water storage reservoirs in Abha city, Saudi Arabia. *Toxicon* *50*, 75–84.
130. Fiore, M.F., Genuário, D.B., da Silva, C.S.P., Shishido, T.K., Moraes, L.A.B., Neto, R.C., and Silva-Stenico, M.E. (2009). Microcystin production by a freshwater spring cyanobacterium of the genus *Fischerella*. *Toxicon* *53*, 754–761.
131. Philmus, B. (2006). Investigations into the microcystin gene cluster from *Hapalosiphon hibernicus* BZ-3-1 and *Planktothrix agardhii* CYA 126/8.
132. Mohamed, Z.A., and Al Shehri, A.M. (2009). Microcystin-producing blooms of *Anabaenopsis arnoldi* in a potable mountain lake in Saudi Arabia. *FEMS Microbiol. Ecol.* *69*, 98–105.
133. Stüken, A., Campbell, R.J., Quesada, A., Sukenik, A., Dadheech, P.K., and Wiedner, C. (2009). Genetic and morphologic characterization of four putative cylindrospermopsin producing species of the cyanobacterial genera *Anabaena* and *Aphanizomenon*. *J. Plankton Res.* *31*, 465–480.
134. Beattie, K.A., Kaya, K., and Codd, G.A. (2000). The cyanobacterium *Nodularia* PCC 7804, of freshwater origin, produces [L-Har2]nodularin. *Phytochemistry* *54*, 57–61. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00045-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00045-5).
135. Twist, H., and Codd, G.A. (2006). Degradation of the cyanobacterial hepatotoxin, nodularin, under light and dark conditions. *FEMS Microbiol. Lett.* *151*, 83–88. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1997.tb10398.x>.
136. Terao, K., Ohmori, S., Igarashi, K., Ohtani, I., Watanabe, M.F., Harada, K.I., Ito, E., and Watanabe, M. (1994). Electron microscopic studies on experimental poisoning in mice induced by cylindrospermopsin isolated from blue-green alga *Umezakia natans*. *Toxicon* *32*, 833–843. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(94\)90008-6](https://doi.org/10.1016/0041-0101(94)90008-6).
137. Sivonen, K., Carmichael, W.W., Namikoshi, M., Rinehart, K.L., Dahlem, A.M., and Niemelä, S.I. (1990). Isolation and characterization of hepatotoxic microcystin homologs from the filamentous freshwater cyanobacterium *Nostoc* sp. strain 152. *Appl. Environ. Microbiol.* *56*, 2650–2657. <https://doi.org/10.1128/aem.56.9.2650-2657.1990>.
138. Gehringer, M.M., Adler, L., Roberts, A.A., Moffitt, M.C., Mihali, T.K., Mills, T.J., Fieker, C., and Neilan, B.A. (2012). Nodularin, a cyanobacterial toxin, is synthesized in planta by symbiotic *Nostoc* sp. *ISME J.* *6*, 1834–1847.
139. Smith, F.M., Wood, S.A., van Ginkel, R., Broady, P.A., and Gaw, S. (2011). First report of saxitoxin production by a species of the freshwater benthic cyanobacterium, *Scytonema Agardh*. *Toxicon* *57*, 566–573.
140. Seifert, M., McGregor, G., Eaglesham, G., Wickramasinghe, W., and Shaw, G. (2007). First evidence for the production of cylindrospermopsin and deoxy-cylindrospermopsin by the freshwater benthic cyanobacterium, *Lyngbya wollei* (Farlow ex Gomont) Speziale and Dyck. *Harmful Algae* *6*, 73–80. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2006.07.001>.
141. Carmichael, W., Evans, W., Yin, Q., Bell, P., and Moczydlowski, E. (1997). Evidence for paralytic shellfish poisons in the freshwater cyanobacterium *Lyngbya wollei* (Farlow ex Gomont) comb. nov. *Appl. Environ. Microbiol.* *63*, 3104–3110.
142. Briand, E., Yéprémian, C., Humbert, J.-F., and Quiblier, C. (2008). Competition between microcystin- and non-microcystin-producing *Planktothrix agardhii* (cyanobacteria) strains under different environmental conditions. *Environ. Microbiol.* *10*, 3337–3348. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01730.x>.

143. Yéprémian, C., Gugger, M.F., Briand, E., Catherine, A., Berger, C., Quiblier, C., and Bernard, C. (2007). Microcystin ecotypes in a perennial *Planktothrix agardhii* bloom. *Water Res.* *41*, 4446–4456. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.06.028>.
144. Shams, S., Capelli, C., Cerasino, L., Ballot, A., Dietrich, D.R., Sivonen, K., and Salmaso, N. (2015). Anatoxin-a producing *Tychonema* (Cyanobacteria) in European waterbodies. *Water Res.* *69*, 68–79. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.11.006>.
145. Brittain, S., Mohamed, Z.A., Wang, J., Lehmann, V.K.B., Carmichael, W.W., and Rinehart, K.L. (2000). Isolation and characterization of microcystins from a River Nile strain of *Oscillatoria tenuis* Agardh ex Gomont. *Toxicon* *38*, 1759–1771. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(00\)00105-7](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(00)00105-7).
146. Mazmouz, R., Chapuis-Hugon, F., Mann, S., Pichon, V., Méjean, A., and Ploux, O. (2010). Biosynthesis of Cylindrospermopsin and 7-Epicylindrospermopsin in *Oscillatoria* sp. Strain PCC 6506: Identification of the *cyr* Gene Cluster and Toxin Analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* *76*, 4943–4949. <https://doi.org/10.1128/AEM.00717-10>.
147. Araújo, R., Ngiêm, H.-O., Rippka, R., Palibroda, N., de Marsac, N.T., and Herdman, M. (2005). Neurotoxins in axenic oscillatorian cyanobacteria: coexistence of anatoxin-a and homoanatoxin-a determined by ligand-binding assay and GC/MS. *Microbiology* *151*, 1263–1273. <https://doi.org/10.1099/mic.0.27660-0>.
148. Izaguirre, G., Jungblut, A.-D., and Neilan, B.A. (2007). Benthic cyanobacteria (Oscillatoriaceae) that produce microcystin-LR, isolated from four reservoirs in southern California. *Water Res.* *41*, 492–498. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.10.012>.
149. Gugger, M., Lenoir, S., Berger, C., Ledreux, A., Druart, J.-C., Humbert, J.-F., Guette, C., and Bernard, C. (2005). First report in a river in France of the benthic cyanobacterium *Phormidium favosum* producing anatoxin-a associated with dog neurotoxicosis. *Toxicon* *45*, 919–928. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2005.02.031>.
150. Cadel-Six, S., Peyraud-Thomas, C., Brient, L., de Marsac, N.T., Rippka, R., and Méjean, A. (2007). Different Genotypes of Anatoxin-Producing Cyanobacteria Coexist in the Tarn River, France. *Appl. Environ. Microbiol.* *73*, 7605–7614. <https://doi.org/10.1128/AEM.01225-07>.
151. Skulberg, O.M., Skulberg, R., Carmichael, W.W., Andersen, R.A., Matsunaga, S., and Moore, R.E. (1992). Investigations of a neurotoxic oscillatorial strain (Cyanophyceae) and its toxin. Isolation and characterization of homoanatoxin-a. *Environ. Toxicol. Chem.* *11*, 321–329. <https://doi.org/10.1002/etc.5620110306>.
152. Gantar, M., Sekar, R., and Richardson, L.L. (2009). Cyanotoxins from Black Band Disease of Corals and from Other Coral Reef Environments. *Microb. Ecol.* *58*, 856–864. <https://doi.org/10.1007/s00248-009-9540-x>.
153. Carmichael, W.W., and Boyer, G.L. (2016). Health impacts from cyanobacteria harmful algae blooms: Implications for the North American Great Lakes. *Harmful Algae* *54*, 194–212. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2016.02.002>.
154. Mussagy, A., Annadotter, H., and Cronberg, G. (2006). An experimental study of toxin production in *Arthrospira fusiformis* (Cyanophyceae) isolated from African waters. *Toxicon* *48*, 1027–1034. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2006.08.013>.
155. Mussagy, A., Wilmotte, A., and Cronberg, G. (2006). The cyanophyte *Arthrospira fusiformis* from Mozambique, Africa: morphological and molecular characterization. *Arch. Fuer Hydrobiol. Suppl. Algol. Stud.* *121*.
156. Hisbergues, M., Christiansen, G., Rouhiainen, L., Sivonen, K., and Börner, T. (2003). PCR-based identification of microcystin-producing genotypes of different cyanobacterial genera. *Arch. Microbiol.* *180*, 402–410. <https://doi.org/10.1007/s00203-003-0605-9>.

157. Fujisawa, T., Narikawa, R., Okamoto, S., Ehira, S., Yoshimura, H., Suzuki, I., Masuda, T., Mochimaru, M., Takaichi, S., and Awai, K. (2010). Genomic structure of an economically important cyanobacterium, *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* NIES-39. *DNA Res.* 17, 85–103. <https://doi.org/10.1093/dnares/dsq004>.
158. Morin, N. Studies on the response to spaceflight related conditions in the cyanobacterium *Arthrospira* sp. PCC 8005 using a genomic approach.
159. Cheevadhanarak, S., Paithoonrangarid, K., Prommeenate, P., Kaewngam, W., Musigkain, A., Tragoonrung, S., Tabata, S., Kaneko, T., Chaijaruwanich, J., and Sangrakru, D. (2012). Draft genome sequence of *Arthrospira platensis* C1 (PCC9438). *Stand. Genomic Sci.* 6, 43–53. <https://doi.org/doi.org/10.4056/sigs.2525955>.
160. Castenholz, R.W., Rippka, R., Herdman, M., and Wilmotte, A. (2015). Form-*Arthrospira*. *Bergeys Man. Syst. Archaea Bact.*, 1–3. <https://doi.org/doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00433>.
161. Wu, Q., Liu, L., Miron, A., Klímová, B., Wan, D., and Kuča, K. (2016). The antioxidant, immunomodulatory, and anti-inflammatory activities of *Spirulina*: an overview. *Arch. Toxicol.* 90, 1817–1840. <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1744-5>.
162. Furmaniak, M.A., Misztak, A.E., Franczuk, M.D., Wilmotte, A., Waleron, M., and Waleron, K.F. (2017). Edible cyanobacterial genus *Arthrospira*: actual state of the art in cultivation methods, genetics, and application in medicine. *Front. Microbiol.* 8, 2541. <https://doi.org/doi:10.3389/fmicb.2017.02541>.
163. Carmichael, W. (1994). The Toxins of Cyanobacteria. *Sci. Am.* 270, 78–86. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0194-78>.
164. Bouaïcha, N., Miles, C.O., Beach, D.G., Labidi, Z., Djabri, A., Benayache, N.Y., and Nguyen-Quang, T. (2019). Structural Diversity, Characterization and Toxicology of Microcystins. *Toxins* 11, 714. <https://doi.org/10.3390/toxins11120714>.
165. Yu, F.-Y., Liu, B.-H., Chou, H.-N., and Chu, F.S. (2002). Development of a sensitive ELISA for the determination of microcystins in algae. *J. Agric. Food Chem.* 50, 4176–4182.
166. Marsan, D., Conrad, S., Stutts, W., Parker, C., and Deeds, J. (2018). Evaluation of microcystin contamination in blue-green algal dietary supplements using a protein phosphatase inhibition-based test kit. *Heliyon* 4, e00573. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00573>.
167. Saker, M.L., Welker, M., and Vasconcelos, V.M. (2007). Multiplex PCR for the detection of toxigenic cyanobacteria in dietary supplements produced for human consumption. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 73, 1136–1142. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0565-5>.
168. Jiang, Y., Xie, P., Chen, J., and Liang, G. (2008). Detection of the hepatotoxic microcystins in 36 kinds of cyanobacteria *Spirulina* food products in China. *Food Addit. Contam.* 25, 885–894.
169. Ortelli, D., Edder, P., Cognard, E., and Jan, P. (2008). Fast screening and quantitation of microcystins in microalgae dietary supplement products and water by liquid chromatography coupled to time of flight mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 617, 230–237. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.03.033>.
170. Manali, K.M., Arunraj, R., Kumar, T., and Ramya, M. (2017). Detection of microcystin producing cyanobacteria in *Spirulina* dietary supplements using multiplex HRM quantitative PCR. *J. Appl. Phycol.* 29, 1279–1286.
171. Roy-Lachapelle, A., Sollicec, M., Bouchard, M.F., and Sauvé, S. (2017). Detection of cyanotoxins in algae dietary supplements. *Toxins* 9, 76.

172. Cronberg, G., Carpenter, E.J., and Carmichael, W.W. (2003). Taxonomy of harmful cyanobacteria. *Man. Harmful Mar. Microalgae UNESCO Publ.*, 523–562.
173. Funari, E., and Testai, E. (2008). Human health risk assessment related to cyanotoxins exposure. *Crit. Rev. Toxicol.* 38, 97–125.
174. Pagliara, P., De Benedetto, G.E., Francavilla, M., Barca, A., and Caroppo, C. (2021). Bioactive Potential of Two Marine Picocyanobacteria Belonging to *Cyanobium* and *Synechococcus* Genera. *Microorganisms* 9, 2048. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9102048>.
175. Van Hassel, W.H.R., Andjelkovic, M., Durieu, B., Marroquin, V.A., Masquelier, J., Huybrechts, B., and Wilmotte, A. (2022). A Summer of Cyanobacterial Blooms in Belgian Waterbodies: Microcystin Quantification and Molecular Characterizations. *Toxins* 14, 61. <https://doi.org/10.3390/toxins14010061>.
176. Lincoln, E.P., and Carmichael, W.W. (1981). Preliminary Tests of Toxicity of *Synechocystis* sp. Grown on Wastewater Medium. In *The Water Environment: Algal Toxins and Health Environmental Science Research.*, W. W. Carmichael, ed. (Springer US), pp. 223–230. https://doi.org/10.1007/978-1-4613-3267-1_16.
177. Vardaka, E., Kormas, K.A., Katsiapi, M., Genitsaris, S., and Moustaka-Gouni, M. (2016). Molecular diversity of bacteria in commercially available “Spirulina” food supplements. *PeerJ* 4, e1610. <https://doi.org/10.7717/peerj.1610>.
178. Yang, Y., Park, Y., Cassada, D.A., Snow, D.D., Rogers, D.G., and Lee, J. (2011). In vitro and in vivo safety assessment of edible blue-green algae, *Nostoc commune* var. *sphaeroides* Kützing and *Spirulina plantensis*. *Food Chem. Toxicol.* 49, 1560–1564. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.03.052>.
179. FDA (2002). Agency Response Letter Gras Notice No. Grn 000101 (2002). fda.gov.
180. Soni, R.A., Sudhakar, K., and Rana, R.S. (2017). Spirulina – From growth to nutritional product: A review. *Trends Food Sci. Technol.* 69, 157–171. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.09.010>.
181. Araújo, R., Vázquez Calderón, F., Sánchez López, J., Azevedo, I.C., Bruhn, A., Fluch, S., Garcia Tasende, M., Ghaderiardakani, F., Ilmjärv, T., Laurans, M., et al. (2021). Current Status of the Algae Production Industry in Europe: An Emerging Sector of the Blue Bioeconomy. *Front. Mar. Sci.* 7.
182. Turner, A.D., Waack, J., Lewis, A., Edwards, C., and Lawton, L. (2018). Development and single-laboratory validation of a UHPLC-MS/MS method for quantitation of microcystins and nodularin in natural water, cyanobacteria, shellfish and algal supplement tablet powders. *J. Chromatogr. B* 1074, 111–123.
183. John, D.M., Whitton, B.A., Brook, A.J., York, P.V., and Johnson, L.R. (2002). *The freshwater algal flora of the British Isles: An identification guide to freshwater and terrestrial algae* (Cambridge University Press).
184. Komarek J.; Anagnostidis, K. (1999). *Süßwasserflora von Mitteleuropa*, Bd. 19/1: Cyanoprokaryota.
185. Komarek J.; Anagnostidis, K. (2013). *Süßwasserflora von Mitteleuropa*, Bd. 19/3: Cyanoprokaryota.
186. Komarek, J., Kaštovský, J., Mares, J., and Johansen, J. (2014). Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. *Preslia -Praha-* 86, 295–335.
187. Komarek J.; Anagnostidis, K. (2005). *Süßwasserflora von Mitteleuropa*, Bd. 19/2: Cyanoprokaryota.

188. Utermöhl, H. (1958). Zur vervollkommnung der quantitativen phytoplankton-methodik: Mit 1 Tabelle und 15 abbildungen im Text und auf 1 Tafel. *Int. Ver. Für Theor. Angew. Limnol. Mitteilungen* 9, 1–38.
189. AFNOR (2006). *Qualité de l'eau: norme guide pour le dénombrement du phytoplancton par microscopie inversée (méthode Utermöhl)* (Association française de normalisation).
190. Wickham, H. (2016). Data Analysis. In *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis Use R!*, H. Wickham, ed. (Springer International Publishing), pp. 189–201. https://doi.org/10.1007/978-3-319-24277-4_9.
191. Kahle, D., and Wickham, H. (2013). ggmap: Spatial Visualization with ggplot2. *R J.* 5, 144. <https://doi.org/10.32614/RJ-2013-014>.
192. Birbeck, J.A., Westrick, J.A., O'Neill, G.M., Spies, B., and Szlag, D.C. (2019). Comparative analysis of microcystin prevalence in Michigan lakes by online concentration LC/MS/MS and ELISA. *Toxins* 11, 13.
193. An, J., and Carmichael, W.W. (1994). Use of a colorimetric protein phosphatase inhibition assay and enzyme linked immunosorbent assay for the study of microcystins and nodularins. *Toxicon* 32, 1495–1507. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(94\)90308-5](https://doi.org/10.1016/0041-0101(94)90308-5).
194. Geis-Asteggiante, L., Lehotay, S.J., Fortis, L.L., Paoli, G., Wijey, C., and Heinzen, H. (2011). Development and validation of a rapid method for microcystins in fish and comparing LC-MS/MS results with ELISA. *Anal. Bioanal. Chem.* 401, 2617–2630.
195. Bruno, M., Fiori, M., Mattei, D., Melchiorre, S., Messineo, V., Volpi, F., Bogialli, S., and Nazzari, M. (2006). ELISA and LC-MS/MS methods for determining cyanobacterial toxins in blue-green algae food supplements. *Nat. Prod. Res.* 20, 827–834. <https://doi.org/10.1080/14786410500410859>.
196. Costa, J.A.V., de Moraes, M.G., Dalcanton, F., Reichert, C. da C., and Durante, A.J. (2006). Simultaneous Cultivation of *Spirulina platensis* and the Toxigenic Cyanobacteria *Microcystis aeruginosa*. *Z. Für Naturforschung C* 61, 105–110. <https://doi.org/10.1515/znc-2006-1-219>.
197. Gantar, M., Sekar, R., and Richardson, L.L. (2009). Cyanotoxins from black band disease of corals and from other coral reef environments. *Microb. Ecol.* 58, 856–864.
198. Myers, J.L., Sekar, R., and Richardson, L.L. (2007). Molecular detection and ecological significance of the cyanobacterial genera *Geitlerinema* and *Leptolyngbya* in black band disease of corals. *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 5173–5182.
199. Mohamed, Z.A., El-Sharouny, H.M., and Ali, W.S. (2006). Microcystin production in benthic mats of cyanobacteria in the Nile River and irrigation canals, Egypt. *Toxicon* 47, 584–590.
200. Pitois, F., Thoraval, I., Baurès, E., and Thomas, O. (2014). Geographical patterns in cyanobacteria distribution: climate influence at regional scale. *Toxins* 6, 509–522.
201. Latour, D., Salençon, M.-J., Reyss, J.-L., and Giraudet, H. (2007). Sedimentary Imprint of *Microcystis Aeruginosa* (cyanobacteria) Blooms in Grangent Reservoir (loire, France)¹. *J. Phycol.* 43, 417–425. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2007.00343.x>.
202. Briand, J.-F., Jacquet, S., Flinois, C., Avois-Jacquet, C., Maissonnette, C., Leberre, B., and Humbert, J.-F. (2005). Variations in the Microcystin Production of *Planktothrix rubescens* (Cyanobacteria) Assessed from a Four-Year Survey of Lac du Bourget (France) and from Laboratory Experiments. *Microb. Ecol.* 50, 418–428. <https://doi.org/10.1007/s00248-005-0186-z>.
203. Bormans, M., Savar, V., Legrand, B., Mineaud, E., Robert, E., Lance, E., and Amzil, Z. (2020). Cyanobacteria and cyanotoxins in estuarine water and sediment. *Aquat. Ecol.* 54, 625–640. <https://doi.org/10.1007/s10452-020-09764-y>.

204. Willame, R., Jurczak, T., Iffly, J.-F., Kull, T., Meriluoto, J., and Hoffmann, L. (2005). Distribution of Hepatotoxic Cyanobacterial Blooms in Belgium and Luxembourg. *Hydrobiologia* 551, 99–117. <https://doi.org/10.1007/s10750-005-4453-2>.
205. Jacquet, S., Briand, J.-F., Leboulanger, C., Avois-Jacquet, C., Oberhaus, L., Tassin, B., Vinçon-Leite, B., Paolini, G., Druart, J.-C., Anneville, O., et al. (2005). The proliferation of the toxic cyanobacterium *Planktothrix rubescens* following restoration of the largest natural French lake (Lac du Bourget). *Harmful Algae* 4, 651–672. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2003.12.006>.
206. Janssen, P.J., Morin, N., Mergeay, M., Leroy, B., Wattiez, R., Vallaeys, T., Waleron, K., Waleron, M., Wilmotte, A., Quillardet, P., et al. (2010). Genome Sequence of the Edible Cyanobacterium *Arthrospira* sp. PCC 8005. *J. Bacteriol.* 192, 2465–2466. <https://doi.org/10.1128/JB.00116-10>.
207. Krienitz, L., Dadheech, P.K., and Kotut, K. (2013). Mass developments of a small sized ecotype of *Arthrospira fusiformis* in Lake Ololdien, Kenya, a new feeding ground for Lesser Flamingos in East Africa.
208. Melaram, R., Newton, A.R., and Chafin, J. (2022). Microcystin Contamination and Toxicity: Implications for Agriculture and Public Health. *Toxins* 14, 350. <https://doi.org/10.3390/toxins14050350>.
209. Pinchart, P.-E., Leruste, A., Pasqualini, V., and Mastroleo, F. (2023). Microcystins and Cyanobacterial Contaminants in the French Small-Scale Productions of *Spirulina* (*Limnospira* sp.). *Toxins* 15, 354. <https://doi.org/doi.org/10.3390/toxins15060354>.
210. ANSES (2017). Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif aux « risques liés à la consommation de compléments alimentaires contenant de la spiruline ».
211. Choi, G.-G., Ahn, C.-Y., and Oh, H.-M. (2012). Phylogenetic relationships of *Arthrospira* strains inferred from 16S rRNA gene and *cpcBA*-IGS sequences. *Algae* 27, 75–82. <https://doi.org/10.4490/algae.2012.27.2.075>.
212. Jacquet, S., Zhong, X., Parvathi, A., and Ram, A.S.P. (2013). First description of a cyanophage infecting the cyanobacterium *Arthrospira platensis* (*Spirulina*). *J. Appl. Phycol.* 25, 195–203. <https://doi.org/10.1007/s10811-012-9853-x>.
213. Stackebrandt, E., and Goebel, B.M. (1994). Taxonomic Note: A Place for DNA-DNA Reassociation and 16S rRNA Sequence Analysis in the Present Species Definition in Bacteriology. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 44, 846–849. <https://doi.org/10.1099/00207713-44-4-846>.
214. Meier-Kolthoff, J.P., Auch, A.F., Klenk, H.-P., and Göker, M. (2013). Genome sequence-based species delimitation with confidence intervals and improved distance functions. *BMC Bioinformatics* 14, 60. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-14-60>.
215. Cogne, G., Lehmann, B., Dussap, C.-G., and Gros, J.-B. (2003). Uptake of macrominerals and trace elements by the cyanobacterium *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis* PCC 8005) under photoautotrophic conditions: Culture medium optimization. *Biotechnol. Bioeng.* 81, 588–593. <https://doi.org/10.1002/bit.10504>.
216. Morin, N., Vallaeys, T., Hendrickx, L., Natalie, L., and Wilmotte, A. (2010). An efficient DNA isolation protocol for filamentous cyanobacteria of the genus *Arthrospira*. *J. Microbiol. Methods* 80, 148–154. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2009.11.012>.
217. Mysara, M., Njima, M., Leys, N., Raes, J., and Monsieus, P. (2017). From reads to operational taxonomic units: an ensemble processing pipeline for MiSeq amplicon sequencing data. *Gigascience* 6, giw017. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giw017>.

218. Segers, C., Mysara, M., Claesen, J., Baatout, S., Leys, N., Lebeer, S., Verslegers, M., and Mastroleo, F. (2021). Intestinal mucositis precedes dysbiosis in a mouse model for pelvic irradiation. *ISME Commun.* 1, 24. <https://doi.org/10.1038/s43705-021-00024-0>.
219. Wang, Q., Garrity, G.M., Tiedje, J.M., and Cole, J.R. (2007). Naïve Bayesian Classifier for Rapid Assignment of rRNA Sequences into the New Bacterial Taxonomy. *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 5261–5267. <https://doi.org/10.1128/AEM.00062-07>.
220. Eren, A.M., Maignien, L., Sul, W.J., Murphy, L.G., Grim, S.L., Morrison, H.G., Sogin, M.L., and Freckleton, R. (2013). Oligotyping: differentiating between closely related microbial taxa using 16S rRNA gene data. *Methods Ecol. Evol.* 4, 1111–1119. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12114>.
221. Tamura, K., Stecher, G., and Kumar, S. (2021). MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Mol. Biol. Evol.* 38, 3022–3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>.
222. Marter, P., Huang, S., Brinkmann, H., Pradella, S., Jarek, M., Rohde, M., Bunk, B., and Petersen, J. (2021). Filling the gaps in the cyanobacterial tree of life—metagenome analysis of *Stigonema ocellatum* DSM 106950, *Chlorogloea purpurea* SAG 13.99 and *Gomphosphaeria aponina* DSM 107014. *Genes* 12, 389. <https://doi.org/10.3390/genes12030389>.
223. Li, D., Liu, C.-M., Luo, R., Sadakane, K., and Lam, T.-W. (2015). MEGAHIT: an ultra-fast single-node solution for large and complex metagenomics assembly via succinct de Bruijn graph. *Bioinformatics* 31, 1674–1676. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv033>.
224. Wu, Y.-W., Simmons, B.A., and Singer, S.W. (2016). MaxBin 2.0: an automated binning algorithm to recover genomes from multiple metagenomic datasets. *Bioinformatics* 32, 605–607. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv638>.
225. Kang, D.D., Froula, J., Egan, R., and Wang, Z. (2015). MetaBAT, an efficient tool for accurately reconstructing single genomes from complex microbial communities. *PeerJ* 3, e1165. <https://doi.org/10.7717/peerj.1165>.
226. Alneberg, J., Bjarnason, B.S., De Bruijn, I., Schirmer, M., Quick, J., Ijaz, U.Z., Lahti, L., Loman, N.J., Andersson, A.F., and Quince, C. (2014). Binning metagenomic contigs by coverage and composition. *Nat. Methods* 11, 1144–1146. <https://doi.org/10.1038/NMETH.3103>.
227. Sieber, C.M., Probst, A.J., Sharrar, A., Thomas, B.C., Hess, M., Tringe, S.G., and Banfield, J.F. (2018). Recovery of genomes from metagenomes via a dereplication, aggregation and scoring strategy. *Nat. Microbiol.* 3, 836–843. <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0171-1>.
228. Parks, D.H., Imelfort, M., Skennerton, C.T., Hugenholtz, P., and Tyson, G.W. (2015). CheckM: assessing the quality of microbial genomes recovered from isolates, single cells, and metagenomes. *Genome Res.* 25, 1043–1055. <https://doi.org/10.1101/gr.186072.114>.
229. Tanizawa, Y., Fujisawa, T., and Nakamura, Y. (2018). DFAST: a flexible prokaryotic genome annotation pipeline for faster genome publication. *Bioinformatics* 34, 1037–1039.
230. Jones, P., Binns, D., Chang, H.-Y., Fraser, M., Li, W., McAnulla, C., McWilliam, H., Maslen, J., Mitchell, A., and Nuka, G. (2014). InterProScan 5: genome-scale protein function classification. *Bioinformatics* 30, 1236–1240. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu031>.
231. Almagro Armenteros, J.J., Tsirigos, K.D., Sønderby, C.K., Petersen, T.N., Winther, O., Brunak, S., von Heijne, G., and Nielsen, H. (2019). SignalP 5.0 improves signal peptide predictions using deep neural networks. *Nat. Biotechnol.* 37, 420–423. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0036-z>.
232. Parks, D.H., Chuvochina, M., Rinke, C., Mussig, A.J., Chaumeil, P.-A., and Hugenholtz, P. (2022). GTDB: an ongoing census of bacterial and archaeal diversity through a phylogenetically consistent, rank normalized and complete genome-based taxonomy. *Nucleic Acids Res.* 50, D785–D794. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab776>.

233. Methner, A., Kuzyk, S.B., Petersen, J., Bauer, S., Brinkmann, H., Sichau, K., Wanner, G., Wolf, J., Neumann-Schaal, M., and Henke, P. (2023). *Thiorhodovibrio frisius* and *Trv. litoralis* spp. nov., Two Novel Members from a Clade of Fastidious Purple Sulfur Bacteria That Exhibit Unique Red-Shifted Light-Harvesting Capabilities. *Microorganisms* 11, 2394. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11102394>.
234. Na, S.-I., Kim, Y.O., Yoon, S.-H., Ha, S., Baek, I., and Chun, J. (2018). UBCG: Up-to-date bacterial core gene set and pipeline for phylogenomic tree reconstruction. *J. Microbiol.* 56, 280–285. <https://doi.org/10.1007/s12275-018-8014-6>.
235. Philippe, H. (1993). MUST, a computer package of Management Utilities for Sequences and Trees. *Nucleic Acids Res.* 21, 5264–5272. <https://doi.org/doi.org/10.1093/nar/21.22.5264>.
236. Talavera, G., and Castresana, J. (2007). Improvement of phylogenies after removing divergent and ambiguously aligned blocks from protein sequence alignments. *Syst. Biol.* 56, 564–577. <https://doi.org/10.1080/10635150701472164>.
237. Stamatakis, A. (2014). RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30, 1312–1313. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033>.
238. Lee, I., Ouk Kim, Y., Park, S.-C., and Chun, J. (2016). OrthoANI: an improved algorithm and software for calculating average nucleotide identity. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 66, 1100–1103. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000760>.
239. Meier-Kolthoff, J.P., Carbasse, J.S., Peinado-Olarte, R.L., and Göker, M. (2022). TYGS and LPSN: a database tandem for fast and reliable genome-based classification and nomenclature of prokaryotes. *Nucleic Acids Res.* 50, D801–D807. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab902>.
240. Gugger, M., Boullié, A., and Laurent, T. (2023). Cyanotoxins and Other Bioactive Compounds from the Pasteur Cultures of Cyanobacteria (PCC). *Toxins* 15, 388. <https://doi.org/10.3390/toxins15060388>.
241. Camacho, C., Coulouris, G., Avagyan, V., Ma, N., Papadopoulos, J., Bealer, K., and Madden, T.L. (2009). BLAST+: architecture and applications. *BMC Bioinformatics* 10, 421. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-10-421>.
242. Blin, K., Shaw, S., Augustijn, H.E., Reitz, Z.L., Biermann, F., Alanjary, M., Fetter, A., Terlouw, B.R., Metcalf, W.W., Helfrich, E.J.N., et al. (2023). antiSMASH 7.0: new and improved predictions for detection, regulation, chemical structures and visualisation. *Nucleic Acids Res.* 51, W46–W50. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad344>.
243. Shih, P.M., Wu, D., Latifi, A., Axen, S.D., Fewer, D.P., Talla, E., Calteau, A., Cai, F., Tandeau de Marsac, N., Rippka, R., et al. (2013). Improving the coverage of the cyanobacterial phylum using diversity-driven genome sequencing. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 110, 1053–1058. <https://doi.org/10.1073/pnas.1217107110>.
244. Brinkmann, H., Van der Giezen, M., Zhou, Y., De Raucourt, G.P., and Philippe, H. (2005). An empirical assessment of long-branch attraction artefacts in deep eukaryotic phylogenomics. *Syst. Biol.* 54, 743–757. <https://doi.org/10.1080/10635150500234609>.
245. Richter, M., and Rosselló-Móra, R. (2009). Shifting the genomic gold standard for the prokaryotic species definition. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 106, 19126–19131. <https://doi.org/10.1073/pnas.0906412106>.
246. Goris, J., Konstantinidis, K.T., Klappenbach, J.A., Coenye, T., Vandamme, P., and Tiedje, J.M. (2007). DNA–DNA hybridization values and their relationship to whole-genome sequence similarities. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57, 81–91. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.64483-0>.

247. Jain, C., Rodriguez-R, L.M., Phillippy, A.M., Konstantinidis, K.T., and Aluru, S. (2018). High throughput ANI analysis of 90K prokaryotic genomes reveals clear species boundaries. *Nat. Commun.* 9, 5114. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07641-9>.
248. Willis, A., and Woodhouse, J.N. (2020). Defining Cyanobacterial Species: Diversity and Description Through Genomics. *Crit. Rev. Plant Sci.* 39, 101–124. <https://doi.org/10.1080/07352689.2020.1763541>.
249. Bouma-Gregson, K., Crits-Christoph, A., Olm, M.R., Power, M.E., and Banfield, J.F. (2022). Microcoleus (Cyanobacteria) form watershed-wide populations without strong gradients in population structure. *Mol. Ecol.* 31, 86–103. <https://doi.org/10.1111/mec.16208>.
250. Moore, W.E.C., Stackebrandt, E., Kandler, O., Colwell, R.R., Krichevsky, M.I., Truper, H.G., Murray, R.G.E., Wayne, L.G., Grimont, P.A.D., Brenner, D.J., et al. (1987). Report of the Ad Hoc Committee on Reconciliation of Approaches to Bacterial Systematics. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 37, 463–464. <https://doi.org/10.1099/00207713-37-4-463>.
251. Chun, J., Oren, A., Ventosa, A., Christensen, H., Arahal, D.R., da Costa, M.S., Rooney, A.P., Yi, H., Xu, X.-W., De Meyer, S., et al. (2018). Proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 68, 461–466. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002516>.
252. Meier-Kolthoff, J.P., Hahnke, R.L., Petersen, J., Scheuner, C., Michael, V., Fiebig, A., Rohde, C., Rohde, M., Fartmann, B., Goodwin, L.A., et al. (2014). Complete genome sequence of DSM 30083T, the type strain (U5/41T) of *Escherichia coli*, and a proposal for delineating subspecies in microbial taxonomy. *Stand. Genomic Sci.* 9, 2. <https://doi.org/10.1186/1944-3277-9-2>.
253. Santos, K.R. de S., Hentschke, G.S., Ferrari, G., Andreote, A.P.D., Fiore, M. de F., Vasconcelos, V., and Sant'Anna, C.L. (2023). Molecular, morphological and ecological studies of *Limnospira platensis* (Cyanobacteria), from saline and alkaline lakes, Pantanal Biome, Brazil. *Front. Environ. Sci.* 11. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2023.1204787>.
254. Mühling, M., Belay, A., and Whitton, B.A. (2005). Screening *Arthrospira* (*Spirulina*) strains for heterotrophy. *J. Appl. Phycol.* 17, 129–135. <https://doi.org/10.1007/s10811-005-7214-8>.
255. Cavallini, A., Torre, S., Usai, L., Casula, M., Fais, G., Nieri, P., Concas, A., and Lutz, G.A. (2024). Effect of cheese whey on phycobiliproteins production and FAME profile by *Arthrospira platensis* (*Spirulina*): Promoting the concept of a circular bio-economy. *Sustain. Chem. Pharm.* 40, 101625. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2024.101625>.
256. Pinchart, P.-E., Marter, P., Brinkmann, H., Quilichini, Y., Mysara, M., Petersen, J., Pasqualini, V., and Mastroleo, F. (2024). The genus *Limnospira* contains only two species both unable to produce microcystins: *L. maxima* and *L. platensis* comb. nov. *iScience* 0. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.110845>.
257. Omara, T., Nagawa, C.B., Kyarimpa, C., Böhmendorfer, S., Rosenau, T., Lugasi, S.O., Matovu, H., Odongo, S., and Ssebugere, P. (2023). Lacustrine cyanobacteria, algal blooms and cyanotoxins in East Africa: implications for human and ecological health protection. *Phycology* 3, 147–167.
258. Carmouze, J.-P., Durand, J.R., and Lévêque, C. eds. (1983). *Lake Chad: ecology and productivity of a shallow tropical ecosystem* (W. Junk ; Distributors for the United States and Canada, Kluwer Boston).
259. Metcalf, J.S., Dunlop, R.A., Banack, S.A., Souza, N.R., and Cox, P.A. (2021). Cyanotoxin Analysis and Amino Acid Profiles of Cyanobacterial Food Items from Chad. *Neurotox. Res.* 39, 72–80. <https://doi.org/10.1007/s12640-020-00240-x>.

260. Strunecký, O., Komárek, J., and Šmarda, J. (2014). *Kamptonema* (Microcoleaceae, Cyanobacteria), a new genus derived from the polyphyletic *Phormidium* on the basis of combined molecular and cytomorphological markers. *86*.
261. Johansen, J.R., Strunecký, O., Bohunická, M., Čapková, K.Č., Raabová, L., Dvořák, P., and Komárek, J. (2017). A revision of the genus *Geitlerinema* and a description of the genus *Anagnostidinema* gen. nov. (Oscillatoriothycidae, Cyanobacteria). *Fottea*.
262. Cellamare, M., Duval, C., Drelin, Y., Djediat, C., Touibi, N., Agogué, H., Leboulanger, C., Ader, M., and Bernard, C. (2018). Characterization of phototrophic microorganisms and description of new cyanobacteria isolated from the saline-alkaline crater-lake Dziani Dzaha (Mayotte, Indian Ocean). *FEMS Microbiol. Ecol.* *94*, fiy108.
263. Samylin, O.S., Sinetova, M.A., Kupriyanova, E.V., Starikov, A.Y., Sukhacheva, M.V., Dziuba, M.V., and Tourova, T.P. (2021). Ecology and biogeography of the 'marine *Geitlerinema*' cluster and a description of *Sodalinema orleanskyi* sp. nov., *Sodalinema gerasimenkoae* sp. nov., *Sodalinema stali* sp. nov. and *Baaleninema simplex* gen. et sp. nov. (Oscillatoriales, Cyanobacteria). *FEMS Microbiol. Ecol.* *97*, fiab104. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiab104>.
264. Perkerson Iii, R.B., Johansen, J.R., Kováčik, L., Brand, J., Kaštovský, J., and Casamatta, D.A. (2011). A UNIQUE PSEUDANABAENALEAN (CYANOBACTERIA) GENUS NODOSILINEA GEN. NOV. BASED ON MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR DATA1: NODOSILINEA GEN. NOV. *J. Phycol.* *47*, 1397–1412. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2011.01077.x>.
265. Vaz, M.G.M.V., Genuário, D.B., Andreote, A.P.D., Malone, C.F.S., Sant'Anna, C.L., Barbiero, L., and Fiore, M.F. (2015). *Pantalaninema* gen. nov. and *Alkalinema* gen. nov.: novel pseudanabaenacean genera (Cyanobacteria) isolated from saline–alkaline lakes. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* *65*, 298–308. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.070110-0>.
266. Li, X., and Li, R. (2016). *Limnolyngbya circumcreta* gen. & comb. nov. (Synechococcales, Cyanobacteria) with three geographical (provincial) genotypes in China. *Phycologia* *55*, 478–491. <https://doi.org/10.2216/15-149.1>.
267. Saitou, N., and Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* *4*, 406–425.
268. Yarza, P., Yilmaz, P., Pruesse, E., Glöckner, F.O., Ludwig, W., Schleifer, K.-H., Whitman, W.B., Euzéby, J., Amann, R., and Rosselló-Móra, R. (2014). Uniting the classification of cultured and uncultured bacteria and archaea using 16S rRNA gene sequences. *Nat. Rev. Microbiol.* *12*, 635–645. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3330>.
269. LeGresley, M., and McDermott, G. (2010). Counting chamber methods for quantitative phytoplankton analysis—haemocytometer, Palmer-Maloney cell and Sedgewick-Rafter cell. *UNESCO IOC Man. Guid.*, 25–30.
270. Steinberg, M.K., First, M.R., Lemieux, E.J., Drake, L.A., Nelson, B.N., Kulis, D.M., Anderson, D.M., Welschmeyer, N.A., and Herring, P.R. (2012). Comparison of techniques used to count single-celled viable phytoplankton. *J. Appl. Phycol.* *24*, 751–758.
271. Koch, M., Noonan, A.J.C., Qiu, Y., Dofher, K., Kieft, B., Mottahedeh, S., Shastri, M., and Hallam, S.J. (2022). The survivor strain: isolation and characterization of *Phormidium yuhuli* AB48, a filamentous phototactic cyanobacterium with biotechnological potential. *Front. Bioeng. Biotechnol.* *10*, 932695. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.932695>.
272. Swarbrick, C.M.D., Nanson, J.D., Patterson, E.I., and Forwood, J.K. (2020). Structure, function, and regulation of thioesterases. *Prog. Lipid Res.* *79*, 101036. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2020.101036>.

273. Agarwal, V., Pierce, E., McIntosh, J., Schmidt, E.W., and Nair, S.K. (2012). Structures of Cyanobactin Maturation Enzymes Define a Family of Transamidating Proteases. *Chem. Biol.* *19*, 1411–1422. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2012.09.012>.
274. Schöner, T.A., Gassel, S., Osawa, A., Tobias, N.J., Okuno, Y., Sakakibara, Y., Shindo, K., Sandmann, G., and Bode, H.B. (2016). Aryl Polyenes, a Highly Abundant Class of Bacterial Natural Products, Are Functionally Related to Antioxidative Carotenoids. *ChemBioChem* *17*, 247–253. <https://doi.org/10.1002/cbic.201500474>.
275. Ataeian, M., Vadlamani, A., Haines, M., Mosier, D., Dong, X., Kleiner, M., Strous, M., and Hawley, A.K. (2021). Proteome and strain analysis of cyanobacterium *Candidatus* “Phormidium alkaliphilum” reveals traits for success in biotechnology. *iScience* *24*, 103405. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.103405>.
276. Nies, F., Wörner, S., Wunsch, N., Armant, O., Sharma, V., Hesselschwerdt, A., Falk, F., Weber, N., Weiß, J., Trautmann, A., et al. (2017). Characterization of *Phormidium lacuna* strains from the North Sea and the Mediterranean Sea for biotechnological applications. *Process Biochem.* *59*, 194–206. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2017.05.015>.
277. Bec, B., Collos, Y., Souchu, P., Vaquer, A., Lautier, J., Fiandrino, A., Benau, L., Orsoni, V., and Laugier, T. (2011). Distribution of picophytoplankton and nanophytoplankton along an anthropogenic eutrophication gradient in French Mediterranean coastal lagoons. *Aquat. Microb. Ecol.* *63*, 29–45. <https://doi.org/10.3354/ame01480>.
278. Harris, J.M., Vinobaba, P., Kularatne, R.K.A., and Ellawala Kankanamge, C. (2016). Spatial and temporal distribution of cyanobacteria in Batticaloa Lagoon. *J. Environ. Sci.* *47*, 211–218. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2016.01.020>.
279. Albrecht, M., Pröschold, T., and Schumann, R. (2017). Identification of Cyanobacteria in a Eutrophic Coastal Lagoon on the Southern Baltic Coast. *Front. Microbiol.* *8*, 923. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00923>.
280. Dadheech, P.K., Mahmoud, H., Kotut, K., and Krienitz, L. (2012). *Haloleptolyngbya alcalis* gen. et sp. nov., a new filamentous cyanobacterium from the soda lake Nakuru, Kenya. *Hydrobiologia* *691*, 269–283. <https://doi.org/10.1007/s10750-012-1080-6>.
281. Hovde, B.T., Steichen, S.A., Starkenburg, S.R., and Brown, J.K. (2020). *Vampirovibrio chlorellavorus* draft genome sequence, annotation, and preliminary characterization of pathogenicity determinants. *Phycol. Res.* *68*, 23–29. <https://doi.org/10.1111/pre.12392>.
282. Gerloff, G.C., Fitzgerald, G.P., and Skoog, F. (1952). The Mineral Nutrition of *Microcystis aeruginosa*. *Am. J. Bot.* *39*, 26–32. <https://doi.org/10.2307/2438090>.
283. McLachlan, J., and Gorham, P.R. (1962). EFFECTS OF pH AND NITROGEN SOURCES ON GROWTH OF *MICROCYSTIS AERUGINOSA* KÜTZ. *Can. J. Microbiol.* *8*, 1–11. <https://doi.org/10.1139/m62-001>.
284. van der Westhuizen, A.J., and Eloff, J.N. (1983). Effect of Culture Age and pH of Culture Medium on the Growth and Toxicity of the Blue-green Alga *Microcystis aeruginosa*. *Z. Für Pflanzenphysiol.* *110*, 157–163. [https://doi.org/10.1016/S0044-328X\(83\)80162-7](https://doi.org/10.1016/S0044-328X(83)80162-7).
285. Yang, J., Tang, H., Zhang, X., Zhu, X., Huang, Y., and Yang, Z. (2018). High temperature and pH favor *Microcystis aeruginosa* to outcompete *Scenedesmus obliquus*. *Environ. Sci. Pollut. Res.* *25*, 4794–4802. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0887-0>.
286. Tonk, L., Bosch, K., Visser, P.M., and Huisman, J. (2007). Salt tolerance of the harmful cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Aquat. Microb. Ecol.* *46*, 117–123. <https://doi.org/10.3354/ame046117>.

287. McDonnell, B., Parlindungan, E., Vasiliauskaite, E., Bottacini, F., Coughlan, K., Krishnaswami, L.P., Sassen, T., Lugli, G.A., Ventura, M., Mastroleo, F., et al. (2024). Viromic and Metagenomic Analyses of Commercial *Spirulina* Fermentations Reveal Remarkable Microbial Diversity. *Viruses* 16, 1039. <https://doi.org/10.3390/v16071039>.
288. Zhong, Z.-P., Liu, Y., Wang, F., Zhou, Y.-G., Liu, H.-C., Liu, Q., and Liu, Z.-P. (2016). *Planktosalinus lacus* gen. nov., sp. nov., a member of the family Flavobacteriaceae isolated from a salt lake. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 66, 2084–2089. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000997>.
289. Lee, D.-J., Wong, B.-T., and Adav, S.S. (2014). *Azoarcus taiwanensis* sp. nov., a denitrifying species isolated from a hot spring. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98, 1301–1307. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-4976-9>.
290. Lin, S.-Y., Hameed, A., Liu, Y.-C., Hsu, Y.-H., Hung, M.-H., Lai, W.-A., and Young, C.-C. (2017). *Ruficoccus amylovorans* gen. nov., sp. nov., an amyolytic and nitrate-reducing diazotroph of the family Puniceococcaceae. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 67, 956–962. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001723>.
291. Feng, X., Zou, Q.-H., Zhang, X.-Y., Ye, M.-Q., and Du, Z.-J. (2020). *Oceanipulchritudo coccoides* gen. nov., sp. nov., isolated from marine sediment within the family Puniceococcaceae. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 70, 5654–5664. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004458>.
292. Xie, Z., Dou, Y., Ping, S., Chen, M., Wang, G., Elmerich, C., and Lin, M. (2006). Interaction between NifL and NifA in the nitrogen-fixing *Pseudomonas stutzeri* A1501. *Microbiology* 152, 3535–3542. <https://doi.org/10.1099/mic.0.29171-0>.
293. Ernst, A., Deicher, M., Herman, P.M.J., and Wollenzien, U.I.A. (2005). Nitrate and Phosphate Affect Cultivability of Cyanobacteria from Environments with Low Nutrient Levels. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 3379–3383. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.6.3379-3383.2005>.
294. Yoon, S.-H., Ha, S., Lim, J., Kwon, S., and Chun, J. (2017). A large-scale evaluation of algorithms to calculate average nucleotide identity. *Antonie Van Leeuwenhoek* 110, 1281–1286. <https://doi.org/10.1007/s10482-017-0844-4>.
295. Mühlhling, M., Somerfield, P.J., Harris, N., Belay, A., and Whitton, B.A. (2006). Phenotypic analysis of *Arthrospira* (*Spirulina*) strains (cyanobacteria). *Phycologia* 45, 148–157. <https://doi.org/10.2216/05-21.1>.
296. Ma, Z., Fang, T., Thring, R.W., Li, Y., Yu, H., Zhou, Q., and Zhao, M. (2015). Toxic and non-toxic strains of *Microcystis aeruginosa* induce temperature dependent allelopathy toward growth and photosynthesis of *Chlorella vulgaris*. *Harmful Algae* 48, 21–29. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2015.07.002>.
297. Mikalsen, B., Boison, G., Skulberg, O.M., Fastner, J., Davies, W., Gabrielsen, T.M., Rudi, K., and Jakobsen, K.S. (2003). Natural Variation in the Microcystin Synthetase Operon mcyABC and Impact on Microcystin Production in *Microcystis* Strains. *J. Bacteriol.* 185, 2774–2785. <https://doi.org/10.1128/jb.185.9.2774-2785.2003>.
298. Rantala, A., Fewer, D.P., Hisbergues, M., Rouhiainen, L., Vaitomaa, J., Börner, T., and Sivonen, K. (2004). Phylogenetic evidence for the early evolution of microcystin synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101, 568–573. <https://doi.org/10.1073/pnas.0304489101>.
299. Jungblut, A.-D., and Neilan, B.A. (2006). Molecular identification and evolution of the cyclic peptide hepatotoxins, microcystin and nodularin, synthetase genes in three orders of cyanobacteria. *Arch. Microbiol.* 185, 107–114. <https://doi.org/10.1007/s00203-005-0073-5>.
300. Rantala-Ylänen, A., Känä, S., Wang, H., Rouhiainen, L., Wahlsten, M., Rizzi, E., Berg, K., Guggen, M., and Sivonen, K. (2011). Anatoxin-a Synthetase Gene Cluster of the Cyanobacterium

- Anabaena sp. Strain 37 and Molecular Methods To Detect Potential Producers. *Appl. Environ. Microbiol.* *77*, 7271–7278. <https://doi.org/10.1128/AEM.06022-11>.
301. Ling, N., Mao, Y., Zhang, X., Mo, Z., Wang, G., and Liu, W. (2007). Sequence analysis of *Arthrospira maxima* based on fosmid library. *J. Appl. Phycol.* *19*, 333–346. <https://doi.org/10.1007/s10811-006-9140-9>.
302. Zhao, F., Zhang, X., Liang, C., Wu, J., Bao, Q., and Qin, S. (2006). Genome-wide analysis of restriction-modification system in unicellular and filamentous cyanobacteria. *Physiol. Genomics* *24*, 181–190. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00255.2005>.
303. Xu, T., Qin, S., Hu, Y., Song, Z., Ying, J., Li, P., Dong, W., Zhao, F., Yang, H., and Bao, Q. (2016). Whole genomic DNA sequencing and comparative genomic analysis of *Arthrospira platensis*: high genome plasticity and genetic diversity. *DNA Res.* *23*, 325–338. <https://doi.org/10.1093/dnares/dsw023>.
304. Jeamton, W., Dulsawat, S., Tanticharoen, M., Vonshak, A., and Cheevadhanarak, S. (2017). Overcoming Intrinsic Restriction Enzyme Barriers Enhances Transformation Efficiency in *Arthrospira platensis* C1. *Plant Cell Physiol.* *58*, 822–830. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcx016>.
305. Silas, S., Makarova, K.S., Shmakov, S., Páez-Espino, D., Mohr, G., Liu, Y., Davison, M., Roux, S., Krishnamurthy, S.R., Fu, B.X.H., et al. (2017). On the Origin of Reverse Transcriptase-Using CRISPR-Cas Systems and Their Hyperdiverse, Enigmatic Spacer Repertoires. *mBio* *8*, 10.1128/mbio.00897-17. <https://doi.org/10.1128/mbio.00897-17>.
306. Castillo, M., Guevara, G., Baldanta, S., Rodríguez, P.S., Algibe, L.A., Nogales, J., Carrasco, A.D., Arribas-Aguilar, F., Pérez-Pérez, J., García, J.L., et al. (2023). Characterization of *Limnospira platensis* PCC 9108 R-M and CRISPR-Cas systems. *Microbiol. Res.*, 127572. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2023.127572>.
307. Makarova, K.S., Wolf, Y.I., Iranzo, J., Shmakov, S.A., Alkhnbashi, O.S., Brouns, S.J.J., Charpentier, E., Cheng, D., Haft, D.H., Horvath, P., et al. (2020). Evolutionary classification of CRISPR–Cas systems: a burst of class 2 and derived variants. *Nat. Rev. Microbiol.* *18*, 67–83. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0299-x>.
308. Faure, G., Makarova, K.S., and Koonin, E.V. (2019). CRISPR–Cas: Complex Functional Networks and Multiple Roles beyond Adaptive Immunity. *J. Mol. Biol.* *431*, 3–20. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2018.08.030>.
309. Cao, J., Xu, Z., Qiu, G., and Li, B. (1999). Effects of Mg²⁺ on the growth and DNase activity of *Spirulina platensis*, a cyanobacterium. *Bioresour. Technol.* *67*, 287–290. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(98\)00116-3](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(98)00116-3).
310. Stucken, K., Koch, R., and Dagan, T. (2013). Cyanobacterial defense mechanisms against foreign DNA transfer and their impact on genetic engineering. *Biol. Res.* *46*, 373–382. <https://doi.org/10.4067/S0716-97602013000400009>.
311. Thoraval, I. (2017). CLE DE DETERMINATION DES CONTAMINANTS PRESENTS DANS LES CULTURES DE SPIRULINE (Fédération des Spiuliniers de France).
312. Komárek, J., Kopecký, J., and Cepák, V. (1999). Generic characters of the simplest cyanoprokaryotes *Cyanobium*, *Cyanobacterium* and *Synechococcus*. *Cryptogam. Algal.* *20*, 209–222. [https://doi.org/10.1016/S0181-1568\(99\)80015-4](https://doi.org/10.1016/S0181-1568(99)80015-4).
313. Milford, A.D., Achenbach, L.A., Jung, D.O., and Madigan, M.T. (2000). *Rhodobaca bogoriensis* gen. nov. and sp. nov., an alkaliphilic purple nonsulfur bacterium from African Rift Valley soda lakes. *Arch. Microbiol.* *174*, 18–27. <https://doi.org/10.1007/s002030000166>.

314. Vergalli, J., Fayolle, S., Combes, A., Franquet, E., and Comte, K. (2020). Persistence of microcystin production by *Planktothrix agardhii* (Cyanobacteria) exposed to different salinities. *Phycologia* 59, 24–34. <https://doi.org/10.1080/00318884.2019.1664875>.
315. Houliez, E., Briand, E., Malo, F., Rovillon, G.-A., Hervé, F., Robert, E., Marchand, L., Zykwinska, A., and Caruana, A.M.N. (2021). Physiological changes induced by sodium chloride stress in *Aphanizomenon gracile*, *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Dolichospermum* sp. *Harmful Algae* 103, 102028. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2021.102028>.
316. Zarrouk, C. (1966). Contribution to the cyanophyceae study: influence various physical and chemical factors on growth and photosynthesis of *Spirulina maxima*.
317. Maileht, K., Nöges, T., Nöges, P., Ott, I., Mischke, U., Carvalho, L., and Dudley, B. (2013). Water colour, phosphorus and alkalinity are the major determinants of the dominant phytoplankton species in European lakes. *Hydrobiologia* 704, 115–126. <https://doi.org/10.1007/s10750-012-1348-x>.
318. Santos, K.R. de S., Hentschke, G.S., Sakamoto, A.Y., Carvalho, L.R. de, and Sant'Anna, C.L. (2024). Ecophysiological investigation of the cyanobacteria *Anabaenopsis elenkinii* and *Limnospira platensis*: predominant species in saline/alkaline lakes of the Pantanal Wetland. *Acta Limnol. Bras.* 36, e22. <https://doi.org/10.1590/S2179-975X10323>.
319. Molina-Grima, E., García-Camacho, F., Acién-Fernández, F.G., Sánchez-Mirón, A., Plouviez, M., Shene, C., and Chisti, Y. (2022). Pathogens and predators impacting commercial production of microalgae and cyanobacteria. *Biotechnol. Adv.* 55, 107884. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107884>.
320. Barco, R.A., Garrity, G.M., Scott, J.J., Amend, J.P., Neelson, K.H., and Emerson, D. (2020). A Genus Definition for Bacteria and Archaea Based on a Standard Genome Relatedness Index. *mBio* 11, 10.1128/mbio.02475-19. <https://doi.org/10.1128/mbio.02475-19>.
321. Yang, F., Huang, F., Feng, H., Wei, J., Massey, I.Y., Liang, G., Zhang, F., Yin, L., Kacew, S., Zhang, X., et al. (2020). A complete route for biodegradation of potentially carcinogenic cyanotoxin microcystin-LR in a novel indigenous bacterium. *Water Res.* 174, 115638. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115638>.
322. Bourne, D.G., Jones, G.J., Blakeley, R.L., Jones, A., Negri, A.P., and Riddles, P. (1996). Enzymatic pathway for the bacterial degradation of the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin LR. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 4086–4094. <https://doi.org/10.1128/aem.62.11.4086-4094.1996>.
323. Kumar, P., Hegde, K., Brar, S.K., Cledon, M., Kermanshahi-pour, A., Roy-Lachapelle, A., and Galvez-Cloutier, R. (2018). Biodegradation of microcystin-LR using acclimatized bacteria isolated from different units of the drinking water treatment plant. *Environ. Pollut.* 242, 407–416. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.07.008>.
324. Massey, I.Y., and Yang, F. (2020). A Mini Review on Microcystins and Bacterial Degradation. *Toxins* 12, 268. <https://doi.org/10.3390/toxins12040268>.
325. Islam, A., Jeon, D., Ra, J., Shin, J., Kim, T.-Y., and Lee, Y. (2018). Transformation of microcystin-LR and olefinic compounds by ferrate(VI): Oxidative cleavage of olefinic double bonds as the primary reaction pathway. *Water Res.* 141, 268–278. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.05.009>.
326. Takenaka, S., and Tanaka, Y. (1995). Decomposition of cyanobacterial microcystins by iron(III) chloride. *Chemosphere* 30, 1–8. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(94\)00370-A](https://doi.org/10.1016/0045-6535(94)00370-A).
327. Takenaka, S., and Tanaka, Y. (1995). Behavior of microcystins and its decomposition product in water treatment process. *Chemosphere* 31, 3635–3641. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(95\)00212-Q](https://doi.org/10.1016/0045-6535(95)00212-Q).

ANNEXES

Annexe I – Supplementary Material (Chapitre II)

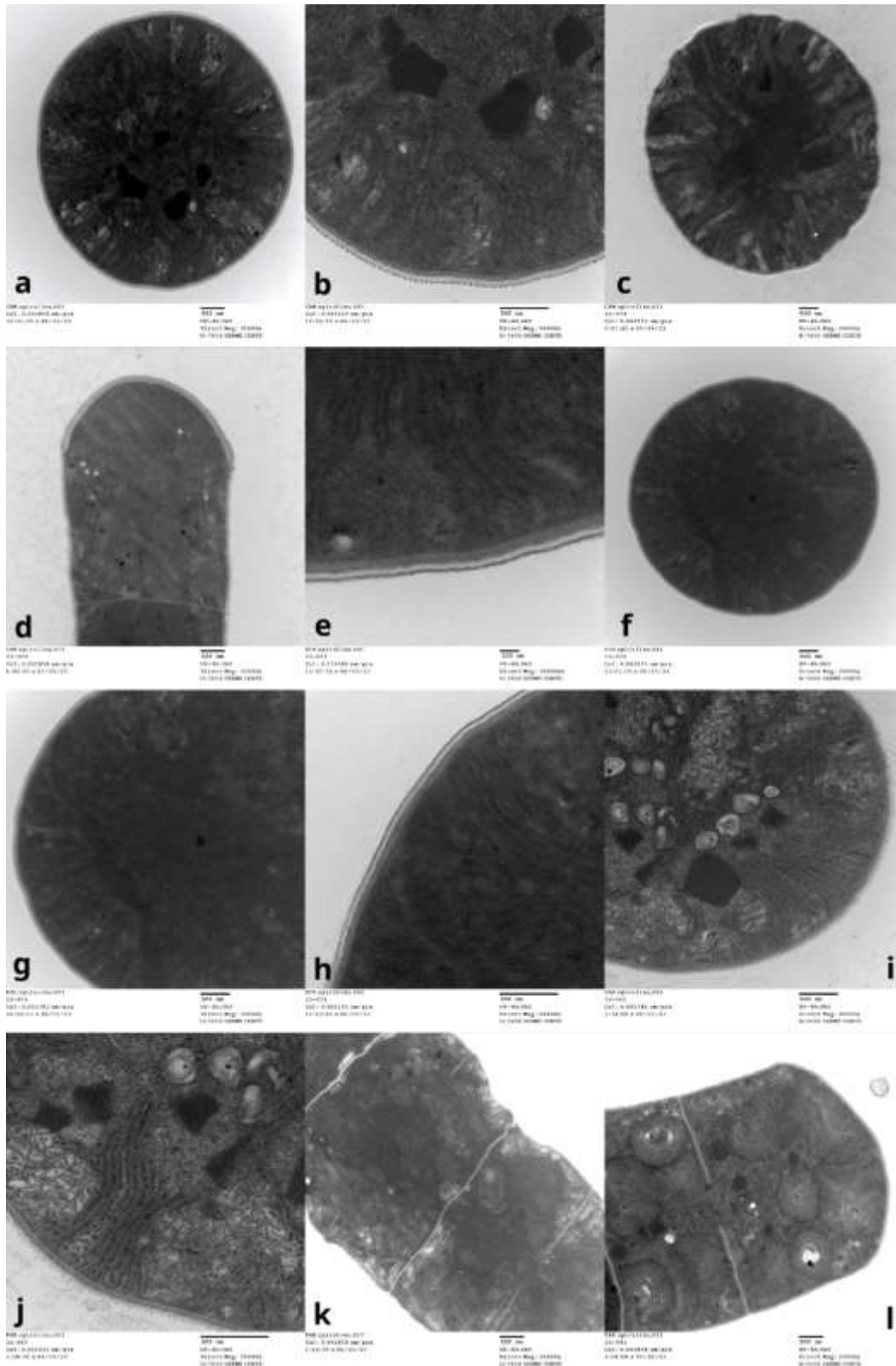


Figure S1. *Limnospira* TEM views, related to Figure 4. *L. maxima* CAM_GP (a-d), *L. maxima* ETH_PS (e-h), *L. platensis* PAR_GP (i-l).

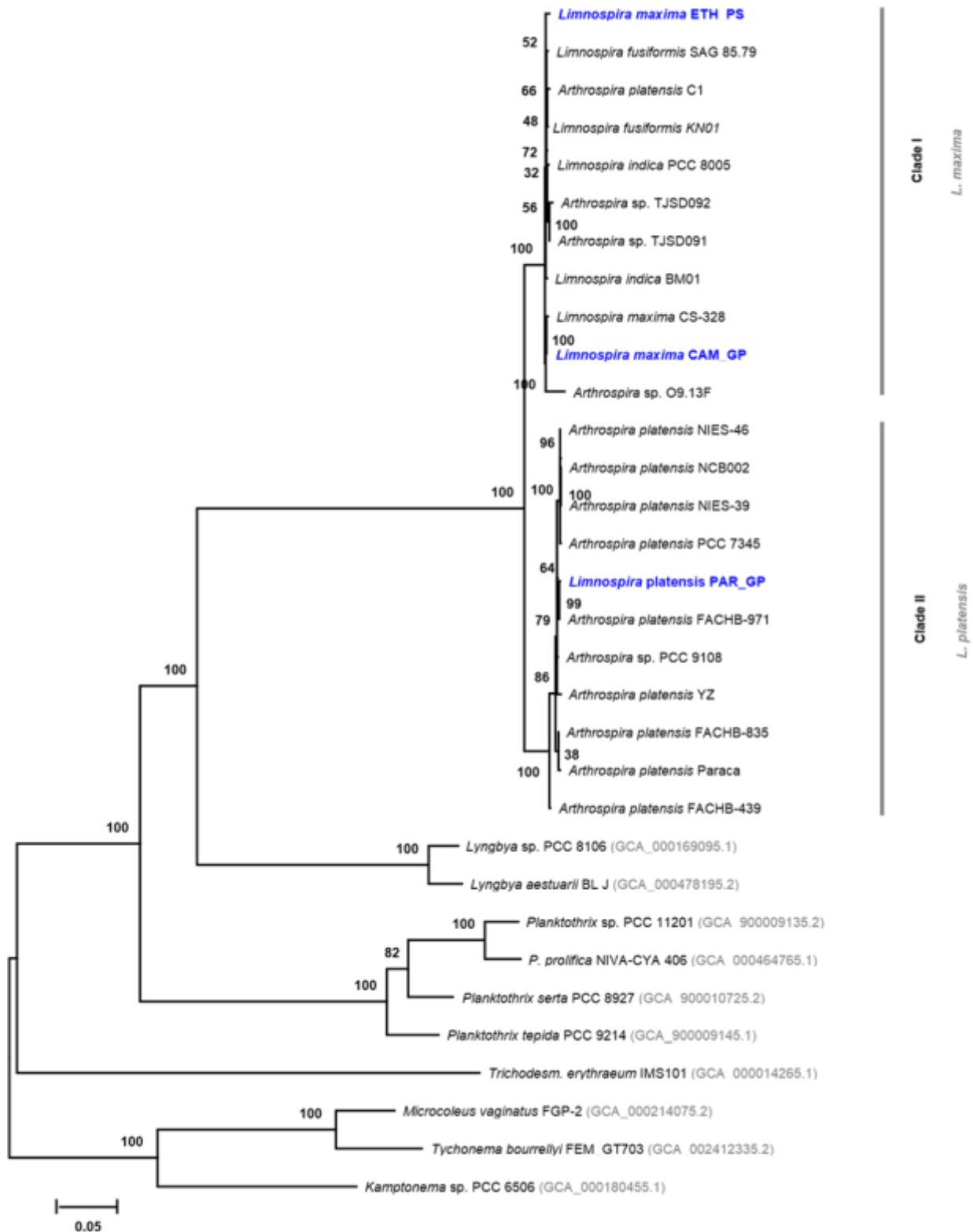


Figure S2. Phylogenomic maximum likelihood tree of 22 *Limnospira* genomes and 10 cyanobacterial reference genomes, related to Figure 5. The RaxML tree was constructed from 18,746 variable aminoacid positions based on a protein alignment of 92 housekeeping genes under the GTR4G model using 100 bootstrap replicates. Bootstrap values are shown at the nodes. All taxa of the genus *Limnospira* are located in two distinct subtrees (clade I, clade II). The bar represents relative number of changes per amino acid position.

Table S1. *Limnospira* 16S rRNA amplicon sequences, related to figure 1. Species diagnostic nucleotides in red.

OTU	Taxa	Fasta V3-V4 16s rRNA
OTU1_TG	<i>Limnospira maxima</i>	<pre> >Otu1_TG TGGGGAATTTTCCGCAATGGGCGCAAGCCTGACGGAGCAAGACCGCGTGGGGGAGGAAGGCTCTTGGG TTGTAAACCCCTTTTCTCAAGGAAGAACAATGACGGTACTTGAGGAATAAGCCTCGGCTAACTCCGTG CCAGCAGCCCGCGTAATACGGAGGAGGCAAGCGTTATCCGGAATGATTGGGCGTAAAGCGTCCGTAGG TGGCTGTTCAAGTCTGCTGTCAAAGACAGTGGCTAACTACTGAAAGGCAGTGGAAACTGAACAGCTAGA GTACGGTAGGGGCAGAGGGAATTCGCGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCGGGAAGAACACCGGT GGCGAAAGCGCTCTGCTGGGCCGTAAGTACTGACACTGAGGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAATG </pre>
OTU1_AA	<i>Limnospira platensis</i>	<pre> >Otu1_AA TGGGGAATTTTCCGCAATGGGCGCAAGCCTGACGGAGCAAGACCGCGTGGGGGAGGAAGGCTCTTGGG TTGTAAACCCCTTTTCTCAAGGAAGAACAATGACGGTACTTGAGGAATAAGCCTCGGCTAACTCCGTG CCAGCAGCCCGCGTAATACGGAGGAGGCAAGCGTTATCCGGAATGATTGGGCGTAAAGCGTCCGTAGG TGGCAGTTCAAGTCTGCTGTCAAAGACAGTAGCTCAACTACTGAAAGGCAGTGGAAACTGAACAGCTAG AGTACGGTAGGGGCAGAGGGAATTCGCGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCGGGAAGAACACCGG TGGCGAAAGCGCTCTGCTGGGCCGTAAGTACTGACACTGAGGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAATG </pre>

Table S2. Alphabetical list of strains of *Limnospira maxima* (Clade I) and *L. platensis* (Clade II), related to figures 1, 6 and 7.

Specie	Strain	Initial name	Origin	Reference ¹
<i>L. maxima</i>	AB 2002/01	<i>A. fusiformis</i>	Lake Elmenteita, Kenya	e
<i>L. maxima</i>	AB 2002/02	<i>A. fusiformis</i>	Lake Sonachi, Kenya	e
<i>L. maxima</i>	AB 2002/03	<i>A. fusiformis</i>	Lake Magadi, Kenya	e
<i>L. maxima</i>	AB 2002/04	<i>A. fusiformis</i>	Lake Nakuru, Kenya	e
<i>L. maxima</i>	AB 2002/05	<i>A. fusiformis</i>	Lake Bogoria, Kenya	e
<i>L. maxima</i>	AB 2002/07	<i>Phormidium terebriformis</i> cf.	Lake Nakuru, Kenya	e
<i>L. maxima</i>	AB 2002/10	<i>A. fusiformis</i>	Lake Bogoria, Kenya	e
<i>L. maxima</i>	AB 2002/11	<i>A. fusiformis</i>	Lake Simbi, Kenya	e
<i>L. platensis</i>	Berhampur	<i>A. platensis</i>	Berhampur, India	b, c
<i>L. platensis</i>	BJ 2000	<i>A. maxima</i>		e
<i>L. maxima</i>	BM01	<i>A. indica</i>		a
<i>L. maxima</i>	Burma	<i>Arthrospira sp.</i>	Burma	e
<i>L. maxima</i>	C1	<i>Arthrospira sp.</i>	Lake Bodou, Kanem, Chad	a, b, c, d, e
<i>L. platensis</i>	CCALA 030	<i>Arthrospira sp.</i>		e
<i>L. maxima</i>	CCAP 1406/2	<i>A. maxima</i>	Lake Naivasha, Kenya	c, d
<i>L. maxima</i>	CCAP 1475/8	<i>A. fusiformis</i>	Lake Chitu, Ethiopia	c, d
<i>L. maxima</i>	CCAP 1475/9	<i>A. maxima</i>	Natron Lake, Chad	b, c, d
<i>L. platensis</i>	CH1			e
<i>L. platensis</i>	Compere 1968/3786	<i>A. sp. ('platensis')</i>	Lake Bodou, Chad	b, c, d
<i>L. platensis</i>	Compere 86.79	<i>A. sp. ('platensis')</i>	Natron Lake, Chad	c, d
<i>L. platensis</i>	Crater	<i>Arthrospira 'crater'</i>	Volcano lake, Queretano, Mexico	b, c, d
<i>L. maxima</i>	CS-328	<i>A. maxima</i>		a, e
<i>L. maxima</i>	EF-18A	<i>Arthrospira sp.</i>	Earthrise, CA, USA	b, c, d
<i>L. platensis</i>	EF-2	<i>Arthrospira sp.</i>	Earthrise, CA, USA	b, c
<i>L. maxima</i>	F3C			e
<i>L. platensis</i>	FACHB 438	<i>A. maxima</i>		e
<i>L. platensis</i>	FACHB 439	<i>A. platensis</i>		a
<i>L. platensis</i>	FACHB 834	<i>A. platensis</i>		e

Specie	Strain	Initial name	Origin	Reference ¹
<i>L. platensis</i>	FACHB 835	<i>A. platensis</i>		a, e
<i>L. platensis</i>	FACHB 971	<i>A. platensis</i>		a, e
<i>L. platensis</i>	Hegewald 1976	<i>A. fusiformis</i>	Lake Nakuru, Kenya	b, c, d
<i>L. platensis</i>	Hindak 1985/1	<i>A. fusiformis</i>	Lake Arenguade, Ethiopia	b, c, d
<i>L. platensis</i>	IP CCIBt3336	<i>A. platensis</i>	Pantanal da Nhecolândia, Brazil	a, f
<i>L. maxima</i>	KN01	<i>A. fusiformis</i>		a, d, e
<i>L. platensis</i>	KR 2004/12			e
<i>L. maxima</i>	Laporte 1963/M132-2b	<i>A. sp. ('platensis')</i>	Natron Lake, Chad	c, d
<i>L. maxima</i>	Lefevre 1963/M132-1	<i>A. maxima</i>	Natron Lake, Chad	b, c, e
<i>L. platensis</i>	Leonard & Wouters 1968	<i>A. sp. ('platensis')</i>	Lake Bodou, Chad	b, c, d
<i>L. maxima</i>	Lonar	<i>Arthrospira 'Lonar'</i>	Lake Lonar, India	c, d
<i>L. platensis</i>	MCRC isolate spiral	<i>A. indica</i>	Madras, India	b, c
<i>L. maxima</i>	MCRC isolate straight	<i>A. indica</i>	Madras, India	b, c
<i>L. maxima</i>	Moz 1	<i>A. fusiformis</i>	Mozambique	e
<i>L. maxima</i>	Moz 2	<i>A. fusiformis</i>	Mozambique	e
<i>L. platensis</i>	NIES-39	<i>A. platensis</i>	Lake Chad, Chad	a, e
<i>L. platensis</i>	NIES-46	<i>A. platensis</i>	Lake Texcoco, Mexico	a, e
<i>L. platensis</i>	Nigrita C1	<i>Arthrospira sp.</i>	Greek Spirulina plant	d, e
<i>L. maxima</i>	Nigrita M1	<i>Arthrospira sp.</i>	Greek Spirulina plant	d, e
<i>L. platensis</i>	NJ 1999	<i>A. platensis</i>		e
<i>L. maxima</i>	NMG			e
<i>L. maxima</i>	omsk 09.13F clone III	<i>Limnospira sp.</i>	Solenoye Lake, Siberia	a, e
<i>L. maxima</i>	omsk 09.13F IB	<i>Limnospira sp.</i>	Solenoye Lake, Siberia	a, e
<i>L. maxima</i>	omsk 09.13H IB	<i>Limnospira sp.</i>	Solenoye Lake, Siberia	e
<i>L. platensis</i>	Orovilca	<i>Arthrospira 'Orovilca'</i>	Lake Orovilca, Peru	b, c, d
<i>L. platensis</i>	Paraca UASWS	<i>A. platensis</i>	Peru	a, e
<i>L. platensis</i>	Paracas R14	<i>A. platensis</i>	Peru	e
<i>L. platensis</i>	PCC 7345	<i>A. platensis</i>	Saline marsh, CA, USA	a, b, c, d, e
<i>L. maxima</i>	PCC 7939	<i>Arthrospira sp.</i>	nd	b, c

Specie	Strain	Initial name	Origin	Reference ¹
<i>L. maxima</i>	PCC 7940	<i>Arthrospira</i> sp.	nd	c, d
<i>L. maxima</i>	PCC 8005	<i>Arthrospira</i> sp.	nd	a, b, c, d, e
<i>L. platensis</i>	PCC 8006	<i>Arthrospira</i> sp.	nd	b, c, d
<i>L. platensis</i>	PCC 9108	<i>Arthrospira</i> sp.	Commercial, Cheng-hai, China	a, b, c, d, e
<i>L. maxima</i>	PCC 9223	<i>Arthrospira</i> sp.	Lake Santa Olalla, Spain	b, c, d, e
<i>L. maxima</i>	PD 1997/ram	<i>A. indica</i>	Lake Ramgarh, India	e
<i>L. maxima</i>	PD 1998/pus	<i>A. indica</i>	Lake Pushkar, India	e
<i>L. maxima</i>	PD 2002/ana	<i>A. indica</i>	Lake Pushkar, India	e
<i>L. platensis</i>	PLM2.Bin9	<i>Arthrospira</i> sp.		a
<i>L. maxima</i>	PMC 1042.18	<i>Arthrospira</i> sp.	Lac Natron, Tanzanie	e
<i>L. maxima</i>	PMC 1223.20	<i>Limnospira</i> sp.	Saintes Maries de la mer, France	e
<i>L. maxima</i>	PMC 1234.20	<i>Limnospira</i> sp.	Saintes Maries de la mer, France	e
<i>L. maxima</i>	PMC 1236.20	<i>Limnospira</i> sp.	Saintes Maries de la mer, France	e
<i>L. maxima</i>	PMC 1238.20	<i>Limnospira</i> sp.	Saintes Maries de la mer, France	e
<i>L. maxima</i>	PMC 1240.20	<i>Limnospira</i> sp.	Saintes Maries de la mer, France	e
<i>L. maxima</i>	PMC 1242.20	<i>Limnospira</i> sp.	Saintes Maries de la mer, France	e
<i>L. maxima</i>	PMC 1243.20	<i>Limnospira</i> sp.	Saintes Maries de la mer, France	e
<i>L. maxima</i>	PMC 1245.20	<i>Limnospira</i> sp.	Saintes Maries de la mer, France	e
<i>L. maxima</i>	PMC 1249.20	<i>Limnospira</i> sp.	Saintes Maries de la mer, France	e
<i>L. maxima</i>	PMC 1252.20	<i>Limnospira</i> sp.	Saintes Maries de la mer, France	e
<i>L. maxima</i>	PMC 1254.20	<i>Limnospira</i> sp.	Saintes Maries de la mer, France	e
<i>L. maxima</i>	PMC 1256.20	<i>Limnospira</i> sp.	Saintes Maries de la mer, France	e
<i>L. maxima</i>	PMC 1261.20	<i>Limnospira</i> sp.	Saintes Maries de la mer, France	e
<i>L. maxima</i>	PMC 1279.21	<i>Limnospira</i> sp.	Saintes Maries de la mer, France	e
<i>L. maxima</i>	PMC 1280.21	<i>Limnospira</i> sp.	Saintes Maries de la mer, France	e
<i>L. maxima</i>	PMC 1281.21	<i>Limnospira</i> sp.	Saintes Maries de la mer, France	e
<i>L. maxima</i>	PMC 1286.21	<i>Limnospira</i> sp.	Saintes Maries de la mer, France	e
<i>L. maxima</i>	PMC 1290.21	<i>Limnospira</i> sp.	Saintes Maries de la mer, France	e
<i>L. maxima</i>	PMC 1291.21	<i>Limnospira</i> sp.	Saintes Maries de la mer, France	e
<i>L. maxima</i>	PMC 1293.21	<i>Limnospira</i> sp.	Saintes Maries de la mer, France	e
<i>L. maxima</i>	PMC 1295.21	<i>Limnospira</i> sp.	Saintes Maries de la mer, France	e

Specie	Strain	Initial name	Origin	Reference ¹
<i>L. maxima</i>	PMC 1298.21	<i>Limnospira</i> sp.	Saintes Maries de la mer, France	e
<i>L. maxima</i>	PMC 1306.21	<i>Limnospira</i> sp.	Saintes Maries de la mer, France	e
<i>L. platensis</i>	PMC 289.06	<i>L. platensis</i>		e
<i>L. maxima</i>	PMC 737.11	<i>L. fusiformis</i>	Dziani, Mayotte	e
<i>L. maxima</i>	PMC 894.15	<i>L. fusiformis</i>	Dziani, Mayotte	e
<i>L. maxima</i>	PMC 917.15	<i>L. fusiformis</i>	Dziani, Mayotte	e
<i>L. platensis</i>	PSol CCIBt3254		Pantanal da Nhecolândia, Brazil	a, f
<i>L. platensis</i>	rsemsu 1/02	<i>A. platensis</i>		e
<i>L. maxima</i>	SAG 21.99			e
<i>L. platensis</i>	SAG 257.80	<i>A. platensis</i>	Laguna Huacachina, Peru	b, c, e
<i>L. maxima</i>	SAG 49.88			e
<i>L. maxima</i>	SAG 84.79	<i>A. maxima</i>	Natron Lake, Chad	b, c, d, e
<i>L. maxima</i>	SAG 85.79	<i>A. platensis</i>	Natron Lake, Chad	a, c, d, e
<i>L. maxima</i>	SAG 86.79	<i>A. platensis</i>	Natron Lake, Chad	c
<i>L. platensis</i>	SH-MAG29	<i>Arthrospira</i> sp.		a
<i>L. platensis</i>	SM CCIBt3335	<i>A. platensis</i>	Pantanal da Nhecolândia, Brazil	a, f
<i>L. platensis</i>	SP-1 (D0884)	<i>A. platensis</i>	Lake Texcoco, Mexico	b, c, d
<i>L. maxima</i>	Sp-1 (DQ279770)	<i>Arthrospira</i> sp.		e
<i>L. maxima</i>	SP-10	<i>Arthrospira</i> sp.	Madagascar	b
<i>L. platensis</i>	SP-12	<i>Arthrospira</i> sp.	Proteus, CA, USA	b, c, d
<i>L. platensis</i>	SP-13	<i>Arthrospira</i> sp.	nd	c, d
<i>L. maxima</i>	SP-14 (D0897)	<i>Arthrospira</i> sp.	nd	c, d, e
<i>L. maxima</i>	SP-15	<i>Arthrospira</i> sp.	nd	b
<i>L. platensis</i>	Sp-16	<i>Arthrospira</i> sp.	nd	e
<i>L. maxima</i>	SP-16 (D0899)	<i>Arthrospira</i> sp.	SAC, Thailand	b, c, d
<i>L. platensis</i>	Sp-17			e
<i>L. maxima</i>	SP-17 (D0900)	<i>Arthrospira</i> sp.	SAC, Thailand	b, c, d
<i>L. maxima</i>	SP-18	<i>Arthrospira</i> sp.	SAC, Thailand	b
<i>L. maxima</i>	SP-19	<i>Arthrospira</i> sp.	SAC, Thailand	b
<i>L. platensis</i>	SP-2 (D0885)	<i>A. platensis</i>	Lake Chad, Chad	b, c, d
<i>L. maxima</i>	Sp-2 (DQ279768)			e

Specie	Strain	Initial name	Origin	Reference ¹
<i>L. platensis</i>	Sp-3			e
<i>L. platensis</i>	Sp-4			e
<i>L. maxima</i>	SP-4 (D0997)	<i>A. platensis</i>		c
<i>L. platensis</i>	SP-7	<i>Arthrospira</i> sp.	Lake Texcoco, Mexico	b, c, d, e
<i>L. maxima</i>	SP-8	<i>Arthrospira</i> sp.	Lake Simbi, Kenya	c, d
<i>L. maxima</i>	Titicaca	<i>Arthrospira</i> 'Titicaca'	Lake Titicaca, Peru	b, c, d
<i>L. maxima</i>	TJSD091	<i>Arthrospira</i> sp.	Bohai, Chima	a, e
<i>L. maxima</i>	TJSD092	<i>Arthrospira</i> sp.	Tianjin, China	a, e
<i>L. maxima</i>	Twintaung IA	<i>Arthrospira</i> sp.	Twin Taung, Myanmar	e
<i>L. maxima</i>	Twintaung IB	<i>Arthrospira</i> sp.	Twin Taung, Myanmar	e
<i>L. platensis</i>	UTEX 1926	<i>A. platensis</i>	Saline marsh, CA, USA	b, c, d
<i>L. platensis</i>	UTEX 1928	<i>A. platensis</i>	Saline marsh, CA, USA	b, c, d
<i>L. maxima</i>	UTEX 2720	<i>A. maxima</i>	Lake Chitu, Ethiopia	a
<i>L. maxima</i>	UTEX LB 2342	<i>S. maxima</i>	Natron Lake, Chad	e
<i>L. maxima</i>	Yekha IB	<i>Arthrospira</i> sp.		e
<i>L. platensis</i>	YZ	<i>A. platensis</i>		a, e

¹: References mentioning strain: (a) this study, (b) [S1], (c) [S2], (d) [S3], (e) [S4], (f) [S5]. Reference strains in bold.

References

- S1. Baurain, D.; Renquin, L.; Grubisic, S.; Scheldeman, P.; Belay, A.; Wilmotte, A. Remarkable Conservation of Internally Transcribed Spacer Sequences of *Arthrospira* (*Spirulina*) (*Cyanophyceae*, *Cyanobacteria*) Strains from Four Continents and of Recent and 30-Year-Old Dried Samples from Africa. *J. Phycol.* **2002**, *38*, 384–393, doi:10.1046/j.1529-8817.2002.01010.x.
- S2. Scheldeman, P.; Baurain, D.; Bouhy, R.; Scott, M.; Mühling, M.; Whitton, B.A.; Belay, A.; Wilmotte, A. *Arthrospira* ('*Spirulina*') Strains from Four Continents Are Resolved into Only Two Clusters, Based on Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis of the Internally Transcribed Spacer. *FEMS Microbiol. Lett.* **1999**, *172*, 213–222, doi:10.1111/j.1574-6968.1999.tb13471.x.
- S3. Papapanagiotou, G.; Gkelis, S. Taxonomic Revision of Commercially Used *Arthrospira* (*Cyanobacteria*) Strains: A Polyphasic Approach. *Eur. J. Phycol.* **2019**, *54*, 595–608, doi:10.1080/09670262.2019.1624832.
- S4. Roussel, T.; Halary, S.; Duval, C.; Piquet, B.; Cadoret, J.-P.; Vernès, L.; Bernard, C.; Marie, B. Monospecific Renaming within the Cyanobacterial Genus *Limnospira* (*Spirulina*) and Consequences for Food Authorization. *J. Appl. Microbiol.* **2023**, *134*, lxad159, doi:10.1093/jambio/lxad159.
- S5. Santos, K.R. de S.; Hentschke, G.S.; Ferrari, G.; Andreote, A.P.D.; Fiore, M. de F.; Vasconcelos, V.; Sant'Anna, C.L. Molecular, Morphological and Ecological Studies of *Limnospira Platensis* (*Cyanobacteria*), from Saline and Alkaline Lakes, Pantanal Biome, Brazil. *Front. Environ. Sci.* **2023**, *11*, doi:10.3389/fenvs.2023.1204787.

Annexe II – Supplementary Material (Chapitre III)

Table S1: Genome used in this study

Name	Size (Mb)	Level	Accession
Phormidium tenue NIES-30	5.822	Scaffold	GCA_001904775.1
Phormidium yuhuli AB48	4.799	Complete	GCA_023983615.1
Phormidium ambiguum IAM M-71	7.411	Scaffold	GCA_001904725.1
Phormidium pseudopriestleyi FRX01	5.966	Contig	GCA_017313335.1
Phormidium tenue FACHB-1052	5.821	Contig	GCA_014696675.1
Phormidium sp. FACHB-592	7.082	Contig	GCA_014695795.1
Phormidium sp. FACHB-77	5.938	Contig	GCA_014695595.1
Phormidium sp. FACHB-322	5.721	Contig	GCA_014695965.1
Phormidium sp. CCY1219	7.536	Contig	GCA_035615515.1
Phormidium sp. PBR-2020	5.000	Complete	GCA_020386575.1
Phormidium tanganyikae FI6-MK23	5.741	Contig	GCA_019359175.1
Phormidium lacuna HE10JO	4.819	Scaffold	GCA_900149785.2
Phormidium willei BDU 130791	4.601	Contig	GCA_001637315.1
Phormidium sp. LEGE 05292	7.499	Contig	GCA_015207735.1
Sodalinema gerasimenkoeae IPPAS B-353	4.866	Scaffold	GCA_009846485.1

Table S2: Heterotrophic bacteria OTUs, number of read per sample and taxonomic assignment.

OTU	1S	2S	3S	4S	5S	6S	7S	8S	Phylum	Class	Order	Family	Best hit taxa	pid
Otu2	2	3	2	0	0	7905	0		Bacteroidota	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	<i>Planktosalinus lacus</i>	96.21%
Otu3	0	0	4270	8	0	145	0		Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Paracoccaceae	<i>Paracoccus ferrooxidans</i>	97.76%
Otu4	0	0	0	0	0	3776	0		Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Lysobacterales	Rhodanobacteraceae	<i>Pseudofulvimonas gallinarii</i>	97.19%
Otu5	0	919	4313	134	77	0	2342		Balneolota	Balneolia	Balneolales	Balneolaceae	<i>Rhodohalobacter mucosus</i>	90.76%
Otu7	2784	0	0	0	0	0	0		Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rickettsiales	Ehrlichaceae	<i>Lyticum flagellatum</i>	90.30%
Otu8	0	0	55	2204	0	3	4		Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Geminicoccaceae	<i>Arboricoccus pini</i>	93.28%
Otu9	0	0	2236	392	129	0	59		Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Wenzhouxiangellaceae	<i>Wenzhouxiangella marina</i>	99.07%
Otu10	129	31	1450	140	266	2318	88		Actinomycetota	Acidimicrobiia	Acidimicrobiales	Ilumatobacteraceae	<i>Ilumatobacter fluminis</i>	95.78%
Otu11	0	0	944	0	3	2102	129		Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Maricaulales	Maricaulaceae	<i>Glycocaulis abyssi</i>	100%
Otu12	0	0	2447	0	0	18	0		Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Oceanospirillales	Halomonadaceae	<i>Billgrandia kenyensis</i>	99.53%
Otu13	1736	0	0	0	0	0	0		Planctomycetota	Planctomycetia	Pirellulales	Lacipirellulaceae	<i>Adhaeretor mobilis</i>	88.94%
Otu14	2	70	254	1671	21	135	52		Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Paracoccaceae	<i>Rhodobaca sp.</i>	99.25%
Otu15	1384	0	0	0	0	0	0		Bacteroidota	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	<i>Flavobacterium luticocti</i>	99.76%
Otu16	0	0	1112	9	0	5	10		Actinomycetota	Acidimicrobiia	Acidimicrobiales	Lamiaceae	<i>Dermatobacter hominis</i>	97.04%
Otu17	0	0	0	20	10	1099	2		Chlamydiota	Chlamydiia	Chlamydiales	Parachlamydiaceae	<i>Neochlamydia hartmannellae</i>	86.28%
Otu18	218	14	6	5	1067	31	48		Actinomycetota	Actinomycetes	Micrococcales	Microbacteriaceae	<i>Rhodoluna sp.</i>	98.53%
Otu19	0	0	0	569	29	1056	0		Bacteroidota	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	<i>Psychroflexus salis</i>	95.97%
Otu20	0	0	0	0	3	1101	0		Pseudomonadota	Betaproteobacteria	Rhodocyclales	Zoogloeaceae	<i>Pseudazoarcus pumilus</i>	97.42%
Otu21	0	5	0	0	912	3	7		Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodovibrionaceae	<i>Fodinicurvata halophila</i>	93.53%
Otu22	0	0	0	0	897	0	15		Calditrichota	Calditrichia	Calditrichales	Calditrichaceae	<i>Calditrix palaeochoryensis</i>	81.54%
Otu23	55	26	168	107	4	1067	127		Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Paracoccaceae	<i>Paracoccus (Micrococcus) sp.</i>	99.00%
Otu24	0	0	839	3	0	2	0		Planctomycetota	Phycisphaerae	Phycisphaerales	Phycisphaeraceae	<i>Mucisphaera calidilacus</i>	81.55%
Otu25	0	0	16	0	0	0	666		Planctomycetota	Phycisphaerae	Phycisphaerales	Phycisphaeraceae	<i>Poriferisphaera corsica</i>	84.96%
Otu27	0	28	739	222	6	73	108		Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Hyphomicrobiales	Salinarimonadaceae	<i>Saliniramus fredricksonii</i>	99.75%
Otu28	0	21	686	147	656	0	64		Actinomycetota	Nitriliruptoria	Egicoccales	Egicoccaceae	<i>Egicoccus halophilus</i>	95.33%
Otu29	584	0	0	0	0	0	0		Verrucomicrobiota	Terrimicrobiia	Terrimicrobiales	Chthoniobacteraceae	<i>Chthoniobacter flavus</i>	89.12%
Otu30	0	5	0	0	0	557	8		Planctomycetota	Planctomycetia	Planctomycetales	Planctomycetaceae	<i>Rubinisphaera brasiliensis</i>	76.72%
Otu31	0	0	0	0	14	541	0		Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Oceanospirillales	Saccharospirillaceae	<i>Saccharospirillum alexandrii</i>	97.19%
Otu32	0	0	30	538	0	0	0		Planctomycetota	Phycisphaerae	Phycisphaerales	Phycisphaeraceae	<i>Mucisphaera calidilacus</i>	85.86%
Otu33	0	0	539	13	0	3	0		Actinomycetota	Actinomycetes	Kitasatosporales	Streptomycetaceae	<i>Streptomyces lavendulae</i>	84.03%
Otu34	460	0	0	0	0	0	0		Planctomycetota	Phycisphaerae	Phycisphaerales	Phycisphaeraceae	<i>Mucisphaera calidilacus</i>	87.75%
Otu35	0	2	653	2	0	4	29		Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Ectothiorhodospiraceae	<i>Spiribacter aquaticus</i>	89.23%
Otu36	22	451	0	60	0	13	18		Chlamydiota	Chlamydiia	Chlamydiales	Parachlamydiaceae	<i>Parachlamydia acanthamoebae</i>	85.31%
Otu37	0	0	0	447	0	0	17		Bacteroidota	Saprospira	Saprospirales	Lewinellaceae	<i>Flavilitoribacter nigricans</i>	89.29%
Otu38	0	0	0	0	0	407	0		Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Azospirillaceae	<i>Azospirillum griseum</i>	86.67%
Otu39	0	0	284	114	0	2	386		Chloroflexota	Candidatus Thermofontia	Phototrophicales	Phototrophicaceae	<i>Phototrophicus methaneseepsis</i>	88.09%
Otu40	0	0	364	3	0	2	17		Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Hyphomicrobiales	Devosiaceae	<i>Pelagibacterium limicola</i>	98.51%
Otu41	0	110	0	0	0	0	363		Bacteroidota	Saprospira	Saprospirales	Lewinellaceae	<i>Phaeodactylibacter luteus</i>	88.33%
Otu42	0	0	364	99	0	0	37		Spirochaetota	Spirochaetia	Spirochaetales	Spirochaetaceae	<i>Alkalispirochaeta cellulovorans</i>	90.40%

OTU	CS1	CS2	CS3	CS4	CS5	CS6	Phylum	Class	Order	Family	Best hit taxa	pid
Otu43	0	0	361	4	0	0	Planctomycetota	Phycisphaerae	Phycisphaerales	Phycisphaeraeaceae	<i>Mucisphaera calidilacus</i>	88.78%
Otu44	0	0	395	12	0	0	Pseudomonadota	Deltaproteobacteria	Desulfiovibrionales	Desulfiovibrionaceae	<i>Oceanidesulfovibrio marinus</i>	83.76%
Otu45	5	0	346	0	2	0	Planctomycetota	Phycisphaerae	Phycisphaerales	Phycisphaeraeaceae	<i>Algisphaera agarilytica</i>	82.63%
Otu46	325	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Roseobacteraceae	<i>Marivita lacus</i>	100.00%
Otu47	0	3	0	0	0	0	Verrucomicrobiota	Terrimicrobiia	Terrimicrobiales	Terrimicrobiaceae	<i>Terrimicrobium sacchariphilum</i>	90.12%
Otu49	0	0	284	6	0	37	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Ectothiorhodospiraceae	<i>Thioalkalivibrio thiocyanodenitrificans</i>	91.57%
Otu50	0	0	0	0	0	272	Planctomycetota	Planctomycetia	Pirellulales	Pirellulaceae	<i>Blastopirellula retiformator</i>	91.42%
Otu51	0	13	2453	928	209	14	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Paracoccaceae	<i>Rhodobaculum claviforme</i>	98.26%
Otu52	0	0	69	256	0	35	Pseudomonadota	Deltaproteobacteria	Bradymonadales	Bradymonadaceae	<i>Persicimonas caeni</i>	87.35%
Otu53	0	0	31	33	8	250	Bacteroidota	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Crocinitomicaceae	<i>Brumimicrobium aurantiacum</i>	92.42%
Otu54	0	38	33	239	21	19	Verrucomicrobiota	Opitulia	Puniceicoccales	Puniceicoccaceae	<i>Coraliomargarita sp.</i>	94.98%
Otu55	212	0	8	69	0	10	Bacteroidota	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Crocinitomicaceae	<i>Wandonia haliotis</i>	93.14%
Otu56	0	12	0	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rickettsiales	Ehrlichiaaceae	<i>Ehrlichia ruminantium</i>	81.39%
Otu57	0	52	0	0	196	0	Chloroflexota	Candidatus Thermofontia	Phototrophicales	Phototrophicaceae	<i>Phototrophicus methaneseepsis</i>	93.09%
Otu58	193	0	0	0	0	0	Actinomycetota	Actinomycetes	Acidothermales	Acidothermaceae	<i>Acidothermus cellulolyticus</i>	94.35%
Otu59	0	0	0	0	0	187	Chloroflexota	Candidatus Thermofontia	Phototrophicales	Phototrophicaceae	<i>Phototrophicus methaneseepsis</i>	89.33%
Otu60	0	0	0	85	187	0	Balneolota	Balneolia	Balneolales	Balneolaceae	<i>Rhodohalobacter barkolensis</i>	95.50%
Otu61	0	0	0	0	0	185	Bacteroidota	Cytophagia	Cytophagales	Cyclobacteriaceae	<i>Lunatimonas salinarum</i>	97.85%
Otu62	182	0	0	0	0	17	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Hyphomonadaceae	<i>Hyphomonas polymorpha</i>	99.75%
Otu63	0	0	0	0	0	191	Verrucomicrobiota	Verrucomicrobiia	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobiaceae	<i>Roseibacillus ponti</i>	87.21%
Otu64	0	0	0	3	0	0	Chloroflexota	Anaerolineae	not assigned	not assigned	<i>Thermomarinilinea lacunifontana</i>	87.00%
Otu66	0	0	177	5	0	0	Balneolota	Balneolia	Balneolales	Balneolaceae	<i>Rhodohalobacter mucosus</i>	87.03%
Otu67	0	0	40	176	0	13	Planctomycetota	Planctomycetia	Pirellulales	Pirellulaceae	<i>Crateriforma conspicua</i>	95.52%
Otu68	4	0	0	55	15	175	Pseudomonadota	Betaproteobacteria	Rhodocyclales	Zoogloeaceae	<i>Azoarcus taiwanensis</i>	100.00%
Otu69	0	0	247	20	0	0	Pseudomonadota	Deltaproteobacteria	Desulfiovibrionales	Desulfonatraceae	<i>Desulfonatronum thioautotrophicum</i>	84.58%
Otu70	0	0	169	28	10	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Roseobacteraceae	<i>Rhodovulum salis</i>	97.26%
Otu71	0	0	0	0	0	0	Planctomycetota	Planctomycetia	Gemmatales	Gemmataceae	<i>Fimbrioglobus ruber</i>	91.95%
Otu72	0	0	265	20	0	0	Actinomycetota	Nitriliruptoria	Egibacterales	Egibacteraceae	<i>Egibacter rhizosphaerae</i>	92.14%
Otu73	152	0	0	0	0	83	Bacteroidota	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Crocinitomicaceae	<i>Wandonia haliotis</i>	95.02%
Otu74	0	0	165	18	0	2	Chloroflexota	Candidatus Thermofontia	Phototrophicales	Phototrophicaceae	<i>Phototrophicus methaneseepsis</i>	90.82%
Otu75	0	0	0	47	0	148	Actinomycetota	Acidimicrobiia	Acidimicrobiales	Iamiaceae	<i>Rhabdotherrmincola sediminis</i>	96.03%
Otu76	0	19	0	0	0	148	Pseudomonadota	Betaproteobacteria	Spirillales	Nitrosomonadaceae	<i>Nitrosomonas halophila</i>	99.06%
Otu77	0	0	0	146	26	24	Verrucomicrobiota	Verrucomicrobiia	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobiaceae	<i>Brevifollis gellanilyticus</i>	87.94%
Otu78	5	0	3	11	0	146	Acidobacteriota	Terriglobia	Bryobacterales	Bryobacteraceae	<i>Paludibaculum fermentans</i>	92.54%
Otu79	0	0	0	0	0	144	Bacteroidota	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Schleiferiaceae	<i>Owenweeksia hongkongensis</i>	90.52%
Otu80	0	5	152	94	21	0	Bacteroidota	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Schleiferiaceae	<i>Croceimicrobium hydrocarbonivorans</i>	88.39%
Otu81	4	13	0	137	0	102	Planctomycetota	Planctomycetia	Planctomycetales	Planctomycetaceae	<i>Rubinisphaera brasiliensis</i>	97.30%
Otu82	139	0	0	0	0	0	Chloroflexota	Caldilineae	Caldilineales	Caldilineaceae	<i>Litorilinea aerophila</i>	86.60%

OTU	CS1	CS2	CS3	CS4	CS5	CS6	Phylum	Class	Order	Family	Best hit taxa	pid
Otu83	0	0	135	0	0	5	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Lysobacterales	Lysobacteraceae	<i>Arenimonas aquatic</i>	83.68%
Otu84	0	0	0	0	3	135	Bacillota	Clostridia	Eubacteriales	Vallitaleaceae	<i>Petrocella atlantisensis</i>	81.80%
Otu85	0	0	0	23	0	133	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Lysobacterales	Rhodanobacteraceae	<i>Dokdonella ginsengisoli</i>	82.90%
Otu86	0	0	0	9	0	5	Kiritimatiellota	Tichowtungia	Tichowtungiales	Tichowtungiaceae	<i>Tichowtungia aerotolerans</i>	86.42%
Otu87	0	0	0	0	0	169	Spirochaetota	Spirochaetia	Leptospirales	Leptospiraceae	<i>Leptospira idonei</i>	91.73%
Otu88	0	0	120	0	0	0	Verrucomicrobiota	Opitutia	Opitutales	Opitutaceae	<i>Alterococcus agarolyticus</i>	90.52%
Otu89	0	0	0	0	0	0	Chlamydiota	Chlamydiia	Chlamydiales	Simkaniaceae	<i>Simkania negevensis</i>	99.77%
Otu90	0	0	0	0	0	114	Pseudomonadota	Deltaproteobacteria	Desulfovibrionales	Desulfonatronaceae	<i>Desulfonatronum thioautotrophicum</i>	83.02%
Otu91	0	59	13	18	111	17	Verrucomicrobiota	Opitutia	Puniceococcales	Puniceococcaceae	<i>Oceanipulchritudo coccoides</i>	93.78%
Otu92	153	0	0	0	0	0	Actinomycetota	Actinomycetes	Micrococcales	Intrasporangiaceae	<i>Nostocoides vanveenii</i>	92.91%
Otu93	0	0	0	9	8	283	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	not assigned	not assigned	<i>Alkalimonas collagenimarina</i>	99.53%
Otu94	0	0	0	106	3	0	Pseudomonadota	Oligoflexia	Bacteriovoracales	Halobacteriovoracaceae	<i>Halobacteriovorax marinus</i>	94.16%
Otu95	105	13	0	0	0	0	Bacteroidota	Cytophagia	Cytophagales	Cyclobacteriaceae	<i>Lunaticobacter salilacus</i>	97.61%
Otu96	0	0	0	0	102	42	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Sneathiellales	Sneathiellaceae	<i>Marinibaculum pumilum</i>	98.51%
Otu97	0	0	0	0	0	102	Actinomycetota	Acidimicrobiia	Acidimicrobiales	Iamiaceae	<i>Rhabdotherrmincola sediminis</i>	94.79%
Otu98	0	0	0	0	0	93	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Hyphomicrobiales	Nitrobacteraceae	<i>Nitrobacter alkalicus</i>	100.00%
Otu99	99	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Hyphomicrobiales	Devosiaceae	<i>Pelagibacterium halotolerans</i>	98.26%
Otu100	0	0	137	24	0	14	Bacillota	Bacilli	Caryophanales	Paenibacillaceae	<i>Ammoniphilus oxalaticus</i>	83.89%
Otu101	16	2	0	0	87	0	Actinomycetota	Nitriliruptoria	Nitriliruptorales	Nitriliruptoraceae	<i>Nitriliruptor alkaliphilus</i>	95.58%
Otu102	0	0	85	24	0	0	Balneolota	Balneolia	Balneolales	Balneolaceae	<i>Rhodohalobacter barkolensis</i>	90.76%
Otu103	0	0	156	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rickettsiales	Rickettsiaceae	<i>Rickettsia rickettsii</i>	90.55%
Otu104	0	0	0	58	6	88	Chloroflexota	Caldilineae	Caldilineales	Caldilineaceae	<i>Litorilinea aereophila</i>	92.56%
Otu105	0	0	0	0	0	83	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Oceanivibrionales	Alcanivoracaceae	<i>Alloalcanivorax dieselolei</i>	97.19%
Otu106	0	0	87	0	4	16	Bacteroidota	Cytophagia	Cytophagales	Hymenobacteraceae	<i>Adhaeribacter aerophilus</i>	92.62%
Otu107	81	0	0	0	0	0	Bacteroidota	Saprospira	Saprospirales	Lewinellaceae	<i>Lewinella cohaerens</i>	88.33%
Otu108	0	0	50	80	36	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Maricaulales	Maricaulaceae	<i>Alkalicaulis satelles</i>	99.75%
Otu109	2	0	76	81	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Paracoccaceae	<i>Rubribacterium polymorphum</i>	99.75%
Otu110	0	0	0	0	0	78	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	<i>Aliidongia dinghuensis</i>	87.06%
Otu111	77	0	0	0	5	0	Pseudomonadota	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	<i>Jezeberella montanilacus</i>	97.89%
Otu112	78	0	0	0	0	0	Planctomycetota	Planctomycetia	Pirellulales	Pirellulaceae	<i>Roseimaritima multifibrata</i>	92.22%
Otu113	6	0	0	0	0	73	Planctomycetota	Planctomycetia	Pirellulales	Pirellulaceae	<i>Roseimaritima multifibrata</i>	97.88%
Otu114	0	0	76	0	0	0	Bacillota	Bacilli	Caryophanales	Bacillaceae	<i>Geobacillus kaustophilus</i>	91.61%
Otu115	0	0	0	13	0	0	Bacillota	Clostridia	Thermoanaerobacterales	Thermodesulfobiaceae	<i>Thermodesulfobium acidiphilum</i>	78.27%
Otu116	0	0	0	0	0	70	Thermomicrobiota	Thermomicrobia	Sphaerobacterales	Sphaerobacteraceae	<i>Sphaerobacter thermophilus</i>	87.84%
Otu117	0	0	28	0	3	69	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Roseobacteraceae	<i>Ruegeria pomeroyi</i>	98.01%
Otu118	0	0	0	15	4	2	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Holosporales	Caedimonadaceae	<i>Caedimonas varicaedens</i>	88.06%
Otu119	0	0	66	0	0	0	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Oceanospirillales	Balneatricaceae	<i>Pokkaliibacter plantistimulans</i>	94.38%
Otu120	0	3	66	4	24	66	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Ectothiorhodospiraceae	<i>Thioalkalivibrio sulfidiphilus</i>	93.68%
Otu121	0	0	68	61	0	0	Spirochaetota	Spirochaetia	Spirochaetales	Spirochaetaceae	<i>Alkalispirochaeta americana</i>	88.52%
Otu122	0	3	0	0	66	57	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Azospirillaceae	<i>Inquilinus limosus</i>	93.53%
Otu123	65	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Azospirillaceae	<i>Azospirillum brasilense</i>	85.57%
Otu124	0	0	0	0	63	0	Bacteroidota	Cytophagia	Cytophagales	Roseivirgaceae	<i>Roseivirga marina</i>	90.24%

OTU	ES1	CS1	CS2	CS3	CS4	CS5	CS6	Phylum	Class	Order	Family	Best hit taxa	pid
Otu125	0	0	63	0	0	0	45	Actinomycetota	Acidimicrobiia	Acidimicrobiales	Iamiaceae	<i>Actinomarinicola tropica</i>	96.76%
Otu126	0	8	11	20	62	0	0	Spirochaetota	Spirochaetia	Spirochaetales	Spirochaetaceae	<i>Spirochaeta lutea</i>	97.16%
Otu127	0	0	0	13	61	0	9	Pseudomonadota	Deltaproteobacteria	Desulfobacteriales	Desulfobacteraceae	<i>Desulfatibacillum alkenivorans</i>	83.68%
Otu128	0	0	0	0	0	59	0	Acidobacteriota	Vicinamibacteria	Vicinamibacteriales	Vicinamibacteraceae	<i>Luteitalea pratensis</i>	81.06%
Otu129	59	0	0	0	0	0	0	Acidobacteriota	Blastocatellia	Blastocatellales	Blastocatellaceae	<i>Aridibacter kavangonensis</i>	86.57%
Otu130	0	15	0	0	57	3	0	Pseudomonadota	Betaproteobacteria	Spirillales	Methylophilaceae	<i>Pseudomethylobacillus aquaticus</i>	94.61%
Otu131	0	0	0	2	0	0	56	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Beggiatoales	Piscirickettsiaceae	<i>Methylophaga lonarensis</i>	99.06%
Otu132	0	0	59	0	0	0	0	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Ectothiorhodospiraceae	<i>Methylophaga kenyense</i>	99.77%
Otu133	0	0	0	0	4	0	55	Bacteroidota	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Crocinitomicaceae	<i>Brumimicrobium aurantiacum</i>	94.55%
Otu134	68	0	0	0	0	0	0	Bacteroidota	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	<i>Paucihalobacter ruber</i>	99.76%
Otu135	0	0	19	23	0	54	7	Planctomycetota	Planctomycetia	Pirellulales	Lacipirellulaceae	<i>Adhaeritor mobilis</i>	89.86%
Otu136	4	0	0	0	0	53	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Hyphomicrobiales	Hyphomicrobiaceae	<i>Hyphomicrobium nitratorans</i>	99.75%
Otu137	0	3	7	5	0	0	51	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Azospirillaceae	<i>Nitrospirillum amazonense</i>	92.29%
Otu138	0	0	0	2	0	20	50	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Ectothiorhodospiraceae	<i>Thioalkalivibrio denitrificans</i>	82.67%
Otu139	0	7	0	0	0	49	8	Verrucomicrobiota	not assigned	Limisphaerales	Fontisphaeraceae	<i>Fontisphaera persica</i>	87.06%
Otu140	2	0	0	0	49	0	0	Bacteroidota	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Schleiferiaceae	<i>Croceimicrobium hydrocarbonivorans</i>	88.86%
Otu141	0	0	0	21	0	0	48	Bacteroidota	Cytophagia	Cytophagales	Cyclobacteriaceae	<i>Pleomorphovibrio marinus</i>	98.57%
Otu142	0	0	0	48	0	0	0	Chlamydiota	Chlamydiia	Chlamydiales	Simkaniaceae	<i>Simkania negevensis</i>	92.04%
Otu143	0	0	30	0	0	0	48	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Hyphomicrobiales	Tepidamorphaceae	<i>Butyratibacter algicola</i>	97.76%
Otu144	0	29	19	11	32	0	60	Balneolota	Balneolia	Balneolales	Balneolaceae	<i>Rhodohalobacter barkolensis</i>	87.20%
Otu145	0	0	0	0	0	46	5	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Ectothiorhodospiraceae	<i>Thioalkalivibrio sulfidiphilus</i>	98.59%
Otu146	0	0	11	0	0	0	45	Planctomycetota	Planctomycetia	Pirellulales	Thermoguttaceae	<i>Thermostilla marina</i>	90.97%
Otu147	49	45	0	0	5	3	0	Verrucomicrobiota	Terrimicrobiia	Terrimicrobiales	Terrimicrobiaceae	<i>Terrimicrobium sacchariphilum</i>	91.77%
Otu148	0	0	0	0	0	43	0	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Alteromonadales	Idiomarinaceae	<i>Aliidiomarina halalkaliphila</i>	96.25%
Otu149	0	0	70	22	13	18	8	Deinococcota	Deinococci	Trueperales	Trueperaceae	<i>Truepera radiovictrix</i>	88.19%
Otu150	42	0	0	0	0	0	0	Bacteroidota	Saprospira	Saprospirales	Lewinellaceae	<i>Phaeodactylibacter luteus</i>	87.86%
Otu151	0	0	0	0	0	42	9	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Ectothiorhodospiraceae	<i>Thiohalospira alkaliphila</i>	75.78%
Otu152	0	0	0	0	0	41	0	Pseudomonadota	Betaproteobacteria	Rhodocyclales	Zoogloeaceae	<i>Pseudothauera nasutitermitis</i>	96.49%
Otu153	41	0	0	0	0	0	0	Bacteroidota	Saprospira	Saprospirales	Lewinellaceae	<i>Lewinella cohaerens</i>	88.10%
Otu154	38	0	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodobacteriales	Paracoccaceae	<i>Rhodobacter ruber</i>	99.25%
Otu155	56	0	0	5	0	0	0	Actinomycetota	Acidimicrobiia	Acidimicrobiales	Iamiaceae	<i>Rhabdotherrmincola salaria</i>	94.29%
Otu156	37	0	0	0	0	0	0	Bacteroidota	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	<i>Hufsiella arboris</i>	89.50%
Otu157	0	0	39	3	0	0	0	Thermomicrobiota	Thermomicrobia	Sphaerobacteriales	Sphaerobacteraceae	<i>Sphaerobacter thermophilus</i>	89.08%
Otu158	0	0	34	0	0	0	4	Bacteroidota	Chitinophagia	Chitinophagales	Chitinophagaceae	<i>Paracnuella aquatica</i>	89.05%
Otu159	37	0	0	0	0	0	0	Chloroflexota	Candidatus Thermofontia	Phototrophicales	Phototrophicaceae	<i>Phototrophicus methaneseepsis</i>	87.34%
Otu160	0	0	0	0	5	12	36	Pseudomonadota	Deltaproteobacteria	Desulfovibrionales	Desulfonatraceae	<i>Desulfonatrum parangueonense</i>	86.68%
Otu161	0	0	0	33	0	0	0	Pseudomonadota	Deltaproteobacteria	Bradymonadales	Bradymonadaceae	<i>Lujinxingia sediminis</i>	85.99%
Otu162	33	0	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Thalassobaculaceae	<i>Oceanibaculum nanhaiense</i>	100.00%
Otu163	0	0	0	0	0	53	0	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Legionellales	Legionellaceae	<i>Legionella quateirensis</i>	97.66%
Otu164	0	0	32	0	0	31	0	Deinococcota	Deinococci	Trueperales	Trueperaceae	<i>Truepera radiovictrix</i>	89.92%

OTU	ES1	CS1	CS2	CS3	CS4	CS5	CS6	Phylum	Class	Order	Family	Best hit taxa	pid
Otu165	0	0	0	13	0	32	2	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	<i>Rhizorhabdus argentea</i>	89.80%
Otu166	0	0	0	0	0	32	0	Bacteroidota	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	<i>Flavobacterium coralii</i>	94.31%
Otu167	32	0	0	0	0	0	0	Chloroflexota	Candidatus Thermofontia	Phototrophicales	Phototrophicaceae	<i>Phototrophicus methaneseepsis</i>	89.83%
Otu168	0	0	30	3	0	32	6	Actinomycetota	Actinomycetes	Kineosporiales	Kineosporiaceae	<i>Angustibacter aerolatus</i>	82.24%
Otu169	0	0	0	0	0	29	0	Planctomycetota	Planctomycetia	Pirellulales	Lacipirellulaceae	<i>Bythopirellula polymerisocia</i>	96.43%
Otu170	0	0	0	0	0	29	5	Pseudomonadota	Deltaproteobacteria	Syntrophorhabdadales	Syntrophorhabdaceae	<i>Syntrophorhabdus aromaticivorans</i>	81.75%
Otu171	0	0	0	0	29	0	2	Verrucomicrobiota	Opitutia	Puniceococcales	Puniceococcaceae	<i>Ruficoccus amylovorans</i>	91.39%
Otu172	0	0	0	29	0	0	0	Spirochaetota	Spirochaetia	Spirochaetales	Spirochaetaceae	<i>Spirochaeta halophila</i>	87.94%
Otu173	0	0	0	0	0	29	0	Pseudomonadota	Betaproteobacteria	Rhodocyclales	Zoogloeaceae	<i>Pseudothauera lacus</i>	97.42%
Otu174	0	0	38	6	2	2	0	Verrucomicrobiota	Opitutia	Opitutales	Opitutaceae	<i>Oleiharenicola alkalitolerans</i>	89.81%
Otu175	0	0	36	17	0	0	3	Planctomycetota	Phycisphaerae	Phycisphaerales	Phycisphaeraceae	<i>Algisphaera agarilytica</i>	90.98%
Otu176	0	0	0	28	0	0	0	Planctomycetota	Planctomycetia	Isosphaerales	Isosphaeraceae	<i>Tautonia rosea</i>	97.39%
Otu177	0	0	6	28	0	0	2	Balneolota	Balneolia	Balneolales	Balneolaceae	<i>Rhodohalobacter mucosus</i>	88.86%
Otu178	0	3	0	0	4	27	0	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudohongiellaceae	<i>Pseudohongiella acticola</i>	96.96%
Otu179	27	0	0	0	0	0	0	Actinomycetota	Nitriliruptoria	Euzebyales	Euzebyaceae	<i>Euzebya tangerina</i>	78.66%
Otu180	0	10	0	0	22	0	26	Chloroflexota	Candidatus Thermofontia	Phototrophicales	Phototrophicaceae	<i>Phototrophicus methaneseepsis</i>	87.84%
Otu181	0	0	0	26	0	0	8	Planctomycetota	Phycisphaerae	Phycisphaerales	Phycisphaeraceae	<i>Algisphaera agarilytica</i>	88.37%
Otu182	0	0	0	26	0	0	0	Bacteroidota	Bacteroidia	Bacteroidales	Marinilabiliaceae	<i>Saccharicrinis fermentans</i>	87.71%
Otu183	0	0	0	0	0	27	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	<i>Sphingomonas montana</i>	87.56%
Otu184	0	25	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Oceanospirillales	Alcanivoracaceae	<i>Isoalcanivorax indicus</i>	99.06%
Otu185	25	0	0	0	0	0	0	Bacteroidota	Cytophagia	Cytophagales	Cyclobacteriaceae	<i>Shivajiella indica</i>	98.81%
Otu186	0	0	7	0	0	18	25	Planctomycetota	Planctomycetia	Pirellulales	Pirellulaceae	<i>Bremerella volcania</i>	96.28%
Otu187	4	0	0	0	0	25	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Hyphomicrobiales	Kaistiaceae	<i>Bauldia consociata</i>	99.01%
Otu188	0	0	24	0	0	0	0	Verrucomicrobiota	Opitutia	Puniceococcales	Puniceococcaceae	<i>Oceanipulchritudo coccoides</i>	94.26%
Otu189	0	0	0	0	0	24	0	Pseudomonadota	Epsilonproteobacteria	not assigned	Nitratiruptoraceae	<i>Nitrosophilus alvini</i>	77.00%
Otu190	23	0	0	0	0	0	0	Actinomycetota	Acidimicrobiia	Acidimicrobiales	Iamiaceae	<i>Actinomarinicola tropica</i>	96.26%
Otu191	0	0	11	8	0	3	27	Bacteroidota	Cytophagia	Cytophagales	Cyclobacteriaceae	<i>Cecembia lonarensis</i>	99.76%
Otu192	0	0	0	0	0	23	0	Chloroflexota	Anaerolineae	Aggregatilineales	Aggregatilineaceae	<i>Aggregatilinea lenta</i>	89.33%
Otu193	0	0	0	15	3	5	22	Bacillota	Bacilli	Caryophanales	Bacillaceae	<i>Alkalicoccus chagannorensis</i>	78.77%
Otu194	21	0	0	0	0	0	0	Bacteroidota	Cytophagia	Cytophagales	Cyclobacteriaceae	<i>Algoriphagus formosus</i>	99.76%
Otu195	0	0	21	0	0	4	0	Actinomycetota	Nitriliruptoria	Egicoccales	Egicoccaceae	<i>Egicoccus halophilus</i>	95.09%
Otu196	0	0	0	0	0	19	0	Verrucomicrobiota	Terrimicrobiia	Terrimicrobiales	Terrimicrobiaceae	<i>Terrimicrobium sacchariphilum</i>	91.11%
Otu197	0	0	0	0	0	19	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Hyphomicrobiales	Rhizobiaceae	<i>Pseudorhizobium halotolerans</i>	89.55%
Otu198	0	0	0	19	0	0	0	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	<i>Halopseudomonas pertucinogena</i>	88.06%
Otu199	19	0	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Betaproteobacteria	Spirillales	Methylophilaceae	<i>Methylophilus luteus</i>	95.55%
Otu200	32	0	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	<i>Hydrogenophaga aquatica</i>	99.53%
Otu201	0	0	0	0	0	18	0	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Cellvibrionales	Halieaceae	<i>Parahaliea mediterranea</i>	92.77%
Otu202	0	0	0	18	0	0	0	Kiritimatiellota	Tichowtungia	Tichowtungiales	Tichowtungiaceae	<i>Tichowtungia aerotolerans</i>	85.01%
Otu203	0	0	0	0	18	0	8	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Cellvibrionales	Spongiibacteraceae	<i>Spongiibacter marinus</i>	81.22%
Otu204	0	0	0	0	0	17	0	Chlamydiota	Chlamydiia	Chlamydiales	Simkaniaceae	<i>Simkania negevensis</i>	93.44%

OTU	CS1	CS2	CS3	CS4	CS5	CS6	Phylum	Class	Order	Family	Best hit taxa	pid
Otu205	0	0	0	5	17	0	Pseudomonadota	Deltaproteobacteria	Desulfovibrionales	Desulfonatronaceae	<i>Desulfonatronum parangueonense</i>	86.92%
Otu206	17	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Wenzhouxiangellaceae	<i>Wenzhouxiangella marina</i>	96.96%
Otu207	17	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Sneathiellales	Sneathiellaceae	<i>Sneathiella litorea</i>	98.76%
Otu208	0	17	0	0	0	0	Bacteroidota	Cytophagia	Cytophagales	Cyclobacteriaceae	<i>Mongoliibacter ruber</i>	99.76%
Otu209	0	0	0	16	0	0	Bacteroidota	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Parvicellaceae	<i>Parvicella tangerina</i>	85.38%
Otu210	0	0	0	0	0	16	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Oceanospirillales	Alcanivoracaceae	<i>Ketobacter alkanivorans</i>	91.65%
Otu211	0	6	0	16	0	12	Bacteroidota	Bacteroidia	Bacteroidales	Marinilabiliaceae	<i>Geofilum rhodophaeum</i>	87.20%
Otu212	0	0	0	16	0	0	Pseudomonadota	Oligoflexia	Bacteriovoracales	Halobacteriovoracaceae	<i>Halobacteriovorax marinus</i>	93.93%
Otu213	0	4	0	15	0	0	Spirochaetota	Spirochaetia	Spirochaetales	Spirochaetaceae	<i>Alkalispirochaeta cellulovorans</i>	96.45%
Otu214	0	9	0	2	15	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Hyphomicrobiales	Phyllobacteriaceae	<i>Mesorhizobium composti</i>	88.56%
Otu215	0	0	14	0	0	0	Kiritimatiellota	Kiritimatiellia	Kiritimatiellales	Kiritimatiellaceae	<i>Kiritimatiella glycovorans</i>	84.87%
Otu216	0	0	0	0	0	14	Planctomycetota	Planctomycetia	Pirellulales	Pirellulaceae	<i>Mariniblastus fucicola</i>	93.55%
Otu217	14	0	0	0	0	0	Bacteroidota	Saprosipria	Saprosiprales	Lewinellaceae	<i>Flavilitoribacter nigricans</i>	87.86%
Otu218	14	0	0	0	0	0	Actinomycetota	Actinomycetes	Kineosporiales	Kineosporiaceae	<i>Kineococcus rubinsiae</i>	90.66%
Otu219	14	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Hyphomicrobiales	Salinarimonadaceae	<i>Salinarimonas ramus</i>	99.25%
Otu220	0	0	0	14	0	0	Pseudomonadota	Deltaproteobacteria	Desulfovibrionales	Desulfonatronaceae	<i>Desulfonatronum lacustre</i>	99.53%
Otu221	0	0	0	14	2	0	Bacillota	Thermolithobacteria	Thermolithobacteriales	Thermolithobacteraceae	<i>Thermolithobacter ferrireducens</i>	80.67%
Otu222	0	0	0	13	13	0	Planctomycetota	Phycisphaerae	Phycisphaerales	Phycisphaeraceae	<i>Mucisphaera calidilacus</i>	78.70%
Otu223	0	0	0	13	0	8	Verrucomicrobiota	Opitutia	Puniceococcales	Puniceococcaceae	<i>Ruficoccus amylovorans</i>	89.98%
Otu224	0	0	13	0	0	0	Pseudomonadota	Deltaproteobacteria	Desulfovibrionales	Desulfonatronaceae	<i>Desulfonatronum lacustre</i>	83.88%
Otu225	13	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Legionellales	Legionellaceae	<i>Legionella septentrionalis</i>	87.65%
Otu226	0	0	0	0	13	0	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Chromatiaceae	<i>Alishewanella solinquinati</i>	97.66%
Otu227	16	0	0	0	0	13	Kiritimatiellota	Tichowtungia	Tichowtungiales	Tichowtungiaceae	<i>Tichowtungia aerotolerans</i>	99.25%
Otu228	0	0	0	0	8	13	Chloroflexota	Tepidifungia	Tepidiformales	Tepidiformaceae	<i>Tepidiforma bonchosmolovskayae</i>	90.73%
Otu229	16	0	0	0	0	0	Bacteroidota	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Cryomorphaceae	<i>Vicingus serpentipes</i>	88.39%
Otu230	0	0	0	12	0	0	Bacillota	Clostridia	Thermoanaerobacteriales	Thermodesulfobiaceae	<i>Thermodesulfobium narugense</i>	78.77%
Otu231	0	0	3	12	0	3	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Stellaceae	<i>Constrictibacter antarcticus</i>	91.29%
Otu232	0	0	12	0	0	5	Bacillota	Bacilli	Caryophanales	Paenibacillaceae	<i>Paenibacillus pinihumi</i>	91.31%
Otu233	12	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodobacteriales	Paracoccaceae	<i>Szabonella alba</i>	99.75%
Otu234	0	0	0	2	0	12	Verrucomicrobiota	Terrimicrobiia	Terrimicrobiales	Terrimicrobiaceae	<i>Terrimicrobium sacchariphilum</i>	89.63%
Otu235	0	4	0	0	12	2	Chloroflexota	Tepidiformia	Tepidiformales	Tepidiformaceae	<i>Tepidiforma bonchosmolovskayae</i>	84.96%
Otu236	0	0	0	0	11	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Azospirillaceae	<i>Lacibacterium aquatile</i>	89.83%
Otu237	0	0	0	0	11	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	<i>Pararhodospirillum photometricum</i>	90.55%
Otu238	0	18	0	0	0	0	Bacteroidota	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Cryomorphaceae	<i>Vicingus serpentipes</i>	88.63%
Otu239	0	0	0	3	0	11	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rickettsiales	Ehrlichaceae	<i>Lyticum flagellatum</i>	89.33%
Otu240	0	0	0	0	11	8	Verrucomicrobiota	Verrucomicrobiia	Verrucomicrobiales	Rubritaleaceae	<i>Rubritalea sabuli</i>	88.55%
Otu241	11	0	0	0	0	0	Chloroflexota	Caldilineae	Caldilineales	Caldilineaceae	<i>Litorilinea aerophila</i>	76.60%
Otu242	11	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Erythrobacteraceae	<i>Erythrobacter mangrovi</i>	91.04%
Otu243	0	0	0	0	11	0	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Ectothiorhodospiraceae	<i>Thioalkalivibrio sulfidiphilus</i>	91.61%
Otu244	0	0	11	0	0	0	Thermomicrobiota	Thermomicrobia	Sphaerobacteriales	Sphaerobacteraceae	<i>Sphaerobacter thermophilus</i>	91.32%
Otu245	0	0	11	0	0	0	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Chromatiaceae	<i>Halochromatium glycolicum</i>	92.74%
Otu246	0	0	0	0	10	0	Planctomycetota	Planctomycetia	Planctomycetales	Planctomycetaceae	<i>Thalassoglobus neptunius</i>	96.33%

OTU	ES1	CS1	CS2	CS3	CS4	CS5	CS6	Phylum	Class	Order	Family	Best hit taxa	pid
Otu247	10	0	0	0	0	0	0	Spirochaetota	Spirochaetia	Spirochaetales	Spirochaetaceae	<i>Alkalispirochaeta cellulovorans</i>	97.66%
Otu248	0	0	0	10	0	0	0	Verrucomicrobiota	Opitutia	Puniceococcales	Puniceococcaceae	<i>Oceanipulchritudo coccoides</i>	90.21%
Otu249	0	0	0	10	0	0	3	Pseudomonadota	Epsilonproteobacteria	Campylobacteriales	Campylobacteraceae	<i>Campylobacter blaseri</i>	75.99%
Otu250	10	0	0	0	0	0	0	Chlamydiota	Chlamydiia	Chlamydiales	Parachlamydiaceae	<i>Parachlamydia acanthamoebae</i>	88.76%
Otu251	10	0	0	0	0	0	0	Verrucomicrobiota	Opitutia	Puniceococcales	Puniceococcaceae	<i>Coraliomargarita sinensis</i>	96.68%
Otu252	0	0	10	0	0	0	0	Bacillota	Bacilli	Caryophanales	Paenibacillaceae	<i>Paenibacillus albilobatus</i>	94.34%
Otu253	0	0	10	6	0	0	3	Actinomycetota	Acidimicrobiia	Acidimicrobiales	Iamiaceae	<i>Actinomarinicola tropica</i>	93.27%
Otu255	0	0	0	0	0	0	9	Planctomycetota	Phycisphaerae	Phycisphaerales	Phycisphaeraceae	<i>Phycisphaera mikurensis</i>	84.04%
Otu256	0	0	0	0	0	9	2	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Azospirillaceae	<i>Lacibacterium aquatile</i>	93.28%
Otu257	0	0	0	0	0	0	9	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Ectothiorhodospiraceae	<i>Natronocella acetinitrilica</i>	93.22%
Otu258	0	0	0	0	0	0	9	Planctomycetota	Phycisphaerae	Phycisphaerales	Phycisphaeraceae	<i>Mucisphaera caldilacus</i>	87.75%
Otu259	0	0	9	0	0	0	0	Bacillota	Bacilli	Lactobacillales	Carnobacteriaceae	<i>Alkalibacterium indicireducens</i>	99.06%
Otu260	0	0	9	0	0	0	0	Verrucomicrobiota	not assigned	not assigned	not assigned	<i>Fucophilus fucoidanalyticus</i>	90.91%
Otu261	0	0	15	2	3	0	5	Bacteroidota	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Weeksellaceae	<i>Chryseobacterium daeguense</i>	88.86%
Otu262	0	9	0	0	5	7	0	Verrucomicrobiota	Opitutia	Opitutales	Opitutaceae	<i>Geminisphaera colitermitum</i>	92.40%
Otu263	0	0	0	9	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rickettsiales	Ehrlichaceae	<i>Ehrlichia ruminantium</i>	76.87%
Otu264	0	0	0	9	0	0	0	Bacteroidota	Bacteroidia	Bacteroidales	Lentimicrobiaceae	<i>Lentimicrobium saccharophilum</i>	86.90%
Otu265	0	0	0	0	0	0	8	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Wenzhouxiangellaceae	<i>Wenzhouxiangella marina</i>	95.33%
Otu266	8	0	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rickettsiales	Rickettsiaceae	<i>Rickettsia sibirica</i>	94.03%
Otu267	8	0	0	0	0	0	0	Bacteroidota	Bacteroidia	Bacteroidales	Lentimicrobiaceae	<i>Lentimicrobium saccharophilum</i>	90.76%
Otu268	0	0	0	8	0	0	0	Planctomycetota	Phycisphaerae	Phycisphaerales	Phycisphaeraceae	<i>Phycisphaera mikurensis</i>	90.05%
Otu269	0	0	0	8	0	0	0	Bacteroidota	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Crocinitomicaceae	<i>Brumimicrobium mesophilum</i>	93.36%
Otu270	8	0	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Hyphomicrobiales	Hyphomicrobiaceae	<i>Filomicrobium fusiforme</i>	98.26%
Otu271	0	0	0	0	0	8	0	Verrucomicrobiota	Opitutia	Puniceococcales	Puniceococcaceae	<i>Ruficoccus amylovorans</i>	93.03%
Otu272	0	0	0	0	3	8	0	Actinomycetota	Thermoleophilia	Miltoncostaeales	Miltoncostaceae	<i>Miltoncostaea oceani</i>	97.89%
Otu273	2	0	0	5	8	0	6	Spirochaetota	Spirochaetia	Spirochaetales	Spirochaetaceae	<i>Spirochaeta lutea</i>	90.54%
Otu274	0	0	0	0	0	0	8	Pseudomonadota	Deltaproteobacteria	Desulfuromonadales	Geobacteraceae	<i>Geobacter sulfurreducens</i>	90.42%
Otu275	8	0	0	0	0	4	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodobacteriales	Roseobacteraceae	<i>Nioella nitratireducens</i>	99.50%
Otu276	0	0	0	0	0	7	0	Acidobacteriota	Terriglobia	Bryobacteriales	Bryobacteraceae	<i>Paludibaculum fermentans</i>	85.82%
Otu277	0	7	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Erythrobacteraceae	<i>Erythrobacter neustonensis</i>	99.75%
Otu278	0	0	7	0	0	10	0	Actinomycetota	Nitriliruptoria	Euzebyales	Euzebyaceae	<i>Euzebya tangerina</i>	95.80%
Otu279	2	0	0	0	0	7	0	Balneolota	Balneolia	Balneolales	Balneolaceae	<i>Rhodohalobacter halophilus</i>	86.73%
Otu280	0	0	0	0	0	7	0	Chloroflexota	Candidatus Thermofontia	Phototrophicales	Phototrophicaceae	<i>Phototrophicus methaneseepsis</i>	89.33%
Otu281	0	0	0	0	0	7	0	Planctomycetota	Phycisphaerae	Phycisphaerales	Phycisphaeraceae	<i>Mucisphaera caldilacus</i>	87.47%
Otu282	0	0	38	8	0	80	265	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Hyphomicrobiales	Phyllobacteriaceae	<i>Chelativorans multitrophicus</i>	98.76%
Otu283	0	0	0	0	0	7	0	Actinomycetota	Acidimicrobiia	Acidimicrobiales	Iamiaceae	<i>Actinomarinicola tropica</i>	95.51%
Otu284	0	0	0	0	0	7	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Emcibacteriales	Emcibacteraceae	<i>Emcibacter nanhaiensis</i>	94.28%
Otu285	0	0	0	0	0	2	7	Bacillota	Bacilli	Caryophanales	Thermoactinomycetaceae	<i>Melghirimyces profundicolus</i>	81.13%
Otu286	0	0	0	7	0	0	0	Bacteroidota	Bacteroidia	Bacteroidales	Marinifilaceae	<i>Lablibaculum antarcticum</i>	86.49%
Otu287	0	0	0	0	0	0	12	Pseudomonadota	Deltaproteobacteria	Bradymonadales	Microvenatoraceae	<i>Microvenator marinus</i>	87.16%
Otu288	0	0	7	0	0	0	0	Balneolota	Balneolia	Balneolales	Balneolaceae	<i>Rhodohalobacter barkolensis</i>	88.15%

OTU	ES1	CS1	CS2	CS3	CS4	CS5	CS6	Phylum	Class	Order	Family	Best hit taxa	pid
Otu289	0	0	0	7	0	0	0	Balneolota	Balneolia	Balneolales	Balneolaceae	<i>Rhodohalobacter halophilus</i>	96.45%
Otu290	7	0	0	0	0	0	0	Bacteroidota	Bacteroidia	Bacteroidales	Prolixibacteraceae	<i>Mariniphaga anaerophila</i>	96.92%
Otu291	7	0	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Oceanospirillales	Natronospirillaceae	<i>Salinispirillum marinum</i>	90.63%
Otu292	0	0	0	0	0	0	7	Pseudomonadota	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	<i>Sheuella amnicola</i>	96.49%
Otu293	0	0	0	0	0	7	0	Bacillota	Clostridia	Eubacteriales	Syntrophomonadaceae	<i>Caldicellulosiruptor owensensis</i>	78.27%
Otu294	0	0	3	0	0	0	7	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Hyphomicrobiales	Phyllobacteriaceae	<i>Aquamicrobium soli</i>	90.80%
Otu295	7	0	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Epsilonproteobacteria	Campylobacterales	Helicobacteraceae	<i>Helicobacter mehlei</i>	78.96%
Otu296	6	0	0	0	0	0	0	Gemmatimonadota	Gemmatimonadia	Gemmatimonadales	Gemmatimonadaceae	<i>Gemmatimonas phototrophica</i>	94.75%
Otu297	6	0	0	0	0	252	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Paracoccaceae	<i>Paracoccus haematequi</i>	97.01%
Otu298	0	0	0	6	0	0	0	Bacillota	Clostridia	Thermoanaerobacteriales	Zhaonellaceae	<i>Zhaonella formicivorans</i>	89.44%
Otu299	0	0	4	0	0	0	6	Planctomycetota	Phycisphaerae	Phycisphaerales	Phycisphaeraceae	<i>Phycisphaera mikurensis</i>	86.43%
Otu300	0	0	0	0	0	4	6	Pseudomonadota	Deltaproteobacteria	Syntrophorhabdales	Syntrophorhabdaceae	<i>Syntrophorhabdus aromaticivoran</i>	80.95%
Otu301	0	0	6	0	0	0	0	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Ectothiorhodospiraceae	<i>Thioalkalivibrio nitratireducens</i>	97.89%
Otu302	0	0	0	6	0	0	0	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Ectothiorhodospiraceae	<i>Thioalkalivibrio thiocyanodenitrificans</i>	90.87%
Otu303	0	0	0	0	0	6	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Erythrobacteraceae	<i>Novosphingobium arabidopsis</i>	99.00%
Otu304	0	0	0	0	5	0	0	Balneolota	Balneolia	Balneolales	Balneolaceae	<i>Rhodohalobacter halophilus</i>	86.02%
Otu305	0	0	0	0	5	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Kiloniellaceae	<i>Aestuariaispira insulae</i>	92.54%
Otu306	2	0	0	4	5	0	0	Planctomycetota	Phycisphaerae	Phycisphaerales	Phycisphaeraceae	<i>Mucisphaera calidilacus</i>	82.37%
Otu307	0	0	0	0	5	0	0	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Legionellales	Legionellaceae	<i>Legionella dresdenensis</i>	96.03%
Otu308	0	5	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Deltaproteobacteria	Desulfovibrionales	Desulfovibrionaceae	<i>Desulfovibrio giganteus</i>	83.72%
Otu309	5	0	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Iodidimonadales	Iodidimonadaceae	<i>Holospira caryophila</i>	87.81%
Otu312	5	0	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Epsilonproteobacteria	Campylobacterales	Helicobacteraceae	<i>Sulfurovum lithotrophicum</i>	79.40%
Otu313	5	0	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	<i>Novispirillum itersonii</i>	95.27%
Otu314	0	0	0	0	0	5	0	Planctomycetota	Planctomycetia	Planctomycetales	Planctomycetaceae	<i>Planctomicrobium piriforme</i>	95.84%
Otu315	0	0	0	0	0	5	0	Pseudomonadota	Deltaproteobacteria	Desulfobacteriales	Desulfobulbaceae	<i>Desulfogranum aggregans</i>	78.52%
Otu316	0	0	7	0	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Geminicoccaceae	<i>Arboricoccus pini</i>	91.54%
Otu317	0	0	5	0	0	0	3	Kiritimatiellota	Kiritimatiellia	Kiritimatiellales	Kiritimatiellaceae	<i>Kiritimatiella glycovorans</i>	84.00%
Otu318	0	0	5	0	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Acetobacteraceae	<i>Roseomonas chloroacetimidivorans</i>	97.51%
Otu319	0	0	5	0	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rickettsiales	Rickettsiaceae	<i>Rickettsia montanensis</i>	89.05%
Otu320	0	0	5	0	0	0	0	Planctomycetota	Phycisphaerae	Phycisphaerales	Phycisphaeraceae	<i>Phycisphaera mikurensis</i>	86.00%
Otu321	0	0	0	5	0	0	0	Spirochaetota	Spirochaetia	Spirochaetales	Spirochaetaceae	<i>Spirochaeta africana</i>	90.78%
Otu323	0	0	0	0	0	5	0	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Legionellales	Legionellaceae	<i>Legionella yabuuchiae</i>	92.74%
Otu324	0	0	0	0	0	0	5	Chloroflexota	Dehalococcoidia	Dehalococcoidales	Dehalococcoidaceae	<i>Dehalogenimonas alkenigignens</i>	88.25%
Otu325	0	0	0	0	0	0	5	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rickettsiales	Rickettsiaceae	<i>Rickettsia japonica</i>	91.54%
Otu326	0	0	6	0	0	0	0	Actinomycetota	Actinomycetes	Propionibacteriales	Nocardioidaceae	<i>Aeromicrobium halocynthiae</i>	99.51%
Otu327	0	0	4	0	0	0	0	Armatimonadota	Fimbriimonadia	Fimbriimonadales	Fimbriimonadaceae	<i>Fimbriimonas ginsengisoli</i>	83.79%
Otu328	0	0	4	0	0	0	0	Planctomycetota	Phycisphaerae	Phycisphaerales	Phycisphaeraceae	<i>Phycisphaera mikurensis</i>	83.46%
Otu329	4	0	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Ectothiorhodospiraceae	<i>Natronocella acetinitrilica</i>	92.76%
Otu330	4	0	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Deltaproteobacteria	Desulfovibrionales	Desulfomicrobiaceae	<i>Desulfomicrobium baculatum</i>	97.43%
Otu331	4	0	0	0	0	0	0	Bacillota	Clostridia	Eubacteriales	Christensenellaceae	<i>Gehongia tenuis</i>	78.10%
Otu332	4	0	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Acetobacteraceae	<i>Elioreaea tepida</i>	99.00%

OTU	ES1	CS1	CS2	CS3	CS4	CS5	CS6	Phylum	Class	Order	Family	Best hit taxa	pid
Otu333	0	0	4	0	0	0	0	Actinomycetota	Nitriliruptoria	Egicoccales	Egiccoccaceae	<i>Egicoccus halophilus</i>	95.58%
Otu334	0	0	7	0	0	0	0	Bacillota	Bacilli	Caryophanales	Bacillaceae	<i>Priestia koreensis</i>	92.71%
Otu336	4	0	0	0	0	0	0	Bacteroidota	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	<i>Parapedobacter koreensis</i>	90.48%
Otu337	0	0	0	4	0	0	0	Pseudomonadota	Oligoflexia	Bdellovibrionales	Pseudobdellovibrionaceae	<i>Bdellovibrio bacteriovorus</i>	90.57%
Otu338	0	0	0	0	3	4	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Stellaceae	<i>Constrictibacter antarcticus</i>	98.76%
Otu339	4	0	0	0	0	0	0	Actinomycetota	Thermoleophilia	Miltoncostaeales	Miltoncostaeaceae	<i>Miltoncostaea marina</i>	93.19%
Otu340	20	0	0	0	0	0	0	Actinomycetota	Nitriliruptoria	Nitriliruptorales	Nitriliruptoraceae	<i>Nitriliruptor alkaliphilus</i>	94.84%
Otu341	4	0	0	0	0	0	0	Chloroflexota	Caldilineae	Caldilineales	Caldilineaceae	<i>Litorilinea aerophila</i>	77.15%
Otu342	4	0	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Hyphomicrobiales	Devosiaceae	<i>Devosia marina</i>	99.75%
Otu343	0	0	0	0	0	4	0	Bacteroidota	Cytophagia	Cytophagales	Cyclobacteriaceae	<i>Aquiflexum lacus</i>	96.18%
Otu345	0	4	0	0	0	0	0	Verrucomicrobiota	Verrucomicrobiia	Verrucomicrobiales	Rubritaleaceae	<i>Rubritalea halochoordaticola</i>	82.70%
Otu346	3	4	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	<i>Cavicella subterranea</i>	95.80%
Otu347	0	0	4	0	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodovibrionaceae	<i>Fodinicurvata halophila</i>	93.28%
Otu348	0	0	0	0	0	0	3	Bacteroidota	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Schleiferiaceae	<i>Owenweeksia hongkongensis</i>	90.76%
Otu349	0	0	0	0	0	3	0	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Oceanospirillales	Halomonadaceae	<i>Franzmannia pantelleriensis</i>	99.30%
Otu350	0	0	0	0	0	3	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Govaniaceae	<i>Govania unica</i>	93.78%
Otu351	0	0	0	0	0	3	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Govaniaceae	<i>Govania unica</i>	92.79%
Otu352	0	0	0	9	0	3	0	Kiritimatiellota	Tichowungia	Tichowungiales	Tichowungiaceae	<i>Tichowungia aerotolerans</i>	85.28%
Otu353	0	0	2	0	0	3	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Azospirillaceae	<i>Inquilinus ginsengisoli</i>	97.01%
Otu354	0	0	0	0	0	3	0	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Cellvibrionales	Spongiibacteraceae	<i>Spongiibacter marinus</i>	81.69%
Otu356	3	0	0	0	0	0	0	Planctomycetota	Planctomycetia	Pirellulales	Pirellulaceae	<i>Aureliella helgolandensis</i>	91.98%
Otu357	3	0	0	0	0	0	0	Bacteroidota	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Schleiferiaceae	<i>Owenweeksia hongkongensis</i>	93.13%
Otu358	3	0	0	0	0	0	0	Planctomycetota	Planctomycetia	Planctomycetales	Planctomycetaceae	<i>Thalassoglobus neptunius</i>	97.80%
Otu359	3	0	0	0	0	0	0	Planctomycetota	Planctomycetia	Pirellulales	Lacipirellulaceae	<i>Pirellulimonas nuda</i>	88.08%
Otu360	0	0	3	3	0	0	0	Planctomycetota	Phycisphaerae	Phycisphaerales	Phycisphaeraeaceae	<i>Mucisphaera calidilacus</i>	83.00%
Otu361	3	0	0	0	0	0	0	Aquificota	Aquificia	Aquificales	Hydrogenothermaceae	<i>Sulfurihydrogenibium rodmanii</i>	76.62%
Otu363	3	0	0	0	0	0	0	Actinomycetota	Thermoleophilia	Miltoncostaeales	Miltoncostaeaceae	<i>Miltoncostaea oceani</i>	90.14%
Otu364	3	0	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	<i>Rubrivivax rivuli</i>	98.36%
Otu366	3	0	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Roseobacteraceae	<i>Roseobacterium elongatum</i>	97.76%
Otu367	3	0	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Hyphomicrobiales	Boseaceae	<i>Bosea psychrotolerans</i>	89.85%
Otu368	3	0	0	0	0	0	0	Bacteroidota	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Schleiferiaceae	<i>Owenweeksia hongkongensis</i>	88.63%
Otu369	0	0	0	0	3	0	0	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Alteromonadales	Idiomarinaceae	<i>Aliidiomarina maris</i>	99.77%
Otu370	0	2	0	2	3	0	0	Bacillota	Bacilli	Caryophanales	Bacillaceae	<i>Alkalicoccus luteus</i>	99.30%
Otu371	0	5	0	0	0	0	0	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Alteromonadales	Idiomarinaceae	<i>Aliidiomarina sanyensis</i>	99.77%
Otu372	0	0	0	3	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rickettsiales	Ehrlichaceae	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	90.80%
Otu373	0	0	0	3	0	0	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Paracoccaceae	<i>Rhodobacter ruber</i>	96.52%
Otu374	0	0	15	3	0	4	0	Actinomycetota	Acidimicrobiia	Acidimicrobiales	Iamiaceae	<i>Actinomarinicola tropica</i>	98.75%
Otu388	0	0	0	0	2	2	0	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Hyphomicrobiales	Parvibaculaceae	<i>Parvibaculum lavamentivorans</i>	98.51%
Otu390	0	0	0	0	0	2	2	Verrucomicrobiota	Opitulia	Puniceococcales	Puniceococcaceae	<i>Ruficoccus amylovorans</i>	88.81%

Table S3: Heterotrophic bacteria MAGs (with completion >90% and contamination <5%) and their taxonomic assignment.

Sample	MAG	Completeness	Contamination	coverage	Phylum	Class	Order	Family	Genus - Species	Potential new species (TYGS)
CS3	IND-MAG24	96.58	2.56	8	Actinobacteria	Acidimicrobiia	Acidimicrobiales	Ilumatobacteraceae	x	new
CS4	ETH-MAG38	96.58	0.00	8	Actinobacteria	Nitriliruptoria	x	x	x	new
CS4	ETH-MAG11	98.29	0.85	50	Actinobacteria	x	x	x	x	new
CS4	ETH-MAG36	95.78	3.28	11	Actinomycetota	Actinomycetes	Micrococcales	Demequinaceae	<i>Demequina phytophila</i>	
CS1	PAR-MAG10	94.44	2.78	63	Armatimonadetes	Fimbriimonadia	Fimbriimonadales	Fimbriimonadaceae	x	new
CS4	ETH-MAG28	99.7	1.74	17	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	x	x	new
CS4	ETH-MAG08	97.54	0.82	111	Bacteroidota	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	<i>Christiagramma bathymodioli</i>	
CS3	IND-MAG25	93.49	0.00	7	Bacteroidota	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	<i>Gelidibacter sp.</i>	new
CS4	ETH-MAG03	95.67	0.5	281	Bacteroidota	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	<i>Flavobacterium frigroris</i>	
CS3	IND-MAG06	96.72	1.37	46	Balneolaeota	Balneolia	Balneolales	Cyclonatronaceae		new
CS1	PAR-MAG14	96.45	0.82	30	Balneolaeota	Balneolia	Balneolales	Natronograkilivirgulaceae	<i>Chitinophaga silvatica</i>	
CS1	PAR-MAG05	96.72	1.37	231	Balneolaeota	Balneolia	Balneolales	Natronograkilivirgulaceae		new
CS4	ETH-MAG19	98.88	2.81	34	Candidatus Sumerlaeota	Candidatus Sumerlaeia	x	x	x	new
CS1	PAR-MAG17	98.18	0.00	21	Chloroflexi	x	x	x	x	new
CS4	ETH-MAG26	92.37	0.85	18	Deinococcus-Thermus	Deinococci	Trueperales	Trueperaceae	x	new
CS3	IND-MAG17	97.8	3.3	13	Gemmatimonadetes	Gemmatimonadetes	Gemmatimonadales	x	x	new
CS1	PAR-MAG16	97.47	0.03	26	Kiritimatiellaeota	x	x	x	x	new
CS4	ETH-MAG10	97.73	0.57	55	Planctomycetes	Planctomycetia	Phycisphaerales	x	x	new
CS4	ETH-MAG29	95.45	2.27	15	Planctomycetes	Planctomycetia	Phycisphaerales	x	x	new
ES1	CAM-MAG03	99.43	1.38	143	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Maricaulales	Maricaulaceae	<i>Alkalicaulis sp.</i>	new
CS3	IND-MAG05	94.4	0.49	76	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Maricaulales	Maricaulaceae	<i>Alkalicaulis sp.</i>	new
CS1	PAR-MAG04	96.51	0.65	257	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Maricaulales	Maricaulaceae	<i>Alkalicaulis sp.</i>	new
ES1	CAM-MAG05	99.19	0.32	52	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Maricaulales	Maricaulaceae	<i>Glycocaulis sp.</i>	new
CS3	IND-MAG18	96.62	0.86	13	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	<i>Alkalilacustris sp.</i>	new
CS4	ETH-MAG06	93.99	4.03	132	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	<i>Azohydromonas sediminis</i>	
CS4	ETH-MAG20	97.87	1.21	30	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	<i>Natronohydrobacter sp.</i>	new
ES1	CAM-MAG10	95.39	0.77	10	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	<i>Rhodobaca sp.</i>	new
CS3	IND-MAG19	90.14	1.1	13	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	<i>Rhodobaca sp.</i>	new
CS1	PAR-MAG11	96.15	1.16	63	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	<i>Rhodobaca sp.</i>	new
ES1	CAM-MAG06	95.2	1.66	46	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	x	new
CS4	ETH-MAG12	93.13	0.8	49	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	x	new
CS4	ETH-MAG16	99.08	1.52	38	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	x	new
CS4	ETH-MAG24	92.2	1.01	19	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	x	new
CS4	ETH-MAG35	93.37	3.11	11	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	x	new
CS1	PAR-MAG24	94.43	1.93	8	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	x	new
CS4	ETH-MAG23	99.6	0.00	21	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	x	x	new
CS4	ETH-MAG34	92.78	1.24	12	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	x	x	new
CS1	PAR-MAG12	96.99	1.2	35	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	x	x	new

Sample	MAG	Completeness	Contamination	coverage	Phylum	Class	Order	Family	Genus - Species	Potential new species (TYGS)
CS4	ETH-MAG33	93.53	0.5	14	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	x	new
CS1	PAR-MAG15	98.69	0.26	26	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	x	x	new
CS1	PAR-MAG21	99.05	4.27	13	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rickettsiales	Rickettsiaceae	x	new
ES1	CAM-MAG07	99.13	0.65	30	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	x	x	x	new
ES1	CAM-MAG09	98.13	3.87	11	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	x	x	x	new
CS4	ETH-MAG17	98.25	0.22	35	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	x	x	x	new
CS3	IND-MAG10	97.82	2.18	26	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	x	x	x	new
CS4	ETH-MAG40	93.82	2.27	8	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Alteromonadales	Idiomarinaceae	<i>Aliidiomarina sanyensis</i>	
CS1	PAR-MAG03	95.4	1.01	314	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Alteromonadales	Idiomarinaceae	<i>Aliidiomarina sanyensis</i>	
CS1	PAR-MAG18	93.49	0.51	18	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Alteromonadales	Idiomarinaceae	<i>Aliidiomarina sp.</i>	new
CS4	ETH-MAG31	99.61	2.47	14	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Beggiatoales	Piscirickettsiaceae	<i>Methylophaga lonarensis</i>	
CS4	ETH-MAG14	97.11	1.91	39	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	not assigned	not assigned	<i>Alkalimonas delamerensis</i>	
CS1	PAR-MAG19	98.37	2.53	18	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Oceanospirillales	Alcanivoracaceae	<i>Alcanivorax sp.</i>	new
CS1	PAR-MAG20	96.73	2.22	15	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Puniceococcales	Puniceococcaceae	x	new
CS4	ETH-MAG18	95.51	0.74	35	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	x	x	x	new
CS3	IND-MAG20	95.07	1.16	11	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	x	x	x	new
CS3	IND-MAG28	90.27	3.03	6	Proteobacteria	x	x	x	x	new
CS1	PAR-MAG26	92.29	3.98	6	Spirochaetes	Spirochaetia	Spirochaetales	Spirochaetaceae	<i>Alkalispirochaeta sp.</i>	new
CS4	ETH-MAG07	98.4	3.47	113	Spirochaetes	Spirochaetia	Spirochaetales	Spirochaetaceae	x	new
CS3	IND-MAG09	92	2.4	27	Spirochaetes	Spirochaetia	x	x	x	new
CS3	IND-MAG22	97.04	4.05	9	Spirochaetes	Spirochaetia	x	x	x	new
CS3	IND-MAG15	98.65	0.68	17	Verrucomicrobia	Opitutae	Opitales	x	x	new
ES1	CAM-MAG08	99.32	0.00	18	Verrucomicrobia	Opitutae	Puniceococcales	Puniceococcaceae	x	new
CS4	ETH-MAG09	98.65	0.68	71	Verrucomicrobia	Opitutae	Puniceococcales	Puniceococcaceae	x	new
CS4	ETH-MAG30	98.65	1.35	14	Verrucomicrobia	Opitutae	Puniceococcales	Puniceococcaceae	x	new
CS1	PAR-MAG06	99.32	2.03	126	Verrucomicrobia	Opitutae	Puniceococcales	Puniceococcaceae	x	new
CS1	PAR-MAG08	97.97	0.00	80	Verrucomicrobia	Opitutae	Puniceococcales	Puniceococcaceae	x	new
CS4	ETH-MAG21	97.96	3.4	30	Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobiaceae	x	new

Table S4: 16S rRNA gene sequences used in this study

Name	Accession number
<i>Ahomia purpurea</i> NP-KLS-5A-PS	NR_191022.1
<i>Amazonocrinis thailandica</i> NUACC02	NR_176514.1
<i>Anabaena cylindrica</i> PCC 7122	NR_102457.1
<i>Atlanticothrix silvestris</i> CENA357	NR_172568.1
<i>Baaleninema simplex</i> PCC 7105	NR_172655.1
<i>Ciimarium marinum</i> LEGE 11466	NR_191040.1
<i>Constrictifilum karadense</i> MKW3	NR_172623.1
<i>Cyanobium gracile</i> PCC 6307	NR_102447.1
<i>Cyanocohniella calida</i> CCALA 1049	NR_176491.1
<i>Cyanocohniella crotaloides</i> PJ S45	NR_176548.1
<i>Cyanocohniella rudolphia</i> SY-1-2-Y	NR_176566.1
<i>Dendronalium phyllosphericum</i> CENA369	NR_172569.1
<i>Geitlerinema splendidum</i> CCALA 1004	KT315929.1
<i>Haloleptolyngbya alcalis</i> KR2005/106	NR_172566.1
<i>Haloleptolyngbya elongata</i> PMC 893.15	NR_172575.1
<i>Halotia wenerae</i>	NR_177845.1
<i>Kryptousia microlepis</i> CENA354	NR_157979.1
<i>Limnospira (Arthrospira) platensis</i> PCC 7345	NR_125711.1
<i>Lyngbya aestuarii</i> PCC 7419	NR_114680.1
<i>Nodosilinea alaskaensis</i> L32	NR_172588.1
<i>Nodosilinea igneolacustris</i> YNP76A-MA5	NR_189702.1
<i>Nodosilinea radiophila</i>	NR_177718.1
<i>Nodularia spumigena</i> PCC 73104	NR_115707.1
<i>Parasynechococcus marenigrum</i> WH 8102	NR_176791.1
<i>Candidatus Phormidium alkaliphilum</i> PBR-2020	CP075902.1
<i>Phormidium ambiguum</i> IAM M-71	AB003167.1
<i>Phormidium corium</i> PMC299.07	GQ859649.1
<i>Phormidium irriguum</i>	NR_177720.1
<i>Phormidium lacuna</i> HE10JO	KU206388.1
<i>Phormidium lucidum</i> CY-012	KC217548.1
<i>Phormidium pseudopriestleyi</i> FRX01	KT347094.1
<i>Phormidium tenue</i> NIES-30	NZ_MRCG01000040.1
<i>Phormidium tenue</i> Simbu2	JN790960.1
<i>Phormidium yuhuli</i> AB48	CP098611
<i>Prochlorococcus marinus</i> PCC 9511	NR_125480.1
<i>Sodalinema gerasimenkoeae</i> IPPAS B-353	NR_172688.1
<i>Sodalinema komarekii</i> PMC 741.11	MF579878.1
<i>Sodalinema komarekii</i> PMC 869.14	NR_172578.1
<i>Sodalinema orleanskyi</i> Ey-1201	NR_172709.1
<i>Sodalinema</i> sp. Z-T0701	MT067574.1
<i>Sodalinema stali</i> CCY_9619	MT067567
<i>Synechococcus rubescens</i> SAG 3.81	NR_125481.1
<i>Vampirovibrio chlorellavorus</i> ICPB 3707	NR_104911.1

Table S5: OTU sequences

>Otu1
TGGGGAATTTCCGCAATGGGCGCAAGCCTGACGGAGCAAGACCGCTGGGGGAGGAAGGCTCTGGGTTGTAACCCCTTTCTCAAGGAAGAACAATGACGGTACTTGAG
GAATAAGCCTCGGCTAACTCGTGCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGAGGCAAGCGTTATCCGGAATGATTGGGCGTAAAGCGTCCGTAGTGGCAGTTCAAGTCTGCTGCA
AAGACAGTAGCTCAACTACTGAAAGGCAGTGAAAGCTGAACAGCTAGAGTACGGTAGGGGCGAGAGGGAATCCCGGTGTAGCGGTGAATGCGTAGATATCGGGAAGAACC
GGTGCGGAAAGCGCTCTGCTGGGCCGTAAGTACTGACACTGAGGGAGCAAGCTAGGGGAGCGCAATG

>Otu2
TGAGGAATTTGGACAATGGTGGGAACACTGATCCAGCCATGCCGCGTGAGTGAAGAAGCGCTAGGCTATGGGTTGTAACCTGCTTTTTACGGGAAGAACAATCCGCTCGTGAAGCGG
ACTTGACGGTACCGTAGGAATAAGGATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGATCCGAGCGTTATCCGGAATCATTGGGTTAAAGGGTCCGTAGGCGGGC
TTCTAAGTCAGTGGTGAATCCCGCAGCTTAACTGTCGAACTGCCATTGATACTGGGAGTCTTGAATTAAGTGAAGTGGTTAGAATATGTAAGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGATA
TTACATGGAATACCAATTGCGAAGGCAGATCACTAACAGTATATTGACGCTGAGGGACGAAAGCGTGGGTAGCGAACA

>Otu3
TGGGGAATCTTGGACAATGGGGCAACCTGATCCAGCCATGCCGCGTGAGTGAAGAAGCGCTAGGTTGTAAGACTCTTTCAGCGGGGAAGATAATGACGGTACCCGAGAG
AGAAGCCCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGGGCTAGCGTTGTCGGAATTAAGGCGTAAAGCGCAGTAGGGGATCGGAAAGTTGGGGGTGAA
ATCCCGGGGCTCAACCCGGAAGCTCCCTCAAAAATACGCTGTCGAGTCCGAGAGAGGTGAGTGAATCCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGAGGGAACACCAG
TGCGGAAGGCGGCTACTGGCTCGTACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACA

>Otu4
TGGGGAATTTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCAATGCCGCGTGTGTGAAGAAGCGCTCGGTTGTAAGCACTTTTATCAGGAAGAATAATCCATCGGTTAATACCCG
GTGGCGATGACGGTACCTGAGGAATAAGCACCAGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGAAGGGTGAAGCGTTAATCCGGAATTAAGGCGTAAAGGGTGCCTAGG
CGGCTGTAAAGTCGGATGAAAGCCCTGGGCTCAACCTGGGAATGGCATCCGATCTGCGGGCTGGAGTGCAGTGAAGGATGGTGAATCCCGGTGTAGCGGTGAAATG
CGTAGAGATCGGAGGAACATCGGTGGCGAAGGCGCCATCTGGACCAGCACTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAACA

>Otu5
TGAGGAATTTGGACAATGGGCGAAGCCTGACGACGACGCGCGTGCAGGATGAAGTCTTTGATTGTAACCGGCTTTTCCAGGGAAGAACAAGCGTGGATTGTCCGG
TTTTGACGGTACCTGGTGAATAAGCACCAGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTGTCGGGAATCATTGGGTGAAGGGTGCAGCGGGG
CTTTAAGTTGGGGTGAATCTTCCGCTTAAACGGTAAATGCCCCTGATAGTGAAGTCTTGTAGTGTGACAGAGGTTGGCGGAATTCGTAGTGTAGCGGTGAAATGACACAGA
TATTACGAAGAACCAGTGGCGTAGGCGGCCAGCCGGTCAAACTGACGCTGAGGCACGAGAGCGTGGGGAGCAACA

>Otu6
TGGGGAATTTCCGCAATGGGCGAAGCCTGACGGAGCAACGCCGCTGGGGGAAGAAGTTTTGGATTGTAACCCCTTTCTCAAGGAAGAACAATAATGACGGTACTTGAG
GAATCAGCTCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGAGGCAAGCGTTATCCGGAATTAAGGCGTAAAGCGTTCGTAGCGGGCTTTCAAGTCTGCTGCA
AAGACCGAGGCTCAACCTCGGTCGCGAGTGGAACTGAATAGCTAGAGTCTGGTAGGGGCGAGAGGGAATCCAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTGGGAAGAACC
GGTGCGGAAAGCGCTCTGCTGGGCCAAGCTGACGCTGAGGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAATG

>Otu7
TGAGGAATTTGGACAATGGGCGAAGCCTGACGACGACGCGCGTGCAGGATGAAGTCTTTGATTGTAACCGGCTTTTCCAGGGAAGAACAAGCGTGGATTGTCCGG
TTTTGACGGTACCTGGTGAATAAGCACCAGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTGTCGGGAATCATTGGGTGAAGGGTGCAGCGGGG
CTTTAAGTTGGGGTGAATCTTCCGCTTAAACGGTAAATGCCCCTGATAGTGAAGTCTTGTAGTGTGACAGAGGTTGGCGGAATTCGTAGTGTAGCGGTGAAATGACACAGA
TATTACGAAGAACCAGTGGCGTAGGCGGCCAGCCGGTCAAACTGACGCTGAGGCACGAGAGCGTGGGGAGCAACA

>Otu8
TGGGGAATTTCCGCAATGGGCGAAGCCTGACGGAGCAACGCCGCTGGGGGAAGAAGTTTTGGATTGTAACCCCTTTCTCAAGGAAGAACAATAATGACGGTACTTGAG
GAATCAGCTCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGAGGCAAGCGTTATCCGGAATTAAGGCGTAAAGCGTTCGTAGCGGGCTTTCAAGTCTGCTGCA
AAGACCGAGGCTCAACCTCGGTCGCGAGTGGAACTGAATAGCTAGAGTCTGGTAGGGGCGAGAGGGAATCCAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTGGGAAGAACC
GGTGCGGAAAGCGCTCTGCTGGGCCAAGCTGACGCTGAGGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAATG

>Otu9
TGAGGAATTTGGACAATGGGCGAAGCCTGATCCAGCAATGCCGCGTGTGTGAAGAAGCGCTGCGGGTTGTAAGCACTTTTATAGGAAAGAACAAGCGGCTTAATACCC
AGAAAGCCCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGAAGGGGCTAGCGTTACTCGGAATTAAGGCGTAAAGCGTGCAGCGCGCTTAGTAAGTTGGAAGTGA
AGCCCAAGGCTTAACTTGGAAATGCTTTCAAACTGCTAGGCTAGAGTGTGACAGAGGATAGCGGAATTCGTAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTAGGAGAACACC
AGGCGAAAGCGGCTATCTGGCTGAATACTGACGCTGTTGACGAAAGCGTGGGTAGCAACA

>Otu10
TGGGGAATTTGGACAATGGGCGAAGCCTGATCCAGCAATGCCGCGTGTGTGAAGAAGCGCTGCGGGTTGTAAGCACTTTTATAGGAAAGAACAAGCGGCTTAATACCC
CTTGGCAATTTGACGCTAACTAATGAATAAGCACCAGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGAGGCTAGCGTTGTCGGAATTAAGGCGTAAAGGGCGCGT
GCGGCTACGTAAGTGGATGTGAAGCCCCGGGCTTAACTGGGAATTCGATCTGATAGTGTGCTAGAGTTGGTAGAGGTAAGTGAATTCAGGTGTAGCGGTGAAATG
CGTAGATATCTGAGGAAACACAGTGGCGAAGGCGGCTTACTGACCAAACTGACGCTGAGGTACGAAAGCGTGGGTAGCAACA

>Otu11
TGGGGAATTTGGACAATGGGCGAAGCCTGATCCAGCAATGCCGCGTGTGTGAAGAAGCGCTGCGGGTTGTAAGCACTTTTATAGGAAAGAACAAGCGGCTTAATACCC
CTTGGCAATTTGACGCTAACTAATGAATAAGCACCAGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGAGGCTAGCGTTGTCGGAATTAAGGCGTAAAGGGCGCGT
GCGGCTACGTAAGTGGATGTGAAGCCCCGGGCTTAACTGGGAATTCGATCTGATAGTGTGCTAGAGTTGGTAGAGGTAAGTGAATTCAGGTGTAGCGGTGAAATG
CGTAGATATCTGAGGAAACACAGTGGCGAAGGCGGCTTACTGACCAAACTGACGCTGAGGTACGAAAGCGTGGGTAGCAACA

>Otu12
TGGGGAATTTGGACAATGGGCGAAGCCTGATCCAGCAATGCCGCGTGTGTGAAGAAGCGCTCGGTTGTAAGCACTTTTCAAGGGAAGAAGAAGCGTCCCGTTAATACCC
GGGAGGAAGGACATACCCACAGAAGAAGCACCAGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGAGGCGAGCGTTAATCGGAATTAAGGCGTAAAGCGCGCTAG
GTGGCTGTAAAGCCGGTGTGAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAAGCGCATCCGGAATCTGAGGCTAGAGTGCAGGAGAGGAAGGTAGAATCCCGGTGTAGCGGTGAAAT
GCGTAGAGATCGGGAGGAATACAGTGGCGAAGGCGGCTTCTGACTGACACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGTAGCAACA

>Otu13
TCGAGAATCTTGGCAATGGGCGAAGCCTGACCGAGCAGCCCGCTGCGGGATGAAGGCTTCCGGTTGTAACCCGCTGCTGTAGAGGAGGAAATGCAAGGGGGTTCTCC
CTTTGTTGACCTATTCTAGGAGGAAGGACGGGCTAAGTTCGTGCCAGCAGCCCGGTAAGACGAACCGTCAAACTGACTCGGAATTAAGGCGTAAAGGGTGCCTAGGCT
GCGCGAAGGTTGGGTGTGAAGCCCTCGGCTCAACCGAGGAAGTCACTCAAACTACCGTGTCTGAGGAGACAGAGTAAGCGGAACCAAGGTGGAGCGGTGAAATG
GTTGATATCTGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGCTTACTGGGCTCTTCTGACGCTGAGGCACGAAAGCTAAGGTAGCAACG

>Otu14
TGGGGAATCTTAGACAATGGGGCAACCTGATCTAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGCGCTAGGTTGTAAGATCTTCTGCTGGGAAGATAATGACGGTACCCAGTAA
GAAGCCCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGGGCTAGCGTTGTCGGAATTAAGGCGTAAAGCGCGCTAGGCGGATGGAAAGTTGGGGGTGAA
TCCCGGGGCTCAACCCGGAAGTGCCTCCAAAATCACTAGTCTGAGTGTGAGAGAGGTGAGTGAATTCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGAGGAAACACCA
GGCGAAGGCGGCTACTGGCTGACTGACGCTGAGGTGCGAAAGTGTGGGGAGCAACA

>Otu15
TGAGGAATTTGGACAATGGAGGCAACTGACCCAGCATGCCGCGTGCAGGAAGAGCGTCTATGGAATTTAACTGCTTTTATACAGGAAGAACCCTCCACGTGTGGGA
GCTTGACGGTACTGTAGGAATAAGGATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGATCCAAGCGTTATCCGGAATCATTGGGTTAAAGGGTCCGTAGGCGGCC
TTATAAGTCAGTGGTGAATCTCTAGCTCAACTAGGAAGTCCATTGATACTGTAGGGCTTGAATTTGTAAGTAACTAGAAATATGTAAGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGATA
TTACATGGAATACCAATTGCGAAGGCAGGTTACTAACATATATTGACGCTGATGACGAAAGCGTGGGGAGCGAACA

>Otu16
TGGGGAATTTGGACAATGGGCGAAGCCTGACCGAGCAACGCCGCTGCGGGTGCAGGATGACGGCTTCTGGTTGTAACCCGCTTTTCAAGGGAAGAACAAGCGTACCTGCA
AAGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGTAGGGGCAAGCGTTGTCGGGATTCATTGGGCGTAAAGAGCTGTAGGCGGTTCAAGTCCGGGTGTA

AAGCTCCGAGCTCAACTCGGAGAGGCCACTCGATACTGTGACTAGAATCCAGTAGGGGAGCGTGGAATCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACC
AGCGCGAAGGCGCGCTCTGGCTGGAATTGACGCTGAGGAGCGAAAGTGTGGGTAGCAAAA
>Otu17
TCGAGAATCTTTCGCAATGGGCGCAAGCCTGACGGAGCGATGCGGTGTAGGGATGAAGGCCCTTAGGGTTGTAACCTCTTTCGCTGGGAACAAGGAAAGCGTGTGAATAACA
CGCTGGACAGAGCGTACCAGGTAAGAAAGCACCAGCTAACACCGTGCAGCAGCTGCGGTAATACGTGGGGTGAAGCATTAACTCGGAGTTATTGGGCGTAAAGGGTGCCTAG
GCGGATCAGTAAGTGGATGTGAAATCCCGGGGCTCAACCCCGAACTGCATCCATACTGCTGGTCTTAGGGGTAGACGGGAGAAATAAATCCATGTAGCGGTGAAATG
CGTAGATATGTGGAAGAAATACCGGTGGCGTAGGCGATTCTAGTTTATACCTGACGCTGAGGCACGAAAGCTGGGGGAGCAAAA
>Otu18
TGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGACGCAACGCCGCTGAGGGAGCAAGGCCCTCGGGTTGTAACCTCTTTTACGAGGGAAGAAGCGCAAGTACGCTACCT
GCAGAAAAAGCACCGGTAACCTGTCAGCAGCGCGGTAATACGTAGGGTGAAGCGTTGTCGGAAATATTGGGCGTAAAGAGCTGTAGCGGTTTTGTCGCTGTCTG
TGAAAAATCCGAGGCTCAACCTCGACCTGACGTGGGTACGGGCAAACTAGAGTGCAGGAGGGGAGATTGGAATCCTGGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGATATCAGGAGGAAC
ACCAATGGCGAAGGCGAGATCTTGGGCCGTAACCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAAAC
>Otu19
TGAGGAATATTGGACAATGGGCGAGAGCCTGATCCAGCCATGCCGCTGACGGAAGACTGCCCTATGGGTTGTAACCTGCTTTTACCGGAAGAAAAAGGCTCACGTGTGGC
TATTGACGGTACTGTGAAATAAGGATCGGCTAACCTCGTGCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTGAAGCGTTGTCGGAAATATTGGGCGTAAAGAGCTGTAGCGGTTTTGTCGCTGTCTG
GATTAAGTCAGTGGTGTGAAATCCCGGGCTCAACCTGGAATAAATGCGATGATGTTTCTTGTAGTTTGTGAAGTGTGAATGAGTAGTGTAGCGGTGAAATGCATAGATA
TTACTCAGAATACCGATTGCGAAGGCGAGATCACTAACATATACTGACGCTGATGACGAAAGCGTAGGTAGCGAAACA
>Otu20
TGGGGAATTTTGGACAATGGGGGCAACCCTGATCCAGCCATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCCCTCGGGTTGTAAGCTCTTTTACGCGGAAGAAAAAGGCTCACGTGTGGC
GGTCTTAATGACGGTACCGACACAAGAGCACCGGCTAACCTGTCAGCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTAATCGGAATTAATCGGAACTAGGGCGTAAAGCGTGCAG
GCGGTTCTGCTAAGACAGGTGTGAAATCCCGGGCTCAACCTGGGAATGGCCTTGTACTGGGGGCTAGAGTACGGCAGAGGGGGTGAATTCACGCTGTAGCAGTGAAT
GCGTAGAGATGTGGAGGAACCCGATGGCGAAGGCGACCCCTGGGCCGATACTGACGCTCATGACGAAAGCGTGGGGAGCAAAA
>Otu21
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCCCTAGGGTTGTAAGCTCTTTTACCGCGCAGCATGATGACGGTACGGGGAGA
AGAAAGCCCGCTAACCTCGTGCAGCAGCCGCGTAATACGGAAGGGGCAAGCGTTGTCGGATTTACTGGGCGTAAAGGGCGCTAGGCGGATGTTTATGTAGAGGTGAA
AGCCCGGGCTCAACCTGGAACTGCCTTTGAAACGGGACGCTTGTAGTTCGGGAGAGGGTAGCGGAATCCAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGGGAAGAACACCG
GTGGCGAAGGCGGCTACTGCGCCGAGACTGACGCTGAGGCGCAAAAGCGTGGGGAGCAAAA
>Otu22
TGAGGAATTTTGCACAATGGACGCAAGTCTGATGACGCAACCGCTGTGCGGGTACGCGGGCTCAGCCTGTAAACCGCTGTAGCTCGGGAAGAAAAATGCCTTAAGAGGCA
AGGACTGTACCGAGAAAGTAAAGCACCGGCTAACCTGTCAGCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTGAAGCGTTGTCGGATTTACTGGGTGTAAGAGGGTGCAGCGGGG
TGTAAGTCAGAGGTGAAATGCCGCTCAACGACGGAAGTGCCTTTGATACTGCTACTTGTAGTGTGAGAGAGGTTGGCGGAATCCGGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGA
TATCCGGAAGAACACCAAGTGGCGAAGGCGACCAACTGGCTCATAACTGACGCTCAGGCACGAAAGCGTGGGTAGCGAAACA
>Otu23
TGGGGAATCTTAGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCTGAGTGTGAAGGCCCTTAGGGTTGTAAGCTCTTTTACGCTGGGAAGATAATGACGGTACCGAGAA
GAAGCCCGGCTAACCTCGTGCAGCAGCCGCGTAATACGGAAGGGGCTAGCGTTGTCGGAATTAATGGGCGTAAAGCGCGCTAGGCGGACTGGAAGTGGGGGTGAA
ATCCCGGGCTCAACCTCGAACTGCCTCAAAAATATCAGTGTGGAGTTCGAGAGAGGTGAGTGGAAATCCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGGGAGAACACCA
TGCGAAGGCGGCTACTGGCTGATACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAAA
>Otu24
CGACGAATCTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAATGCCGCTGTGGGATGAAGCAGCTTCCGCTGTGTAACCACTGTACGGTCCAGGAACACTGACCGGGACAGAG
GAAGGGCCGCTAACCTCGTGCAGCAGCCGCGTAATACGGAAGGGGCTAGCGTTGTCGGAATTAATGGGCGTAAAGCGCGCTAGGCGGACTGGAAGTGGGGGTGAA
ATCCCGGGCTCAACCTCGAACTGCCTCAAAAATATCAGTGTGGAGTTCGAGAGAGGTGAGTGGAAATCCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGGGAGAACACCA
TGCGAAGGCGGCTACTGGCTGATACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAAA
>Otu25
CGACGAATTTCCGCAATGCGCGAAAGCGTACGGAGCAATGCCGCTGACGATGAAGCGGCTACCGCTGTAACCTGTGTCAGGGTTTAGGAATACTGACCAAACCAAG
GAAGGGCCGCTAACCTCGTGCAGCAGCCGCGTAATACGAGAGGCCGAGCGTTAATCGGAATCACTGGGCTTAAAGGGTGCAGCGGCGACTGGAAGTGGGGGTGAA
TCCCGGCTCAACCGGGGAACTGCGGGGCAAACTGCGTTTCTGAGGCAAGTAGGGCTATCGAAACGCTAGGTGAGCGGTGAAATGCGTAGATATCTAGCGGAACCGCAAT
GGAGAAATCAGATAGCTGGCTTCTCTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAAA
>Otu26
TGGGGAATTTTTCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAACGCCGCTGAGGGATGAAGGCCCTCTGGGCTGTAAACCTCTTTTCAAGGAAGAAGATCTGACGGTACTTGAGG
AATAAGCCACGGCTAATTCCTGTCAGCAGCCGCGTAATACGGGAGTGGCAAGCGTTAATCCGGAATATTGGGCGTAAAGCGTCCGAGCGCGCCCTGTAAGTCTGTGCAA
AGCGTGGAGCTTAACTCCAACTTCGGCAGTGGAAACTACAGGGCTTGTAGTGTGATGGGAGGCGGAAATCCCGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCGGGAAGAACA
GTGGCGAAGGCGCTCTGCTGGCCATAACTGACGCTCATGACGAAAGCGTAGGGAGCGAAAG
>Otu27
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCTGAGTGTGAAGGCCCTTAGGGTTGTAAGCTCTTTTACCGGGACGATAATGACGGTACCGGAAGAA
TAAGCCCGGCTAACCTCGTGCAGCAGCCGCGTAATACGGAAGGGGCTAGCGTTGTCGGAATCACTGGGCGTAAAGGGCGCGTAGGCGGACATTTAAGTCCGGGGTGA
GCCCGGGCTCAACCCCGAAATGCTCCGATACTGGATGCTCGAGACCGGAAAGAGGTAAAGTGGAACTGCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGCAAGAACCAGT
GGCGAAGGCGGCTACTGTCGGATCTGACGCTGAGGCGCAAAAGCGTGGGGAGCAAAA
>Otu28
TGGGGAATCTTGTCAATGGGCGAAAGCCTGAGACAGCCAGCCGCTGCGGGAAGAAGGCCCTCGGGTGTAAACCGCTTTTACGAGGGAAGAAGCGAAAGTACGCTACCT
CCAGAAGAGCCCGGCAACTACCTGTCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGGCGAGCGTTGTCGGAAATCATTGGGCGTAAAGCGCATGTAGCGGCGGTGTAAGTCCGAT
GTAAATCCCGGGCTCAACCTCGAACTGCACTCCGTACTGCAGGGCTTGAAGTGTGATGGGAGGCGGAAATCCCGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCGGGAGGAA
CACCAGCGCGAAGGCGGCTCTGCGCCCTCTCTGACGCTGAGATGCGAAAGCGTGGGTAGCAAAA
>Otu29
TCGAGAATTTTTCACAATGGGGGCAACCCTGATGGAGCAGCCGCTGAGGAGTGAAGGTTTTCGATTGTAAACCTCTGCTATTAGAGAACAAGGCACACGTTTTAACTGGCT
GTGTTGTAGATATCTGAAGAGGAAGAGACGGCTAACCTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAAGGGGCTAGCGTTGTCGGAATCACTGGGCGTAAAGGGCGCGTAGGCGG
GCGATGTAGTGGGTGTGAAATCCCAAGCTTAACTTGAAGTCACTCGATACTGCTGTTGCTAGAGGACTGTAGAGGGCATTGGAATTCACGGTGTAGCAGTGAATGCGT
AGATATCGTAGGAAAGACAGTGGCGAAGGCGAATGCTGGGCAAGTCTGACACTGAGGCACGAAAGCGTAGGGGAGCAAAA
>Otu30
TCGAGAATCATTGTCAATGCGCGAAAGCGTGAACGTGCGACGCCGCTGTGGGATGAAGGCCCTCGGGTTGTAACCACTGTGAGGAGCTAAACATAAGCGTGAACCCACG
ATGAGTTAACTCCAGAGGAAGTACAGCCTAACCTGTCAGCAGCAGCTGCGGTAATACGTAGGTGCGGAACGTTATTGCGATTTACTGGCTTAAAGGGCGCGTAGGCGGTTTC
GTTAGTCGATGTTGAAATCCGACGGCTCACCGTCAACTGGCTGATACTGCGAACTAGAGTCACTGAGGGGTGCGTGAACCTTGTGGTGGAGCGGTGAAATGCCAGATA
TCACAGGGAACACCGAGGCGAAGGCGACGCACTGCACATGACTGACGCTGAGGCGCAAAAGCTAGGGTAGCGAAAC
>Otu31
TGGGGAATATTGGACAATGGGGGCAACCCTGATCCAGCCATGCCGCTGTGTGAAGAAGGCCCTCGGGTTGTAAGCACTTTTCACTGTTGAGGAAGGGGTGTGCGTTAATACCC
GACATCATTGACGTTAGCCACAGAAGAAGCACCGGCTAACCTCGTGCAGCAGCCGCGTAATACGGAAGGGTGCAGCGTTAATCGGAATTAATGGGCGTAAAGCGCGCGTAG
GCGGCAAGTTAAGTGGGTGTGAAAGCCCGGGCTCAACCTGGGAAGTGCATCAAACTGGCTAGCTGGAGTACGGCAGAGGACAGTGAATTTCCGGTGTAGCGGTGAAAT
GCGTAGAGATCGGAAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGACTGTCTGGCTGATACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAAA
>Otu32
TAACGAATCTTCCGCAATGCGCGAAAGCGTAGCCAGCAATGCCGCTGACGATGAAGGCCCTCGGGTGTAAACCTGTGTCAGGGGTAGCAACAATGAGCAACCCAAA
GGAAGGCGGCTAACCTCGTGCAGCAGCCGCGTAATACGGAAGGGCCGAGCGTTAATCAGAATCACTGGGCTTAAAGCGTACGAGCGGGCATGCAGCATCTTGTGAA

ATCCCTCGGCTCAACCGAGAACTGCTTGTATGAACCGCATGTCTTGTAGGCAAGCAGAGGCTGTCGGAAACGATAGGTGGAGCGGTGAAATGCGTTGATATCTATCGGAACGCCAA
AGGTGAAGACAGGCGAGCTGGGCTTGTCTGACGCTCATGTACGAAAGCGTGGGTAGCGAACG
>Otu33
TGAGGAATCTTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCGAGCGACGCCGCTGAGGGACGAAGGCCCTTCGGGTTGTAAACCTCTGTCAGTGGGGGAAAGTTTGACGGTACCCACTG
AGGAAGCTTCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAAGACGTAGGGAGCAAGCGTTGCCCGGAATTACTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGGGGCGTACGCTGTAGAGG
AAATCTCAAGGCTCAACCTTGGGCTGTCTCAGATACCGCGCTCTTGTAGGGGTGTAGAGGAAAGTGGAAATCCCGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCGGGAGGAACACC
AGTGGCGAAGGCGACTTCTGCGACATCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGTAGCGAACG
>Otu34
TGAGGAATCTTCCGCAATGCGCGAAAGCGTGACGGGGCAATGCCGCTGACAGGATTAAGGCCCTCGGGGTGAAACTGCTGTCAAGTCTAGGAATCAATGACCAGACTTAA
AGGAAGGGCGGCTAACTCTGTCCAGCAGCCGCGTAATACAGAGGGCTCAGCGTTAATCGGAATCACTGGGCTTAAAGCGTGCCTAGGCGGGCGTGAAGCATCTTGTGA
AAGCCCCGCTCAACCGGGAATGCTTGTGTAAGTGCACGTCTTGTAGGCAAGTAGAGGTGTCGGAACGATAGGTGGAGCGGTGAAATGCGTAGATATCTATCGGAACGCC
AACGGAGAAGTCAAGGCACTGGGCTTGTCTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGTAGCGAACG
>Otu35
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCTGTGTGAAGAAGGCTTTCGGGTTGTAAAGCCTTTCAGGAGTGAAGAAAAGCGTGGGTGAATAATC
TGACGCTTTCGACTTACTCCAGAAAGCAGCCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGCAGAACGTTAATCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGCGTGAAGG
CGGTTCTTAAAGTGGGTAAGTCCGCTCAACCTGGAATTCACCTTCAACTGGGACTTGAAGTGCAGTGAAGTGCAGTGAAGTGCAGAACGATAGGTGGAGCGGTGAAATGCGTAGATATCTATCGGAACGCC
GTAGATATCTGGAGGAACATCGGTGGCGAAGGCGCCCTCTGACTGACACTGACGCTGAGACGCGAAAGCGTGGGGAGCAAAACA
>Otu36
TGGGGAATCTTTCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGAAGCGATGCCGCTGTGAGGGATGAAGGCCCTTAGGGTTGTAAACCTCTTTCGCCCCGGAACAAGGAAGAAGCGGAGAATAAC
GCTTTGGACAGAGGGTACCGGTAAGAAAGCGCCGCTAACCCAGTCCAGCAGCTGCGGTAATACGTTGGGCGCAAGCATTAAATCGGATTTATGGCGTAAAGGGTGCCTA
GGCGGATTGCAAGTAAGATGTGAATCCCGGGCTTAACTCCGGAACGGCATTTTAGACTGCAAGTCTTGTAGGGTAGACGGAGAGAACGGAATCCACGTGTAGCGGTGAAT
GCGTAGATATGTGGAGGAACCCGGTGGCGAAGGCGGTTCTAGTTTACTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAAACA
>Otu37
TGAGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATCCCGCTGACGAGTACGGCCCTACGGGTTGTAAACTGCTTTATAAGGGGAAAGAACCCCTCTTTTAAAGGGG
GCTGACGTACTTGAAGATAAGCAGCCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGCAGCGTTATCCGGAATTAAGGTTTAAAGGGTGCCTAGGCGGAAT
GATAAGTCAGGAGTGAAGCTTCCGCTCAACCGGGAATGCTTTGATACTGTTGTTGTAATCAGGATGAGGTGGCGGAATGCGCATGTAGCGGTGAAATGCGTAGATA
TGCCATGGAAACCCGATTGCGAAGGCGAGTGGACCTGATTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCGAAACA
>Otu38
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCTGTGAGTGTGACGGCCTTCGGGTTGTAAAGCTTTCGAGGGGAAAGATTAATGACGGTACCCCTGA
TAAGAAAGTCCCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGGCAACGTTGTCGGATTACTGGGCGTAAAGAGCGACCTGAGGTGGTTCGGCCAAAGTCAAGTGTG
AAAGCCCGGGCTTAAACCGGGAATGCAATTTGAACTGGTGCAGTGTAGTAAAGTGCAGGATGGCGGAATGCCAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGGCAGGAACACC
AGTTGTGAAGACGGCTATCTGCCATTTACTGACACTGAGGGTCGAAAGCGTGGGGAGCAAAACA
>Otu39
TGAGGGATATTGCTCAATGGACGCAAGTCTGAAGCAGCGACCCGCTGGGTGAAGAAGGCTTTCGGGTCGTAAGGCCCTTTCGTTGTCGACGAGAAGCGGACGGTAGCCAAAG
AATAAGTGTCCGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAAACGTTAGACGCAAGCGTTATCCGGAATTAAGGCGTAAAGAGCGCGTAAGGCGGTCAACAAGTATCATGCTGA
AAGTCCCGCTAACTGGGAGAGGTGGATGATACTGTTGATCTTGTAGTGTGGCAGAGCGGTGGAAATCCCGCTGTAGTGGTGAATGCGTAGATATCGGGAGGAACACC
AGTGGCGAAGGCGCAGCTGGGCCAACTGACGCTGAGGCGCAAAAGCATGGGTAGCGAACG
>Otu40
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAACCTGATCCAGCCATGCCGCTGTGAGTGTGAAGGCCCTTAGGGTTGTAAAGCTTTCACCGGAGAAGATAATGACGGTATCCGGAGAA
GAAGCCCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGGCTAGCGTTGTTGGAATTAAGGCGTAAAGAGCGCAGTGGCGGATTTAAGTCAAGGGTGAAG
TCCCGCAGCTCAACTGCGGAAGTCCCTTTGATACTGGATATCTAGAGTCCGAGAGGAGTGGGAACTCCTAGTGTAGAGGTGGAATTCGTAGATATTAGGAAGAACCAAGT
GGCGAAGGCGGCTACTGGCTCGTACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAAACA
>Otu41
TGAGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGACCCAGCCATCCCGCTGCGAGGAAAGTCCCTATGGGTTGTAAACTGCTTTATAAGGGGAAAGAACCGCTGGATTTATCCGG
GTTTACGGTACCTTAGGAATAAGCAGCCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGCAGCGTTATCCGGAATTAAGGTTTAAAGGGTGCCTAGGCGGGA
TATTAAGTCAGAGGTGAAAGCTTCCGCTTAAACGGTGAATGCTTTGATACTGTTTCTTGAATTTGGGTTGAGGATAGCGGAATGAGACATGTAACCGTGAATGTGTAGAT
ATGCTTAGAACCAATTCGGAAGGCGACTATCTGGCCCTGATTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAAACA
>Otu42
CTAAGAATCTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGAGCGACCCGCTGGGTGAAGAAGGCGGAAACGTTGTAAAGCCCTTTCGCTGAGGAATAAGCGTGGGAGGAAATG
CCCGCTGATGACGTTAGCGCAGGAATAAGCCCGGCTAATTACGTGCCAGCAGCCGCGTAACACGATGAGGCGAGCGTTGTCGGAATTAAGGCGTAAAGGGCGCGTA
GGCGGCTTGGCAAGCTTGGTGTGTAAGCCACGCTCAACTGTGAGAGCGCGCTGAGAAGTCTTGAAGTCTGAGTCTGGAGGGGAAGCTGGAATTCCTGGTGTAGGGGTGAAT
CTGTAGATATCAGGAAGAACATCAGTGGCGAAGGCGAGCTTCTGGCAAGGACTGACGCTGAGGCGGAAAGCGTGGGGAGCGAAACA
>Otu43
CAACGAATATCCCAATGGGCGCAAGCCTGAGGAGCAATGCCGCTGGAGGATGAAGCTCTCGAGTGTAAACTCTGTGAGGACCAGAAAGCTGTGATCGTCCAGAG
GAAGGGCCGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGCCGAGCGTTAATCGGAATCACTGGGCTTAAAGGGTGTGTAGGCGGGCTTGAAGTACCTTGTGAAT
CCCACAGCTCAACTGTGAACTGCTCGTAAACTGCAAGTCTTGTAGCCTGACAGAGGTCGTCGGAACGCTAGGTGGAGCGGTGAAATGCGTAGATATCTAGCGGAACGCCAAAG
GTGAAGACAGCAGTGGTGGTGTGACGCTCAGACGAAAGCGTGGGTAGCGAACG
>Otu44
TGGGGAATATTGCGCAATGGTGAAGACTGACGCGAGCAGCCGCTGTGGATGAAGCCCTTCGGGTTGTAAACCTGTCAGGAGGGAAGAACCCCGTACGTTGCAATAG
GGCGTACGGTACGCTACCTCAGAGGAAGCGCCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAAGACGAGGGCGCAAGCGTTGTCGGAATTAAGGCGTAAAGCGCACGC
AGGCGGCTTTAAAGTCTTGTGTAAGAACCCGAGCTCAACTCCGCGGAATGCAAGAAGTACTGGAAGACTAGAGATCGGTAGAGGCTAGTGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGA
ATGCGTAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGACTAGTGGCCGAGTCTGACGCTCATGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAAACA
>Otu45
CGACGAATCTTCCGCAATGACGAAAGTGTGACGGAGCAATGCCGCTGTGGATGAAGCGGCTACGCCGTGTAACCACTGTGAGGCTTAGGAAGAAGTACCCAGACCCAG
AGGAAGGGCCGCTAACTCTGTCAGCAGCCGCGTAATACGAGAGGCCCAAGCGTTAGACGGAATCACTGGGCTTAAAGCGTGCCTAGGCGGACGCGTAAGCGTGTGTGA
AATCCACAGCTCAACTGTGGAATTCGATGCGAAGTGTGTTGAGGAAGTGGGTCAGTGAAGCTTCCGTTGAGCGGTGAAATGCGTAGATATCGAACGGAACGCC
AATGGTGAAGACAAGTGGCTGGCCTTCTGACGCTGAGGTACGAAAGCGTGGGGAGCAAAACA
>Otu46
TGGGGAATCTTAGACAATGGGCGCAAGCCTGATAGCCATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCCCTTAGGGTGTAAAGCTTTCGCTGTGAAGATAATGACTGTAGCAGGTA
GAAACCCCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGGTTAGCGTTGTTGGAATTAAGGCGTAAAGCGCGCTAGGCGGACATTTAAGTCAAGGGTGA
TCCAGGGCTCAACCTGGAAGTGCCTTTGATACTGGTGTCTTGTAGTTCGAGAGAGTGTAGTGAATTCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGGAGGAACCAAGT
GGCGAAGGCGGCTACTGGCTCGATACTGACGCTGAGGTGCGAAAGTGTGGGGAGCAAAACA
>Otu47
TCGAGAATATTACAATGGGCGAAAGCCTGATGGTGCAGCAGCCGCTGGAGGATGAAGGCCCTTCGGGTTGTAAACCTCTGTCAAGTGGGAACAAGAAAGTGTAGTACCCTA
GAGGAAGAGACGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACAGAGGCTCTCAAGCGTTGTTCCGATTACTGGGCGTAAAGGGTGCCTAGGCGGCAATTAAGTCAATTTGTGA
AATCTTCGGCTCAACTGGAGACTGCAAAAGTACTGTTTCTGCTAGAGGAATATAGAGGAGTGTGAATTTACGGTGTAGCAGTGAATGCGTAGATATCTAAGGAACCA
GTGGCGAAGGCGACTCTGGGTAATCTGACGCTGAGGCACGAAAGCGGAGGAGCAAAACA
>Otu48
TGGGGAATTTTCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGAGCAATACCAGTGTGGAGGAAGGCTTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGGGAAGAAAAAAGTACGCGTACCTGAG
GAATAAGCATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGATGCAAGCGTTATCCGGAATGATTGGGCGTAAAGGGTCCGAGGTGGCCATGTAAGTCTGCTGTTA

AAGAATGAGGCTTAACCTCATCAGAGCGGTGAAACTACAGAGCTAGAGTGCAGCGGGTAGAGGGAATTCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCAGGAAGAACCC
AGTGCCGAAGCGCTTACTAGACCATAACTGACACTGAGGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAATG
>Otu49
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAGCGCTGATCCAGCAATGCCCGTGTGTGAAGAAGCGCTGCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCAGGGGAAGAAATACCTGGGGTTAATACCC
CCGGGACTGACGTCACTGCAGAAAGAACCGCGTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGTAG
GTGGTCCGGTAAGTCCGGGTGAAAGCCCCGGGCTTAACCTTGGGAATGGCAATTCGATCTGCCCGGCTAGAGTATGGAAGAGGGGAAGCGGAATTTCCGGTGTAGCGGTGAAAT
GCGTAGATATCGAAGGAACACCAAGTGGCGAAGCGGCTTCTGGTCCAATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGTAGCGAAACA
>Otu50
TCGAGAATCTTGGCAATGGGCGAAGCGTACCGAGCGATGCCCGTGCAGGATTAAGCGCTTGGGTTGTAAACCGTGTCTAGGGGAGGAAATAGAAATTTGACCGATCC
TAGGAGGAAGTCCGGGCTAAGTTCGTGCCAGCAGCCGCGTAAGACGAACCGGACGAACTTATTCGGAATTAAGAGTTCTAGGGCGTAAAGAGTTCTAGGGCGTAAAGGTTGGGT
GTGAAATCCACGGCTCAACCGTGAAGTGCCTCAAACTATCGAGCTTAGGGGAGCAGGGGTAAGCGGAAGTGTGGTGGAGCGGTGAAATGCATTGATATCATCAGGAA
CACCGGTGGCGAAGGCGGCTTACTGGTCTTCTGACGCTGAGGAACGAAAGCTAGGGGAGCAAAACG
>Otu51
TGGGGAATCTTGGACAATGGGGAACCCCTGATCCAGCATGCCCGTGCAGGATGAAGGCCTTAGGGTTGTAAAGCTCTTTCGCTGGGGAAGATAATGACGGTACCCAGTAAA
GAAGCCCCGGTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGGGGTAGCGTTTTCGGAATTAAGCGGCGTAAAGCGCGCTAGGCGGACTGGAAGTTGGGGGTGAA
ATCCCGGGCTCAACCCGGAACTGCCCTCAAACTGTCAGTCTTGGGTGAGGAGGAGTGAATTCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAGGAACACCAAG
TGCCGAAGGCGGCTACTGGCTCAAACTGACGCTGAGGTGCGAAAGTGTGGGAGCAAAACA
>Otu52
TGGGGAATCTTGGCAATGGGCGAAGCGTACCGAGCAACCGCGTGCAGGATGAAGGCCCTTGGGTTGTAAAGCTCTGTCAAGAGGGGAAGAACAGACTTCGGTCTGACG
GTACCTCTGAAGGAAGCACCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGGTGCAAACTGTTTCGGAATCATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGCGGCTGCGCAGG
TCGGGTGTAATCCCGGGCTCAACCCGGATCTGCGCTGAAACCGCGTAGCTGGAATGCTGGAGGGGAAGTGAATTCCTGGTGTAGGGGTGAAATCCGTAGATATCAG
GAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGACTTCTGGCCAGACATTGACGCTGAGGCGCAAAAGCGTGGGTAGCAAAACA
>Otu53
TGAGGAATATTGGTCAATGGACGGAAGTCTGAACCAGCCATGCCCGTGCAGGAAGAATGCCATGGGTTGTAAACTGCTTTTATTAGGAAGAATCTTCTACGTGTAGAAG
ATTGACGGTAACTAAATGAATAAGACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGTCCAAGCGTTATCCGGAATCATTGGGTTTAAAGGTCGCCAGCGGTTA
GATAAGTCAGTGGTGAATCTCTCAGCTTAACTGAGAACTGCCATTGATACTGTTAACTTGAATTCGGTGAAGTGGCGGAATGTGTCATGTAGCGGTGAAATGCATAGATA
TGACACAGAACCCGATAGCGAAGGCGACTTACTAGGCTGAATGACGCTATGGACGAAAGCGTGGGGAGCGAAACA
>Otu54
TGGGGAATCATTACAATGGGGGAAACCCCTGATGGTGCACCGCCGCTGAGGGATGAAGGCCCTTAGGGTCTGTAACCTCTGTCAACCAAGGAGCAACAAGCAGGTTTATAGCCTG
CCCTGAGTTAACTGGAGAGGAAGCAAGTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGGTGCAAACTGTTACTCGGATTACTGGGCGTAAAGGGTCCGCGAGGCGGCTAGGCGCG
CATGTGTGTAGGTGTAATCCCGGGCTTAAACCCGGAAGTGCCTAAAAGTGCATGGGTAGAGTGTGGAGAGGTAAGCGGAATTTCCGGTGTAGCGGTGAAATGCATAG
ATATCGGAAGGAACCAATGGCGAAGGCGACTTACTGGCAACTACTGACGCTGAGGCACGAAAGCATGGGTAGCGGAAAG
>Otu55
TGAGGAATATTGGTCAATGGACGCAAGTCTGAACCAGCCATGCCCGTGCAGGAAGACGCGCCCTTGGGTTGTAAACTGCTTTTATTGGGAAGAAACCCCTGCGTGCATCGA
GGCTGACAGTAAACGAAGAATAAGACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGTGAAGCGTTATCCGGAATCATTGGGTTTAAAGGTCGCCAGGCGGG
CCCCTAAGTCAGTGGTGAATCCCTCAGCTTAACTGAGGAAGTGCATTGATACTGCGGGTCTGAAATTCGGTGAAGTGGCGGAATGTGTCATGTAGCGGTGAAATGCATAGA
TATGACACAGAACCCGATAGCGAAGGCGACTTACTGGCCTGAATGACGCTCAGGGACGAAAGCGTGGGGAGCAAAACA
>Otu56
TGAGGAATTTGGACAATGGGCGAAGCGCTGATCCAGCAATATCGCGTGGGTGATGAAGGCTCTATTAGTCGTAACCCCTTAAATCAGGAATGATAATGACAGTACCTGAACAA
AAAGCTCCGGCAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGGTGCAAGCGTTATCCGGAATCATTGGGTTTAAAGGTCGCCAGGCGGG
CCCCTAAGTCAGTGGTGAATCCCTCAGCTTAACTGAGGAAGTGCATTGATACTGCGGGTCTGAAATTCGGTGAAGTGGCGGAATGTGTCATGTAGCGGTGAAATGCATAGA
TATGACACAGAACCCGATAGCGAAGGCGACTTACTGGCCTGAATGACGCTCAGGGACGAAAGCGTGGGGAGCAAAACA
>Otu57
TGAGGAATATTGCAATGGGCGAAGCGTGTGCAGCGACGCGCGTGGGCGAAGAAGGTTTTCGATCGTAAAGCCCTTTCTGTGTGACGAGGAAGGACGGTAGCACAGG
AATAAGTGTGCGTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAAACGTAGGACGCAAGCGTTATCCGAGTACTGGGCGTAAAGCGCGAGCAGGCGGACTGTTAAGTTAGCCATGAA
AGCTCCCGGCTAAACTGGGAGAGGCTGTTGATACTGGCAGTCTGAGTAGAGCAGGAAGGTAGAATTCGCGTGTAGTGGTGAATGCGTAGATATGCGGAGGAATACCA
GTGGCGAAGGCGGCTTCTGGGCTCATACTGACGCTGAGGCGCAAAAGCATGGGTAGCGAAGC
>Otu58
TGGGGAATATTGCGCAATGGGCGAAGCGTGCAGCAGCAACCGCGTGCAGGATGAAGGCCCTTGGGTTGTAAACCGCTTTCAGCAGGGGAAGCGAAGGTGACGGTACCT
GCAGAAGAAGACCCGGTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGGTGCAAGCGTTTCCGGATTATTGGGCGTAAAGAGCTGTAGGGCGTTAGTCACGTGGATG
TGAAAACCCAGTGTCTTAACTGCTTAACTGACTGATGACTAGAGTTAGATAGAGGAGTGTAGGGGAGACTGGAATTTCTAGTGAAGGATAAAAATCTGTAGATATTAGAAGGAACACCTAAAG
GAAGGCATCTGTCTGATCTAAACTGACACTGAGGTGCGAAAGCATGGGGAGCAAAACA
>Otu59
TGAGGAATATTGCAATGGGCGAAGCGTGTGCAGCGACGCGCGTGGGTGAAGAAGGTTTCCGCTGTAAACCCCTTTCTGTGTGACGAGAGAGGACGGTAGCACAGG
AATAAGCGTGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAAACGTAGGACGCAAGCGTTATCCGAGTACTGGGCGTAAAGGGCGTGCAGGCGGCTTTTAAAGTTAGCGGTGAA
AGCTCCCGGCTAAACCGGAGAGGTCGTCTGATACTGGGAGACTAGAGTGTGGTAGAGGCGTGGGAATTCGCGTGTAGTGGTGAATGCGTAGAGATGCGGAGGAACACCA
GTGGCGAAGGCGGCGCTTGGGCTCATACTGACGCTGAGGCGCAAAAGCATGGGTAGCGAAGC
>Otu60
TGAGGAATCTTGGCAATGGAGGAACTGACGCGACGCGCGTGCAGGATGAAGGCCCTTGGGTTGTAAACCGCTTTTACTGGGAAGAAAGGCGGCTTTTGTAGCT
GTTTGTAGCGTACCGTTGAATAAGCAGCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGGTGCGAGCGTTTCCGGAATCATTGGGTTGAAGGATGCGTAGGCTGG
CGCTAAGTCTGGGTGAAATCTTGGCGTTAACGGTAAATGGCCCTGGATCTGGGTGTCTTGAATCTGACAGAGGTCGGTGAATTCGTAGTGTAGCGGTGAAATGCATAGATA
TATTACGAAGAACCAGTGGCGAAGGCGGCGGCTGGGTGAGTATTGACGCTGAGGCGAAGCGTGGGGAGCAAAACA
>Otu61
TGGGGAATATTGGCAATGGTGGGAAGACTGACCCAGCCATGCCCGTGCAGGAAGACGCGCCATTGGGTTGTAAACTGCTTTTATCAGGGAAAGAAAGCCCATGCGTGGGA
ACTTGGCGGTAACCTGATGAATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGGTGCGAGCGTTGTCGGGATTATTGGGTTTAAAGGTTGCGTAGGCGGCT
TTTTAAGTCAGCGGTGAAAGTTTTCGGTCAACCGGAAAAATGCCGTTGATACTGGGAGCTTGTGACGGAAGGTCATGGAATGATGGTGTAGCGGTGAAATGCATAGATA
TACCATCAGGAACACCGATAGCGTAGGCAATTGTGCTTCCGTGAACTGACGCTGAGGCGCAAAAGCGTGGGTAGCGAAACA
>Otu62
TGGGGAATCTTGGCAATGGGCGAAGCGTGCAGCCATGCCCGTGAATGATGAAGGCCCTTAGGGTTGTAAATCTTTCGTGAGGGATGATAATGACCGTACCTGAAGAA
GAAGCCCCGGTAACTCGTGCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGGGGTAGCGTTTTCGGAATTAAGCGGCTAAAGCGCACGTAGGCGGACTTTAAGTCAAGTGTGAAAT
CCCGGGCTCAACCTCGAACTGCAATTTGAACTGGAAGTCTTGTAGATCAGGAGAGGTTAGCGGAATACCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCCGTGGAACACCAAGT
GCGAAGGCGGCTAACTGGACTGATACTGACGCTGAGGTGCGAAAGTGTGGGGAGCAAAACA
>Otu63
TCGAGAATCATTGCAATGGGCGAAGCGTGCAGGTCGACGCGCCGCTGAGGATGAAGGCCCTAGGGTGTAAACTCTGTATCGGGGAGTAAAGGCTTGCAGCACTG
GCGGGTCTGTATAGTACCCGAAGGAGGAGGACGGCAAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGGTGCGAGCGTTTCCGGAATTAAGCGGCTAAAGCGTCTGTA
GGCGGTGCGGTAAGTCAGATGTGAAATCCCGGGCTCAACCCGGAAGTGCATCCGATGACTGCGTGTAGAGGGTTCGAGGGGAGTCTGGAATTTCTGGTGTAGCAGTGA
TGCGTAGATATCGAGGAACACTAGAGGCGAAGGCGAGACTCTGGACGACACCTGACGCTGAGAGACGAAGGCTAGGGGAGCGAAACA
>Otu64
TGAGGAATATTGCGCAATGGGCGAAGCGTGCAGCAGCAACCGCGTGGAGGACGAAGGCCCTTGGGTTGTAAACTCTTTTCTGAGAGAAGGAAAGGACGGTATCTCAGG
AATAAGCCCCGGTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAAACGTAGGGGCAAGCGTTATCCGGAATTAAGCGGCTGAAAGCGCGTGCAGGCGGTGACGCAAGTGGATGTGA

AAGCTCCTGGCTCAACTAGGAGAGGCCATTGAGACTGCGTGACTAGAGGATGGTAGAGGTAAGCGGAATCCCGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCGGGAGGAACACC
AGAGGCCAAGGCGCTTACTGGCCATCTGACGCTCAGACGCCAAAGCTAGGGGAGAGAACG
>Otu65
TGGGGAATTTTCGCAATGGGCGCAACCTGACGAGCAACGCCGCGTGAAGGAGGAAGGCTTAGGGTTGTAAACCTCTTTTCAAGGAAGAAGCTCTGACGGTACTTGAGG
AATAAGCCTCGGTAACCTCGTGCCAGCAGCCGCGTAAGACGGAGGAGGCAAGCGTTATCCGGAATTTAGGGCGTAAAGCGTCCGACGGCGGCTAGTTAAGTCTGTTGCAA
AGGTTACAGCTCAACTGTGAATCGGCGATGGAACTGATTAGCTAGAGAGTGGTAGGGGTAGAGGGAATCCCGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCGGGGAAGAACCA
GTGGCGAAGGCGCTACTGGCCATTACTGACGCTGAGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAAAG
>Otu66
TGAGGAATATTGGCAATGGGCGAAAGCCTGACGACGCCGCGCGTGTGCGAAGAAGTCTTTGATCGTAAACGACTTTTATCGGGGAAGAAAGCCGGTTTCGACCCG
GGGTGACGGTACCCGAAGAATAAGCACCAGGCTAACCCTGTCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAGCGTTGTCGGAATCATTGGGTGTAAAGGGTGCAGTAGCG
GGTTTTAAGTCTGGGGTGAATGTGCGGCTCAACCGTAGCAGCTGCCCTGGATACTGGAGACCTTGAGTGTGACAGAGGACAGGTAGAATTCGTGGTGTAGCGGTGAAATGCAT
AGATATCACGAAGAATAACAGTGGCGAAGGCGGCTGCTGGTCAACAAGTACGCTGAGGACGACGAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu67
TCGAGAATCTTCGGCAATGGACGCAAGTCTGACGAGCGATGCCGCGTGCAGGATGAAGGCCCTCGGGTTGTAAACCGTGTGAGTTGGGAGGAAATGCGGGGGTTCTCCC
CTGGCTTGACCAATCTCAGAGGAAGGACGGGCTAAGTTCTGTCAGCAGCCGCGGTAACACGAACTGTCGGAACGTTATTCCGTTACTCTGGGCTTAAAGCGTGCAGTAGCGG
CTGGAAAGGTGAGATGTGAAGCCACGGCTCAACCGTGAACCTGCTTTCAAACTCAGGCTTGAGGAAGACAGGGGTGATGGAACTTATGGTGGAGCGGTGAAATGCGT
TGATATCATAGGGAACACCGGTGGCGAAAGCGCATCTGGGCTTTTCTGACGCTGAGGACGAAAGCTAGGGTAGCGAACG
>Otu68
TGGGGAATTTGGCAATGGGGCAACCTGATCCAGCCATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTAGTTGGGAAGAAGCAGGGTTCTCTAATACAG
GGCTCTAATGACGGTACCGACAGAAGAACCCGCTAATACGTCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTAATCGGAATTTAGGGCGTAAAGCGTGCAG
GCGGTTGTGAAGACAGGTGTGAATCCCGGGCTTAACTGGGAAGTGCCTGTTGACTGCACGCTAGAGTACGGCAGAGGGGGTGAATCCACGTGTAGCAGTGAAT
GCGTAGAGATGTGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCGACCCCTGGGCCGATACTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu69
TGGGGAATATTGCGCAATGGTGAAGACTGACGACGACGCCGCGTGTGGGAGGAAGCCCTAGGGGTGTAAACCGTGTGAGAGGGAAGAAGCAGCATGGATTGGAAGA
GGGTCTGTGTTGACGGTACCTCAGAGGAAGCGCCGCTAATCCGTCGACGAGCCGCGGTAAGACGAGGGCGCGAGCGTTGTCGGAATTTAGGGCGTAAAGCGCGTG
CAGGCGGCCCTTAAAGTCTTTGTGAATCCCGGGCTCAACTCCGGAATGCAAAGGATACTGGGGGCTAGAGACCGGTAGAGGCTAGTGGAACTCTGTGTAGCGGTGGA
ATGCGTAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGACTAGCTGGCCGCGTCTGACGCTCAAGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu70
TGGGGAATCTTAGACAATGGGGCAACCTGATCTAGCCATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTAGTGTGAAGATAATGACGGTAGCGACAGAA
GAAGCCCGGCTAAGTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGGCTAAGCCTTTGTCGGAATTTAGGGCGTAAAGCGCACGTAGGCGGACCTTTAAGTCCGGGGTGA
TCCCGGGCTCAACCCGGAAGTGCCTTGCATGACTGGGGTCTGGAGTTGAGAGAGGTTGAGTGAATTCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAGGAACACCGT
GGCGAAGGCGCTACTGGCTCGATACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu71
TCGAGAATCTTCGGCAATGGGGCAACCTGACCGAGCAGCCGCGTGGACGATGAAGGCCCTTCGGGTTGTAAAGCTGTGCGAGGGGAGAAAGGGGAAACCTTGTACTAA
CCCTGGAGGAAGCAGCGGCTAAGTTCTGCCAGCAGCCGCGTAAGACGAAACCGTGCAGAACTGTTTCGGAATCATTGGCTTAAAGGGCGCGTAGGCGGTCTGCCGCTCG
GGGTGAAATCTCCCGCTTAAACGGAGAAATGGCCCGGTAAGGGTCTCGAGGAGGGTAGGGGCATGCGGAACTATGGTGGAGCGGTGAAATGCGTTGATATCCATAG
GAATCCGGTGGCGAAGGCGCATGCTGGACCTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAGCGAGGGGAGCGAACG
>Otu72
TGGGGAATCTTGTCCAATGGGCGCAAGCCTGAGACAGCAGCCGCGTGGGGAAGAAGGCCCTAGGGTTGTAAACCGCTTTAGGAGGGAAGAAGCGAAAGTACGGGTACCT
CCAGAAGAAGCCCGCAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGGGCAGCGTTGTCGGAATTTAGGGCGTAAAGAGCACGTAGGCGGTCTTCAAGTCCGAA
GTGAAATCTCAAGGCTCAACCTTGAACCTGCTTCGATGACTGGGGGACTTGAGGCAGCTAGGGAGTGGGAATTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAAC
ACAGTGGCGAAGGCGGCTCTGGGCTGTTCTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGTAGCAACA
>Otu73
TGAGGAATATTGGCAATGGAGGCAACTGACCCAGCCATGCCGCGTGCAGGAAGACGGTCTCTGATTTGTAAGCTCTTTATTTGGGAAGAAGCCTCGTACGTGTACGGG
GCTGACGGTACCAATGAATAAGCACCAGGCTAACCCTGTCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTATCCGGAATCATTGGGTTAAAGGGTCCGACGGCGATT
AGTAAGTCAAGTGTGAAATCTCAGCTTAACTGAGAACTGCCATTGATGACTGACTGTTGAAATTCGGTTCGAAAGTGGCGGAATGTGATGAGCGGTGAAATGCATAGATA
TGACACGAACACCGATAGCGAAGGCGACTACTAGCCCTGAATTGACGCTCAGGACGAAAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu74
TGAGGAATATTGCTCAATGGGCGCAAGCCTGAAGCAGCAGCCGCGTGGGTGATGAAGGTTTTCGGATCGTAAAGCCCTTTCTCAGTACGAGGAAGGACGGTAACTGAGG
AATAAGTGTGCGTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAAACCTAGGACGCAAGCGTTATCCGGAATTTAGGGCGTAAAGCGCGCAGGCGGGTGTGTAAGTCACTGCGTAA
AGCTCCCGGCTAAACTGGAAGGAGGAGCAATGAACTGGCAGTCTGGAGTGAAGCAGGCAAGGCAAGTGGAAATCCCGGTGTAGGTGTAAGTGCATAGATATCGGAGGAACACC
AGAGGCGAAGGCGGCTCTGGGCTTAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCATGGGTAGCGAACG
>Otu75
TGGGGAATCTTCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGACGAAACCGCGTGGGATGAAGGCTTCGGGTTGTAAACCGCTTTAGGAGGAGCAAACTGACGGTACTGACAG
AGAAGCCCGGCAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAACACGTAGGGGGCAGCGTTGTCGGAATTTAGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTCGTAAAGTCAACTGTGAA
AGCTCCAGGCTCAACCTGAGAGGCGCAGTTGATGACTGCTGTGGCTAGAGTCCGTTAGGGGAGCGTGAATCCCGGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGATATCGGGAGGAACACC
AGTGGCGAAGGCGGCTCTGGGCGGAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCATGGGTAGCAACA
>Otu76
TGGGGAATTTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGAAGGAGTGAAGGCCCTTAGGGTTGTAAAGCTCTTTAGTTCGAAAGAAGCATTGTGACTAATACTC
ACAATTAATGACGGTACCGACAGAAGAAGCACCAGGCTAATACGTCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTAATCGGAATTTAGGGCGTAAAGGGTGCAG
GCGGCTTGAAGTCAAGTGTGAATCCCGGGCTTAACTGGGAATGGCTTTGAACTGCAAGGCTAGAGTGCAGCAGAGGGGAGTGAATTCACGCTGTAGCAGTGAATG
CGTAGAGATGTGAAGAACACCGATGGCGAAGGCGACTCCCTGGGCTGACACTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu77
TCGAGAATCATTACAATGGGGGAAACCTGATGGTGCAGCAGCCGCGTGGAGGATGAAGGCCCTTAGGGTTGTAAAGCTCTTCTGATCTGTGAGCAAGGTCGGTCCGCTAACAGC
GTGCCGATTGATAGTAGCAGAAGAGGAGACCGGCTAATCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAGAGGCTCAAGCGTGTTCGGAATCATTGGGCGTAAAGGGTGCAGTA
GGCGGCGGGCAAGTCAAGTGTGAAGCCCGGGCTCAACCTCGGAATGTCATCCGATACTGCTGCTAGAGAACTGGAGAGGAGTCTGGAATTCACGGTGTAGCAGTGA
TGCGTAGAGATCGCGAGGAAGCAATGGCGAAAGCAAGACTCTGGACAGCTTCTGACGCTGAGGACGAAAGCGAGGGGAGCGAACG
>Otu78
TGGGGAATCTTGCAATGGGGGAACTGATGACGACGACCCGCGTGAAGGATGAAGCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTACGCCAGGAGCATAATGACGGTACTGGAGA
AGCAGCTGCGGCTAATACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGAGCAAGCGTTGTCGGAATTTAGGGCGTAAAGGGTGCAGTAGGCGGTCTTAAAGTTGGTGTGAAA
TCTCCGCTCAACTGGGAGGGTGCAGCCGAACTGGAGTGTGGAGTGTGGAGAGGAAAGCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCAGGAGGAACACT
CGGTGTAGACGGCTTTCTGGACATAACTGACGCTGAGGACGAAAGCGTGGGTAGCAACA
>Otu79
TGAGGAATATTGGTCAATGGACGCAAGTCTGAACAGCCATGCCGCGTGCAGGATGACGGCCCTATGGGTTGTAAAGCTCTTTTATTCCGGAATAACCGCTCAACGTTGGGG
TCTGAATGTACCGAAAGAATAAGCACCAGGCTAACCCTGTCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAGCGTTATCCGGAATTTAGGGTTAAAGGGTGCAGTAGCGGAA
ATTAAGTCAAGTGTGAAAGCCTGTGGCTCAACCATAGAATGCCATTGATGACTGATATTCTGAGTATGATTGAAGTTGGCGGAATATGGCATGTAGCGGTGAAATGCATAGATA
TGCCATAGAACACCGATAGCGAAGGCGACTAAGTCAATAACTGACGCTGAGGACGAAAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu80
TGAGGAATATTGGTCAATGGGCGAGAGCCTGAACAGCCATGCCGCGTGAAGGAGAGCGCCCTTAGGGTTGTAAAGCTCTTTGATAGGAATAAACCCAGCAAGCTGTTCCG
TGCTGAATGACTATACGAATAAGGATCGGCTAACCCTGTCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGATCAAGCGTTATCCGATTCAATGGGTTAAAGGGTCCGTAGGCGGATT

TTTAAGTCAGTGGTGAAGTTTTTCGGCTTAAACCGGAAAAATGCCATTGATACTGGGAATCTTGAGTGTGTTTGAAGTGGATGGAATGTGCATGTAGCGGTGAAATGCATAGATA
TGACACAGAAACCGATTGCGAAGGCAGTTCACTAAGTCAACAAGTACGCTGAGGAGCAAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu81
TCGAGAATCTTTGGCAATGGGCGAAAGCCTGACCAAGCGATGCCGCGTGCGGATGAAGGCCCTCGGGTTGTAACCCGCTGTAGAGGGGATGAACTTCGGTTGACAGAGCCT
CAGAGGAAGCAGCGGCTAAGTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAACACGTACTGTGCCAAGCTTATTCGGAATCACTGGGCTTAAAGGGTGCAGAGCGGCTTGTCACTGAGGTGT
GAAATCCACCGCTCAACCGTGGAACTCGCTTGAAGCTGCAAGGCTTGAGTGAGACAGGGGTGTGTGGAACTTCTAGTGGAGCGGTGAAATGTGTTGATATTAGAAGGAACAC
CGGTGGCGAAAGCGACACTGGTCTTAACTGACGCTGAGGACGAAAGCCAGGGGAGCGAAAGC
>Otu82
TGAGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCTGATGCAGCAACCGCGTGAAGGATGAAGTCTTCGGATTGTAACCTCTTTTTCGCGGGAAGAGCAAGGACGGTACCCGAGGA
ATAAGGACAGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGTCAAGCGTTATCCGGAATTAAGGGCTGCAGGCGGTTTGAAGTTTACGCTGAAAA
TTTCTCGGCTTAACTGGGAGGGGACGTTGAAGACTGTGAGACTTGAAGTGTGAGAGGGAGGCGGAATCCCGGTGTAGTGGTGAATGCGTAGATATCGGGAAGAACACCA
TGCGGAAAGCGGCTTCTGGCATTGACCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGTAGCGAAAGC
>Otu83
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCATGCCGCGTGGACGATGAAGGCCCTCGGGTGTAAAGTCTTTTCTGAGGGAAGAACAGTCCGTGGAGGAAATG
CCCCGGTTTACGCGTACTCAGGAATAAGCAACCGCAAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAGGTTGCGAGCGTTGTTCCGGAATGACTGGGCGTAAAGGGGGCGCA
GGCGGCTGTAAAGTGTAAAGTGAAGCTCAACTCCGAGGCTTTTGGATACTGCAAGGCTTGAAGTACGAGGAGGAAAGGTTGGAATCCAGGTGTAGCGGTGAAAA
TGCGTAGATATCTGGAGGAACCAATGGCGAAAGCAACCTTCTGCCGATACTGACGCTGAGGCGGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu84
TGAGGAATCTTGCACAATGGGGGCAACCTGATGGAGCGACACCCGCGTGAAGGATGAAGTCTAACGATTGTAACCTCTTTTCTGGGGAGCATAATGAGAGTACCTCAGGAA
TAAGGGACGGCTAAATACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTATGTCTGACGCTTATCCGGAATTAAGGGTGTAAAGAGTTCGTAGGTGGCGAAATAAGTTAGGTATGAAAG
ACCGGAGCTCAACTCCGAGTTGTGCTTAAACTGGTTGCTAGAAATAGGGAGAGTGAAGCGAATTAAGTGTAGGGGTGCAATCCGTAGATACTAGAGGAACACCAAAA
GCGAAGCGAGCTTACTGGAATATATTGACGCTGAGGAAAGCGTGGGGAGCGAAAA
>Otu85
TGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGATGCCGCGTGGGGATGAAGGTTTTCGAATTGTAACCCCTTTTTTGGGAGAAGAACTGCGCGATCAGGAAATGG
GTCCGTTTACCGGATCCCAAGAATAAGCAACCGGTAACCTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAGGTTGCGAGCGTTGTTCCGATTACTGGGCGTAAAGGGAGCGCAGG
CGGACAGGTCAGTCTGAAGTGAAGCCCGGGCTCAACTCCGAAATGCTTTGGATACTGCTGACTAGAGTACGTGAGAGGAAGCGGAATCCAGGTGTAGCGGTGAAATG
CGTAGATATCTGGAGGAACCACTCCGTGGCGAAAGCGCCTTCTGCCGATACTGACGCTGAGGCTGAAAGCGTGGGGAGCGAAAGC
>Otu86
TCGAGAATCATTGCAATGCGACGAAAGTGCAGCATGCGACGCCGCGTGCAGGATGACGGCCTTCGGTTGTAACCTGCTGCTGAGGGAACAATAGCGAGATAGTTAATAGC
TATATTCCTGTGATGGTCACTCAGGAGGAAGCCAGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAGGTTGGCAAGCGTTGTTCCGATTACTGGGCGTAAAGGGTGCAGG
GGCGGCGTGTGTGCGGATGTGAAATCCACCGTTCATCGTGGAACTGCATTCGAAACTGCGGTGCTAGAGTACAGGAGAGGAGCGGAATCTTGGTGTAGCGGTGAAATG
CGTAGATATCAAGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGACTGATACTGACGCTGAGGACGAAAGCGGGGGAGCAAACA
>Otu87
TGAGGAATCTTGTCAATGGGGGCAACCTGAAGCAGCGACCCGCGTGAAGGATGAAGTCTTCGGATTGTAAGGTTCAATAAGTGGGGACGAAAAAATGACGGTACCCACC
TAAAGCAGCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTATGGTCAAGCGTTTCCGGAATCATTGGGCGTAAAGGGTATGTAGGCGGATATGTAAGTCAAGGTGAAAA
ACTTAGGGCTCAACCTAAGCTTTCGATTGAAACTGTGTATCTGGAATCTGGGAGAGGCAAGTGAATTCATAGTGTAGCGGTGAAATCGTAGATATTATGAGGAACACCAAGT
GCGAAGGCGACTTCTGGCCAAAGATTGACGCTGAGATACGAAAGCGTGGGTAGCGAAAGC
>Otu88
TGGGGAATATTACCAATGGGCGAAAGCCTGATGGTGCAGCAGCCGCGTGGGGGACGACGCTTTCGGATTGTAACCCCTGTCCAGGGGACAAAAACCTCTTCTGCTAACCA
GGGAGCTGATTTAACCCGGAGAGGAAGCAGTGGTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGACTGCAAGCGTTATTCGGATTACTGGGCGTAAAGGGTGCAGG
CGGCCAGATGTGTCAGGTTCTGTGAAAAACCCGAGGCTCAACTCCGAACTGCCCTGAAACTATCTAGCTAGAGATCGGAGAGGAGCGGAATCTTGGTGTAGCGGTGAAATG
GTAGATATCAAGAGGAACCAATGGCGAAGGCGACTCTCTGGACGATTACTGACGCTCAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCGAAAGC
>Otu89
TCGAGAATCATTGCAATGGGCGAAAGCCTGACGAAGCGACCCGCGTGAAGGATGAAGGCTTCGGTTGTAAGGTTCTTCGCTAAGGAACAAGAAAAGGTAACGAATAATT
GCCTAATTTGAGGTAATTTGTAAGAGCAGCCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCTGCGGTAATACGAGGGTGAAGCATTAACTCGGATTACTGGGTGTAAGGGCGCGTAGG
CGGGTAAGCAAGTCAAGATGTGAAATCCCGGAGCTCAACTCCGAGCTGCAATTTGAAACTACTTATCTTGGGGTGGACGAGAAAAACGGAATCCAGCTGTAGCGGTGAAATG
GTAGATATGTGGAAGAACACCGGTGGCGAAGGCGGTTTTCTAGTTTCTGACGCTGAGGCGGAGAGCAAGGGGAGCAAACA
>Otu90
TGGGGAATATTGCGCAATGGGCGAAAGCCTGATGGTGCAGCAGCCGCGTGGGGGACGACGCTTTCGGATTGTAACCCCTGTCCAGGGGACAAAAACCTCTTCTGCTAACCA
GATGGGCGTTTACCGTACTCTCAGAGGAAGCGCCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAAGACGAGGGGCGCAAGCGTTGTTCCGAAATTAAGGGTGCAGGCGC
AGGCGGTTTCTAAGTCTTGTGAAAAACCCGAGGCTCAACTCCGAACTGCCCTGAAACTATCTAGCTAGAGATCGGAGAGGAGCGGAATCTTGGTGTAGCGGTGAAATG
ATCGTAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGACTAGCTGGGCGAATCTGACGCTCATGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu91
TGGGGAATCATTACCAATGGGGGAAACCTGATGGTGCAGCAGCCGCGTGGGGATGAAGGCCCTCGGGTGTAAACCCCTGTACCAGGACTAAACGATGGCTCATACCCAT
GCCTGAATTAACCTGAGAGGAAGAGGTGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGACTCGAGCGTTACTCGGATTACTGGGCGTAAAGGGTCCGTAGGCGGCC
TTGTGTGCGGGTGTGAAATCCCTATGGCTTAAACATAGATGTGCGCCGAAACTACTGGCTAGAGTATTGGAGAGGTGAGTGAATCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGA
TATCTGGAGGAACCAACCGCGAAGGCGAGCTACTGGACAATTAAGTACGCTGAGGAGCAAAAGCATGGGGAGCGAAAGC
>Otu92
TGGGGAATATTGCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGCAAGCAGCCGCGTGCAGGATGACGGCTTCGGTTGTAACCCGCTTTCAGCGAGGAGAAAGCCGCAAGGTGACGGTAC
CTGCAGAGAAGACCCGGTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGAAGCGTTGTTCCGATTACTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTATGTGCGCTCGGA
TGTGAAAAATCAAGGCTCAACCTTGGACTGATCCGATACGGGCACACTAGAGTGTGTTAGGGGAGACTGAACTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAAGAA
CACAATGGCGAAGGCGAGTCTTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu93
TGGGGAATATTGACAATGGGGGCAACCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTAAGAAGGCCCTTCGGTTGTAAGCACTTTCAGCGAGGAGGAGGGGTAGTGTAAATAGC
ACTATTTCTGACGTTACTCGCAGAAAGACCCGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTAAGGGCGTAAAGCGCACGCA
GCGGTTTGTAAAGTCAAGTGTGAAATCCCGGGCTCAACTGGAAATGCTTTGAACTGGCAAGCTAGAGTACGAGAGGAGGGGTAGAATCCAGCTGTAGCGGTGAAATG
CGTAGAGATGTGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGCTGATGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu94
TGGGGAATATTGCGCAATGGGGGAAACCTGACGCAAGCAATGCCGCGTGTGTAAGAAGGCCCTTCGGTTGTAAGCTCTGTCAATGGGAAGAACGGTGCAGGTCGAATAG
GCCTGTAATTTACGCTACCAATAAGGAAGCAGCCGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAGGGTGAAGCGTTGTTCCGATTACTGGGCGTAAAGCGCGCA
GGCGGATTTGTAAGCAGATGTGAAATCTCGGGGCTCAACCCGAAACTCGCTGTGAACTGCGGATCTAGAATCTCGGAGGGGAGGAAAGGAAATTCGATGTAGGGGTAAAA
TCCGTAGAGATGCGAAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGCCTCTGAGCAGATATTGACGCTGAGGCGGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu95
TGGGGAATATTGGCAATGGGCGAAGCCTGACCCAGCCATGCCGCGTGTGTAAGAAGGCCCTTCGGTTGTAAGCACTTTCAGCGAGGAGGAGGGGTAGTGTAAATAGC
AATTCCGGTACCTGTTGAATAAGCAGCCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAGGGTGCAGCGTTGTTCCGATTACTGGGTTAAAGGGTGCAGGCGGCT
TTTTAAGTCAAGGTTGAAAGTTTTCGGCTCAACCGGAAAAATGCCGTTGATACTGGGAGCTTGTAGTACGGAAGGGTACATGGAATTTGGTGTAGCGGTGAAATGCATAGA
TACCATCAGGAACACCGATAGCGAAGGCATTGACTTCCGCTGAACTGACGCTGAGGACGAAAGCGTGGGTAGCGAAACA
>Otu96
TGGGGAATATTGACAATGGGCGAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTAAGAAGGCCCTTAGGGTTGTAAGCTCTTTCGCGGGGAAAGATTGACGGTACCCGCA
AGAAGCCCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAGGGGCTAGCGTTGTTCCGAAATTAAGGGTGCAGGCGGTTGCGGTGAGTGTGAAATGCATAGA

ATCCCAGGGCTCAACCTGGAATTGCATTGATACTGCCGCTGGAGGACGGAAGAGGAGTGAATTCCAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGGGAAGAACCCAG
TGCGAAGGGCGCTCTGGTCCGTTACTGACGCTCATGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAA
>Otu97
TGGGGAATCTTGGCAATGGGCGAAACCCTGACGCGAGCAACCGCGTGGCGGACGAAGGCTCTCGGGTGTAAACCGCTTTCAGGAGGGAAGAAAATGACGGTACCTCCAGA
AGAAGCCCCGGCAACTCTGTCAGCAGCCGCGGTAACAGCTAGGGGGGCGAGCGTTGTCGGGATTTATTGGCGTAAAGAGCTCGTAGGGCGCTTGGTAAGTCGGGTGTGAA
ACCTCCAGGCTCAACTGGAGACGCCACTGATACTGGCTAGAGTCCGTTAGGGGAGCGTGGAAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATTCGCGAGATATCAGGAGGAACACCA
GTGGCGAAGGCGGCTCTGGGCCGAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCATGGGGAGCGAACA
>Otu98
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCATGCCGCTGAGTGTGAAGGCCCTAGGGTTGTAAGCTCTTTTGTGCGGGAAGATAATGACGGTACCCGCAAGAA
TAAGCCCCGGTAACTCTGTCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGGGCTAGCGTTGTCGGAATTAAGTGGCGTAAAGGGTGTAGGCGGGCTTTAAGTCAGGGGTGAAA
TCCTGGAGCTCAACTCCAGAACTGCTTGTACTGAGGATCTTGTAGTTCGGGAGAGGTGAGTGGAACTGCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCCGAAGAACCCAGT
GGCGAAGGCGGCTACTGCCCCGATACTGACGCTGAGGACGAAAGCGTGGGGAGCAAA
>Otu99
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCATGCCGCTGAGTGTGAAGGCCCTAGGGTTGTAAGCTCTTTCACCGTGAAGATAATGACGGTAAACCGGAGAA
GAAGCCCCGGTAACTCTGTCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGGGCTAGCGTTGTCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGCACGTAGGCGGATTTAAGTCAGGGGTGAAA
TCCGAGGCTCAACTCCGAACTGCTTTGATACTGTAATCTAGAGCTAGAGGAGGTAAGTGGAACTCTAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTAGGAAGAACCCAGT
GGCGAAGGCGGCTACTGCTCGAACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAA
>Otu100
TGGGGAAGCTTGGCAATGGGCGAAAGCCTGACCGAGCGACCCGCTGAGGGACGAAGCCTTGGGGCGTAAACCTCTTCCGCTGGGAAGAGGCGCGATGGCGAATCC
GGGTTTACGGTACCGACAGAAAGCAGCCGCTAACTCCGTCAGCAGCCGCGTAATACGGGGGTGCAAGCGTTATTTCGATTATTGGCGTAAAGGGCGCTAGGGC
GCCGGCAAGTCTGATGTGAAAACGCTACCGCTCAACGGAGCGATTGCTTGGTACTGCTGGCTTGTAGTGCAGGAGAGGTGAGCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGAATGC
GTAGATATCAGGAGGAATACAGTGGCGAAGGCGGCTACTGGCTTACTGACGCTGAGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAA
>Otu101
TGGGGAATCTTGGCAATGGGCGAAAGCCTGACGCGACCCGCTGCGGGAAGAGGCCCTCGGGTGTAAACCGCTTTCAGGAGGGAAGAGCGAAAGTACGGTACCT
CCAGAAAGGTCGGCTAACTCTGTCAGCAGCCGCGTAATACGTAAGGACCGAGCGTGTCCGATTCTTGGCGTAAAGCGCATGTAGCGGCCATGTAAGTCGGTTG
TGAAATCCCAGGCTCAACTCGAACTGACGCCGATACTGATGGCTTGAAGAGGTAGAGGAGAGTGGAAATCCCGGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGATATCGGGAGGAA
ACCTATGGCGAAGGCGCTCTGGCCCTCTGACGCTGAGTGCAGAAAGCGTGGGTAGCGAACA
>Otu102
TGAGGAATATTGGCAATGGGCGAAAGCCTGACGCGACCCGCTGCGGGAAGAGGTTCTTGAATCGTAAACCGCTTTTGTGGGGAAGAAAGGCGGGTTTCGACCCG
GTATGACGGTACCCGTTGAATAAGCAGCCGCTAACTCCGTCAGCAGCCGCGTAATACGTAAGGACCGAGCGTGTCCGATTCTTGGCGTAAAGCGCATGTAGCGGCCATGTAAGTCGGTTG
TGAAATCCCAGGCTCAACTCGAACTGACGCCGATACTGATGGCTTGAAGAGGTAGAGGAGAGTGGAAATCCCGGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGATATCGGGAGGAA
ACCTATGGCGAAGGCGCTCTGGCCCTCTGACGCTGAGTGCAGAAAGCGTGGGTAGCGAACA
>Otu103
TGAGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCAATGCCGCTGAGTGTGAAGGCCCTAGGGTTGTAAGCTCTTTCAGCAGGAAAGATAATGACGGTACCTCCAGAA
GAAGCAGCGCTAACTCCGTCAGCAGCCGCGTAATACGTAAGGAGGCTAGCGTTGTCGGAATTAAGTGGCGTAAAGAGCGCGTAGGCGGCTTAGTAAGTTGGAGTGAAA
GCCAGAGCTTAACTCTGAAATGCTTCAAAGTCTGAGCTAGAGATAGTAGAGGGTGGCGGAAATTCCTAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTAGGAGGAACCCGGT
GGCGAAGCGGCTCACTGGACTAACACTGACGCTGTGGCGCAAGCGTGGGGAGCAAA
>Otu104
TGAGGAATATTGCACAATGGGCGAAACCCTGATCCAGCAACCCGCTGAGGAAAGAGCGTCTCGGATTGTAACCTCTTTTGTGCGGGAAGAGGAAAGGACGGTACCCGAGG
AATAAGTACGGCTAACTCTGTCAGCAGCCGCGTAATACGTAAGGAGGCTAGCGTTGTCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGCACCGAGGCGGCTTTAAGTCTGACGTGAA
AGCTCCCGCTTAACTGGGAGAGGCTGTTGAAACTGAAGGGCTGAGGGAGTGAGAGGGTGCAGAAATCCCGGTGTAGTGGTGAATGCGTAGATATCGGGAGGAATACC
AGTGGCGAAGGCGCACCTGGCACTTCTGACGCTCATGTGCGAAGCGTGGGTAGCGAAGC
>Otu105
TGGGGAATCTTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCATGCCGCTGTGTGAAGAGGCCCTAGGGTTGTAAGCTCTTTCAGTGGGAGGAAAGGCTCTGGGCTAATACCCT
GGGAACTTACGTTACTACAGAAAGCAGCCGCTAATTTCTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGTCGCGGTTAATCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGCGCTAGG
CGGTGAGTTAAGTCGATGTGAAAGCCAGGCTCAACTTGAAGTGCATCCGATACTGCTTGTAGAGTGTGGTAGAGGAGGTTGGAATTTCCGGTGTAGCGGTGAAATGC
GTAGATCGGAAGGAACACAGTGGCGAAGGCGGCTCTGGACTAACACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAA
>Otu106
TGGGGAATATTGGCAATGGGCGAAGCTGACCCAGCATGCCGCTGAGGAAAGAGGCCCTTGGGTTGTAACCTGCTTTATCAGGGAAGAAAATGCCCTTGCAGGGGA
GCTTCCGCTACCTGATGAATAAGCAGCCGCTAACTCTGTCAGCAGCCGCGTAATACGTAAGGAGGTCGAGCGTTAATCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGCGCTAGG
TGATAAGTCAAGTGGTGAATGCTACAGCTCAACTGTGAACTGCAATTGATGACTGTTAGGCTTGAAGTACAGATAGAGTGGCGAATTTATGGTGTAGCGGTGAAATGCATAGAT
ACCATAAGGAACACCGATAGCTAGGCGCTTACTGGCTGTAACCTGACGCTGATGCAGAAAGCGTGGGTAGCGAACA
>Otu107
TGAGGAATATTGGTCAATGGGCGAAAGCCTGAAACAGCATCCCGCTGACGATGACGCCCTATGGGTTGTAACCTGCTTTAGACTGAGAAGAAACCCCTGCTCGGGCGG
GGCTGACGGTACAGTAGAATAAGCAGCCGCTAACTCCGTCAGCAGCCGCGTAATACGTAAGGAGGTCGAGCGTTAATCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGCGCTAGG
TTGGTAAAGTCAAGGTAAGCTCGCAGCTTAACTGCGGAACTGCCTTTGATACTGCGGGCTTGAACAGGACGAGGTGGCGGAAATGTGGCATGTAGCGGTGAAATGCATAG
ATATGCCATAGAACCCGATTGCGAAGGCGAGCTGGCTAGACCTGCTTTGACGCTGAGGACGAAAGCGTGGGGAGCGAACA
>Otu108
TGGGGAATCTTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCATGCCGCTGAGTGTGAAGGCCCTAGGGTTGTAACCTCTTTCACCGGGAAGATAATGACTGTACCTGGAGAA
GAAGCCCCGGTAACTCCGTCAGCAGCCGCGGTAATACGTAAGGGGGCTAGCGTTGTCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCGGACCGCATGAGAGGTGAAA
GCCGAGCTCAACTCGGAACCTGCTTTGATACTGTTGGTCTGGAGTACGGTAGAGGTGTGGAAATCCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCCGAGGAACACCGA
GGCGAAGGCGACACTGACCGTTACTGACGCTGAGGCGCAAGCGTGGGGAGCAAA
>Otu109
TGGGGAATCATAGACAATGGGCGCAACCCTGATCTTGCATGCCGCTGAGCAGTGAAGGCCCTAGGGTTGTAAGTCTTTCACCGTGAAGATAATGACGGTAGCCGGAGAA
GAAGCCCCGGTAACTCCGTCAGCAGCCGCGGTAATACGTAAGGGGGCTAGCGTTGTCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGCGCATAGGCGGACTGTTAAGTCGGGGGTGAAA
TCCGGGGCTCAACCCGAACTGCTTGTACTGAGCTAGAGGACGCTAGGCTAGTGGAAATGGCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCCGAGGAACACCCAGT
GGCGAAGGCGACTGCTGGACCGTACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAA
>Otu110
TGAGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCATGCCGCTGAAAGCATGAAGGCCCTCGGGTTGTAAGTTCTTTCAGCCGCAAGATAATGACTGTAGTCGAGAA
TAAGCCCCGGTAACTCCGTCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGGGCGAGCGTTATTTCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGTGCAGGCTGTTTGTAAAGTCAAGGTGAAAG
CCCAGGCTCAACTTGGAAATGCTTTGAACTACAAGCTTGAATTCGGGAGAGGATAGCGGAATGTGCAAGTGTAGCAGTGAATTCGTAGATATTCCGAGGAACACCCAGT
GCGCAAGCGGCTATTCGACCGACATTGACGCTGAGGACGAAAGCGTGGGGAGCAAA
>Otu111
TGGGGAATTTGGACAATGGGCGCAACCCTGATCCAGCATGCCGCTGTCGATGAAGGCCCTCGGGTTGTAAGCACTTTTGGCAGGAAAGAAATCGCACGGGTTAATACC
TGTGGATGACGGTACCTGCAGAAATAAGCAGCCGCTAACTCTGTCAGCAGCCGCGTAATACGTAAGGAGGTCGAGCGTTAATCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGTGCAG
GCGGTTGCGAAGAAAGATGTGAAATCCAGGGCTTAACTTGAAGTGCATTTTAACTCCGAGCTAGAGTGCAGAGGGGGTGAATTCGCGTGTAGCAGTGAATG
CGTAGATATGCGGAGGAACCCGATGGCGAAGGCGACCCCTGGGATGACACTGACGCTATGCAGCAAGCGTGGGGAGCAAA
>Otu112
TCGAGAATCTTGGCAATGGGCGAAAGCCTGACCGAGCAGCCGCTGCGGATGAAGGCCCTCGGGTTGTAACCGCTGTCAGTTGGGAGGAAATATCAGGGGTACTCCC
CTGGTTGACCGATCTCAGAGGAAGGACGGGCTAAGTTCGTCAGCAGCAGCCGCGTAAGACGAACCGTCCAAACGTTATTTCGGTACTGAGGCTTAAAGCGTACGTAGCGG

GCCTAGTAGGTGAGGTGTGAAATCCCTCGGCTCAACCGAGGAACTGCGCTTCAAACCACTAGGCTTGAGGGAGACAGGGGTGATGGGAAGCTTTGGTGGAGCGGTGAAATGCG
TTGATATCAACAGGAACACCCGGTGGCGAAAGCGCATTACTGGGTCTCTTCTGACGCTGAGGTACGAAAGCTAGGGGAGCGAAACG
>Otu113
TCGAGAATCTTCGGCAATGGGGCAAAACCTGACCGAGCGACGCCGCTGCGGGATGAAGGCCCTCGGGTTGTAACCCGCTGTCAGTTGGGAGGAAATGCTAGGGGGTTATCCCT
TTAGCTTGACCGATCTTCAGAGGAAGGACCGGCTAAGTTCTGTCAGCAGCCGCGGTAAGACGAAACCGTCAAAACGTTATTCCGGTACTCTGGGCTAAAGCGTGCAGTGGCG
CTGGTAGGTGAGATGTGAAAGCCACCGCTCAACCGTGGAAATTGCGTTTCAAACCCACGAGCTTGAGGATGGCAGGGGTGATGGGAACTGATGGTGGAGCGGTGAAATGCGT
TGATATCATCAGGAACACCCGGTGGCGAAGGCGCATCTAGGGCCATTTCTGACGCTGAGGCACGAAAGCTAGGGTAGCGAAACG
>Otu114
TGGGAATCTTCGCAATGGGGCAACCCCTGACGGAGCGATGCCGCTGAGTGAGGAAGTTTTCGGATTGTAACCTCTTTGTGAGGGAAGAGGTTCTTTAAGTCGAATAG
GCTTTGAGGTGACGCTACCTCAGGGAAGCCCGGCTAAGTCTGTCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGGCAAGCGTTGTCGGAAATTTGGGCGTAAAGGGCGCGC
AGGCGGTTTGTAAAGTCTGATGTAAAGCCACGCTCAACCGTGGAGGGTCAATTGAAACTGCGAGACTTGAAGTGCAGGAGAGGAGCGGAATTCACGCTGATAGCGGTGAA
ATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACAGTGGCGAAGGCGCTCTGTCGCTGTAAGTACGCTGAGGCGCAAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu115
TGAGGAATCGTGCAGCAATGGACGCAAGTCTGACGCCGCGACGCCGCTGGAGGATGAATGTTCTCGGATTGTAACCTCTTTATGTGGGAACAAGTTCTGAGTGTACCATGA
ATAAGCCTTCTAACTAGCTGCAGGAAGAAATCGGTGATGCGTAGGGTCAAGCGTTATCCGGAATTTACTGGGCGTAAAGAGATGCGTAGGCGTTTTCTAAGTTACTTGTCAA
TCCTGCAGTAACTGAGACTGCAAGTGAATCTGGGAAATTGAGGATACGTAGGAAAGGGAACACCTGGTGGAGCGGTGAAATGCGTTGATATCAGGTGGAACACCAA
TGCGAAGGCACCTTTCTGGGTATTCTGACGCTAAGGCTCGAAAGCTAGGGTAGCAAAA
>Otu116
TGAGGAATTTTCCCAATGGGGCAAGCCTGATGGAGCAACGCCGCTGGGGATGACGCTTTTCGGAGTGAACCCCTTTTCGAGAGGACGAAGCAATGACGGTACTCTCG
GAATAAGGACCGGCTAAGTCTGTCAGCAGCCGCGGTAAGACGTAGGGTCCGAGCGTTGTCGGAGTTACTGGGCGTAAAGCGCGCAGGCGGTTTCTGACTCGGGTGTG
AAAGCCCGCTCAACGGGGAGGGTATTGAAACGGCGGAAGTGGAGGCGAGGAGGTTGCGTGAATCCCGGTGATGTTGAAATGCGTAGATATCGGGAGGAACA
CCAAGTGGCGAAGGCGGCCACTGGACCTGACTGACGCTGAGGCGCAAGCGTGGGGAGCGAAAC
>Otu117
TGGGAATCTTGACAATGGGGCAACCCCTGATCCAGCCATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCCCTAGGGTTGTAAGCTCTTTCCGCGGGGAAGATAATGACGGTACCCGGTAAA
GAAACCCCGCTAAGTCTGTCAGCAGCCGCGGTAATACGAGAGGGCAAGCGTTGTCGGAAATTTACTGGGCGTAAAGCGCGCTAGGCGGATCAGAAAGTTGGGGTGA
TCCCGGGCTCAACCCGGAAGTGCCTTCAAACCTCTGGTCTGAGTTCGAGAGAGGTTGAAATCCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAGGAACACCACT
GGCGAAGGCGGCTACTGGCTCGATACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu118
TGGGAATTTGGACAATGGGGCAACCCCTGATCCAGCAATGCCGCTGAAAGAAAGCCCTAGGGTTGTAAGCTCTTTGTTCCAGAAAGATAATGACGGTGTGAAACGAA
TAAGCCCTGGCTAAGTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGAGGGCAAGCGTTGTCGGAATGACTGGGCGTAAAGCGCGCTAGGCGGATCAGAAAGTTGGGGTGA
TCCCGGGCTCAACCCGGAAGTGCCTTCAAACCTCTGGTCTGAGTTCGAGAGAGGTTGAAATCCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAGGAACACCACT
GGCGAAGGCGGCTACTGGCTCGATACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu119
TGGGAATTTGGACAATGGGGCAACCCCTGATCCAGCCATGCCGCTGTGTGAAGAAGGCCCTTTCGGTTGTAAGCACTTTTCAGTGTGAGGAAGCATGATGGCTAATACCC
ATCATGATTGACGTTAGCCACAGAAGAACCGGCTAAGTCCGTCAGCAGCCGCGGTAATACGAGGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTTACTGGGCGTAAAGCGCGCTAGG
CGTTTTGTAAGCGAGTTGTAAAGCCCTGGGTTAAGTCCGGAACCGCAATTCGAACTGGCAGGCTAGAGTGCAGTAGAGGCGAGTGGAAATTCGGGTGATCGGGTGA
CGTAGATATCGGAAGAACACCACTGGCGAAGGCGACTGCTGGACTGACACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu120
TGGGAATTTGGACAATGGGGCAAAAGCCTGATCCAGCAATGCCGCTGTGTGAAGAAGGCCCTTTCGGTTGTAAGCACTTTTCAGTAGAGAAGAAAAGCCTGGGACTAATCTC
CCGGTCTTGTGACTAAGTACAGAAAGAACCGGCTAAGTCCGTCAGCAGCCGCGGTAATACGAGGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTTACTGGGCGTAAAGCGCGCTAG
GCGTCCGGTAAAGTCCGATGTGAAAGCCCGGGCTTAACTGGGAACTTTCGAAATTCGATACTGACTGAGATGAGGAGAGGGAAGTGGAAATTCGGGTGATCGGGTGA
GGTAGATATCGGAAGAACACCACTGGCGAAGGCGACTGCTGGACTGACACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu121
CTAAGAATCTTCGCAATGGGGCAAAAGCCTGACGGAGCGACGCCGCTGGGTGATGAAGCCCTAACGGTTGTAAGCCCTTTCTGTGTGAGGAATAATGCTGGGAGGCAATGC
CTGGCAGATGACGGTAGCACAGGAATAAGCCCGGCAATACGTCAGCAGCCGCGGTAACACGTATGGGCGAGCGTTGTCGGAATTTGGGCGTAAAGGGCGCGCAG
GCGGCCAGTAAAGCCTGGTGTGTAAGACCGCAGCTCAACTGCGGGAACCGCTGGGAATCTGTGGCTGAGTTGAGGAGGGGAAGTTGGAATTCCTGGTGTAGGGGTGAAAT
CTGTAGATATCAGGAAGAACACCGGCGGCAAGGCGAACTTCTGGCCTGAACTGACGCTGAGGCGCAAAAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu122
TGGGAATTTGGACAATGGGGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCCCTTTCGGTTGTAAGCTCTTTACCCGTAAGATAATGACGGTAGCGGGAGA
AGAAGCCCGGCTAAGTCCGTCAGCAGCCGCGGTAATACGAGGGGGCAAGCGTTGTCGGAATTTACTGGGCGTAAAGGGCGCGTAGGCGGTTCTGTCGATGATGTGA
AGCCCGGGCTCAACTGGGAGGTGCAATTTGATACGGCAGGCTTGAAGATAGGAGAGGGTGTGGAAATCCAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTTGGGAAGAACCA
GTGGCGAAGGCGGCCACCTGGCTATACCTGACGCTGAGGCGCAAAAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu123
TGGGAATTTGGACAATGGGGCAACCCCTGATCCAGCAATGCCGCTGATGAAGAAGGCCCTTTCGGTTGTAAGCTCTTTTATGATGACGATAATGACGGTAAATCAATGAAT
AAGCACCGGCTAAGTCTGTCAGCAGCCGCGGTAATACGAGGGGTGCTAGCGTTGTCGGAATGACTGGGCGTAAAGGGTGCAGTGGCGCCAGAACGCTGATGTGAAAT
CCCTGGCTTAACTAGGAATGCAATGGATACGGTCTGGCTAGAGTCCGCGAGAGGAAGATGGAATTTGCGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATGCACAAGAACCCGGT
GCGAAGGCGATCTTTCGAGCGGCTACTGACGCTAAGGCACGAAAGTGTGGGGAGCAACA
>Otu124
TGGGAATTTGGCAATGGGGAGAGCCTGACCCAGCCATGCCGCTGACGGAAGACCGCCCTTTCGGTTGTAAGCTCTTTCTACGAGAAGAACATACCCATGCGTGGGAG
ACTGACGGTATCTAGGAATAAGCACCGGCTAAGTCCGTCAGCAGCCGCGGTAATACGAGGGGTGCAAGCGTTGTCGGATTTATTTGGTTTAAAGGGTGCAGTGGCGCCG
ATTAAGTCAAGTGGTAAAGTCTGTAGCTCAACTATAGAAATGCCATTGATCTGAGTGGCTTGAATTCGATTGAGTGGCGGAAATTTGTTGTGATGCGGTGAAATGCATAGATA
CCACAAGGAACCCGATAGCGTAGGCGACTTAAAGTGCACATTGACGCTGAGGCGCAAAAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu125
TGGGAATCTTGCGAATGGGGCAAAAGCCTGACGCGCAACCGCGTGGGGATGAAGGCTCTCGGGTTGTAACCCCTTTTCAGCAGGGACGAAATGACGGTACTGCGAGA
AGAAGCCCGGCAACTAGTGCAGCAGCCGCGGTAACACGTAGGGGGCAAGCGTTGTCGGGATTTATGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTCAGTAAAGTGGGTGTGAA
ATTCAGGGCTCAACCTGGAACGCCACCCGATACTGCTGTGGCTAGAGTCCGTTAGGGAGCGTGGAAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATTAGGAGAACCA
GCGCGAAGGCGGCTCTGGCCGCTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCATGGGGAGCGAAAC
>Otu126
TGAGGAATCTTCGCAATGGAGCAAGTCTGACGGAGCGACGCCGCTGGGTGAAGAAGGCGGAAACCTTTGTAAGCCCTTTATAGATGAGGAATAAGTATCGGAGGGAATG
CCGTATGATGACGTTAGTCTATGAATAAGCCCGGCTAATTACGTCAGCAGCCGCGGTAACACGTATGGGCGAGCGTTGTCGGAATTTAGGGCGTAAAGGGCACGCG
GCGGATTTGTAAGTCTGGTGTGTAAGACCGCAGCTAAGTCCGGAACCGACTGAACTATTAATCTAGAGTTCAAGAGGGGAAGCTGGAATTCAGGTTAGGGGTGAAATC
TATAGATATCTGGAAGAACATCACTGGCGAAGGCGAGCTTCTGGCTATGAACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu127
TGGGAATCTTGCGAATGGGGCAAAAGCCTGACGCGCAACCCCGCTGGGTGATTGAAGGCCCTCGGGTTGTAAGCCCTTTCAGCAGGGACGAAATGACGGTACTGCGA
AAGAAAGCACCGGCTAAGTCCGTCAGCAGCCGCGGTAATACGAGGGGTGCAAGCGTTGTCGGAATTTACTGGGCGTAAAGGGTCCGACGGCGGGCTGACGGTCTGATGTG
AAAGCCCGGGCTCAACCCGGAAGTGCATTGGAACCGCATGCCCTGAGTACGAGAGGGGAAGTGGAAATTCCTGGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATCAGGAGGAACAC
CAGTGGCGAAGGCGACTTCTGGCTCGATACTGACGCTGAGGCGAAAGCGTGGGTAGCAACA
>Otu128
TCGAGAATCTTCGCAATGGGGCAAGCCTGACCGAGCAATGCCGCTGCGGGAGGAAGGCCCTTTCGGTTGTAACCCGCTGTCAGGGGTATGAATAACCGTAAAGGATGACG
TCAACCCAAAGGAGCTCCGCTAAGTCTGTCAGCAGCCGCGGTAATACGAGTGGAGCAACCGTTGTCGGATTTACTGGGCGTAAAGGGCGTGTAGGCGCCTGCTAAGT

CGTGGTTGAAAGCCCTCGGCTCAACCGGGGAATTGGTACGATACTGGCGGGCTTGAAGTCCGGAGGGGGGTGTGGAACGTCGGGTGAGCGGTGAAATGCGTAGATATCCC
ACGGAACACCCGGTGCGGAAGGCGACACCCCTGGTGCATTCTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu129
TGGGGAAATTTTGGCAATGGGCGAAAGCCTGACGCAGCAACGCCGCTGAAGGATGAAATCCCTCGGATGTAACTTCGTAATATGGGAAGAACAATGACGGTACCATAT
GTAAGCCCCGGTAACTCCGTGCCAGCAGCCGGTAATACGGGGGGGCAAGCGTTGTCGGAATTAAGTGGGCGTAAAGGGCGTGAAGCGGCTTTCAAGTCAGACGTGA
AGCCCCAGGCTCAACTGGGAATCGCTTTGATACTGTTGAGCTAGAGTGTGGAAGAGGCTACTGGAAATTCGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATACGGAGGAACACCTG
CGCGAAGGCGGGTAGCTGGGCCAACACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCTAGGGAGCAAACG
>Otu130
TGGGGAAATTTTGGACAATGGGCGCAACCTGATCCAGCCTATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTCGCAAGGGAAGAACGATACGAGCGAATACT
CGTGTAAATGACGGTACTTGATAAAGAAGCACCGGCTAACTCGTCCAGCAGCCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTAATCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGTGCAGG
CGTTCTGCAAGTCAGATGAAATCCCGGGCTCAACTGGGAATCGCTTGAAGTACAGAGCTAGAGTACGGGAGAGGGAGGTAGAATCCAGCTGTAGCAGTGAATGC
GTAGAGATGTGGAGGAATACCAATGGCGAAGGCGACCTCTGCCTGATACTGACGCTCATGCAGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu131
TGGGGAAATTTTGGACAATGGGCGCAACCTGATCCAGCAATGCCGCTGTGTGAAGAAGGCCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTCAGATGTGAGGAAAGGTAGTTGGTTAATCCC
AGTTACTGTGACGTTAATCAGAAAGACCCGGTAACTCCGTGCCAGCAGCCGGTAATACGGAGGGTCAAGCGTTAATCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGCGGTAGG
CGTTATTTAGCTCAGATGTAAGTCCCGGGCTCAACTGGGAATGCGCTTGAAGTACAGAGCTAGAGTACGGGAGAGGGAGGTAGAATTCAGCTGTAGCAGTGAATGC
GTAGAGATCTGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTACTGGGCCATTAAGTACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGTAGCAAACA
>Otu132
TGGGGAAATTTTGGACAATGGGCGCAACCTGATCCAGCAATGCCGCTGTGTGAAGAAGGCCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTCAGTAAGGAGGAAAGCTCAGGGTAATACC
TCTGAGTCTTGACGTTACTTACAGAAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGGTAATACGGAGGGTGCAGCGTTAATCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGCGCTAG
GCGGTTCTGTAAGTTAGCTGTGAAGCCCGGGCTAACCTGGGAATGCGTAACTACTGGCGACTAGAGTTGGGAGAGGAAAGTGAATCCGGGTGTAGCGGTGAAAT
GCGTAGATATCCGGAGGAACCAAGTGGCGAAGGCGACTTCTGGCCAAAAGTACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu133
TGAGGAATTTTGGTCAATGGACGCAAGTCTGAACAGCCATGCCGCTGCAGGAAGAATGCCATGGGTTGTAAACTGCTTTTATTTAGGAATAAACCCCTTACGTGTAGAGG
GCTGAAGTACTAAATGAATAAGGACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGGTAATACGGAGGGTCCAAGCGTTATCCGGAATCATTGGGTTTAAAGGGTCCGCAAGCGGGCA
AGTAAGTCAGTGTGAATCCCATCGTTAAGCATGGAAGTGCCTTGAAGTCTGATGCTGATGCTTGAATTCGTTGAAAGTGGGCGGAATGTGTCATGTAGCGGTGAAATGCATAGATA
TGACACAGAAACCCGATAGCGAAGGCGACTACTAGGCCTGAATTCAGCTCATGGACGAAGAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu134
TGAGGAATTTTGGTCAATGGACGCAAGTCTGAACAGCCATGCCGCTGCAGGAAGAAGTCCCTATGGGTTGTAAACTGCTTTTAAACCGGGTAAAGCTCAGTAAAGGAAAGCTCAGGGTAAATACC
GTTTACGCGTACCGTAAGAATAAGGATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGGTAATACGGAGGGTCAAGCGTTAATCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGCGGTAGG
ATATAAGTCAGTGGTGAATCTGTTAGCTCAACTAACAATGGCATTGATACTGTATAGCTTGAATAATTGTGAAGTGTAGATATGTAGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGATA
TTACATGGAATCAATTCGGAAGGCGAGTTACTAACAATATATTGACGCTGATGGACGAAAGCGTGGGGAGCGAAACA
>Otu135
TCGAGAATCTTCGGCAATGGGCGAAAGCCTGACCGAGCAGCCCGTGCAGGATGAAGGCCCTTCGGGTTGTAAACCGCTGCAGAGGGGCGGAAATGCATTGGGGTTATCCC
CAGTGTGACTTAACCTCAGAGGAAGCAGCGGCTAAGTTCGTGCCAGCAGCCGGTAAGACGAACCGTGCAGAACGTTAATCGGAATTAAGTGGCTTAAAGCGTGCAGTGGCG
GCTTGTAAGTTGGGTGAAATCCTTCGGTCAACCGAAGAATTGCGCTCAAAACTACTAGGCTGAGGGAGATAGGGGTGAGCGGAATTAAGTGGAGCGGTGAAATGCG
TTGATATCATTAGGAACACCGGTGGCGAAGCGGCTACTGGTCTCTTTCGACGCTGAGGACGAAAGCTAGGGTAGCGAAACG
>Otu136
TGGGGAAATTTTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCTATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCCCTTCGGATTGTAAAGCTCTTTGGCGGGGACGATAATGACGGTACCCCGAGAA
TAAGCCCCGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGGTAATACGAAGGGGCTAGCGTTCGGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGCAGTAGCGGATTGTAAGTCAGGGGTGAAAT
CCCGGGCTCAACTCGGAAGTGGAACTTGTACTGACAACTTGAAGTGGAAAGGGTGAAGTGGGAATTCCTAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTAGGAAGAACACCAGT
GCGAAGGGCGCTACTGGTCCGTTACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu137
TGGGGAAATTTTGGACAATGGGCGCAACCTGATCCAGCAATGCCGCTGCGTGAAGAAGGCCCTTAGGGTTGTAAAGCGCTTTCACCCGCGAGGATGATGACCGTAGCGGGAGA
AGAAGCCCCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGGTAATACGGAGGGGCTAGCGTTCGGGAATTAAGTGGCGTAAAGGGCGTAGGCGGCTTGTAGTACGGCGTGA
AGCCCCGGCTCAACTGGGAGGTGCGCTTGTACTGCGAGGCTGGAAGTCCGGGAGAGGTGAGCGGAATACCCAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGGGAGGAAACCCG
GTGGCAAGGGCGCTACTGGACCGGAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu138
TGGGGAAATTTTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCTATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTCTGAGGGAAGAATTCAGCGGCGAGGAATG
CGCTCTGTTGACGCTACTCAGGAATAAGGAACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGGTAATACGGAGGGTCCAAGCGTTGTTGCGGAATTAAGTGGCGTAAAGGGGCGCAG
GCGAGACGGTCAAGTGAAGTGGAACTGGAACTCAACTCGGAAGGCTTTCCTACTGCTTGTAGTTCGTGAGAGGAGAGTGGAAATTCAGGGGTAGCGGTGAAATG
GCTTAGATATCTGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTGACGCAAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCGAAACG
>Otu139
TCGAGAATCTTTACAATGGGGAACCTGATGGAGCGACCCGCTGGGGATGAATGGCTTCGGCCGTAAACCCCTGTCATCTGGGAACAAGGTCTGTATTTGAATAGGA
TGCAGATTGATAGTATCGAAGAGGAAGGACGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGGTAATACAGAGGTCCTAAGCGTTGTTGCGGATTAAGTGGCGTAAAGGGTGCAGTAGG
TGGCAAGGTAAGTTGGGGTGAATCTCCGGGCCAACCCGGAATGCTGAAACTATCTTGTGAGGATCGAGGGGAGACTGGAATTCGCGGTAGCAGTGAATGCG
GTAGATATCGAGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGAGTCTTGCAGGTAACCTGACACTGAGGCAGGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu140
TGAGGAATTTTGGTCAATGGGCGAGAGCCTGAACAGCCAGCCGCTGCAGGAAGAGCGCCCTCCGGTGTAAACTGCTTTTATACGGGAAGAATCTTTGGATGCGTCCAG
AGTTGACGGTACCGTATGAATAAGGATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGGTAATACGGAGGGTCAAGCGTTAATCGGATTAAGTGGGTTTAAAGGGTGCAGTGGCGGAT
AATTAAGTCAGGGGTGAAAGCCGGCAGCTCAACTGCGAATGCTTTGATACTGTTGAGTGTGTTGAGTATAGTTGAAGTGGGCGGAATGCGGCTATGACGGTGAATGCGTAGA
TATGCCGAGAACACCCGATAGCGAAGGCGACTACTAAGCTATTACTGACGCTGATGCAGGAAGCGTGGGTAGCAAACA
>Otu141
TGGGGAAATTTTGGCAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCTATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCCCTTAGGGTTGTAAAGCTCTTTACAGGGGAAGAAACCCCATGCGTGGGG
AGCTGCCGGTACCGTGTGAATAAGCACCCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGGTAATACGGAGGGTGCAGCGTTGTCGGATTATTTGGGTTTAAAGGGTGCAGTGGCGGCC
AGATAAGTCAGCGGTGAAGAACCCGGCTCAACCGGGCAGTGCCGTTGATACTGTTGGCTTGAAGTACGAGGGTACATGGAATTTAGTGTAGCGGTGAAATGCATAGA
TACCATAAGGAACCCCGATAGCGAAGGCATTGTACTTCCGCTGACTGACGCTGATGCAGGAAGCGTGGGTAGCGAAACA
>Otu142
TCGAGAATCATTGCAATGGGCGAAAGCCTGACGATGCGACCCGCTGGAGACGATGAAGGCCCTTAGGGTTGTAAAGTCTTTGCGAGGGAACAAGAGAGAATAACTAATAATT
ATTCGATTTGAGGGTACTGGTAAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGGTAATACGGAGGGTGCAGCATTAAATCGGATTTAAGTGGGTGAAAGAGCATGTAGG
CGGATAAGTAAGTCAGATGTAATTTCAAGCTCAACTGCAAGCTGCAATTTGAAACTACTTCTTGAAGGTAGACGGAGAAACCGAAATTCAGTGTAGCGGTGAAATGCG
TAGATATTTGGAAGAACACCGGTGGCGAAAGCGTCTTCTAGTTTATTCGACGCTGAGATGCGAGGCAAGGGGAGCAAACA
>Otu143
TGGGGAAATTTTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCTATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCCCTTAGGGTTGTAAAGCTCTTTACAGGGGAAGATAATGACGGTACCCCGAGA
AGAAGCCCCGCAACTCCGTGCCAGCAGCCGGTAATACGGAGGGGCTAGCGTTCGGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGCAGCTAGGCGGACTGTTAAGTCAGAGGTGAA
AGCCAGGGCTCAACCTGGAATGCTTTGATACTGGCAGTCTGAGTCCGGAGAGGTGAGTGAATTCAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGGAGGAACACCCAG
TGGCGAAGGGCGCTACTGGCCGCTACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu144
TGAGGAATTTTGGCAATGGAGGAACTCTGACGAGCCAGCCGCTGCAGGAAGAAGGTTCTATGAATCGTAAACTGCTTTTATTCGGGAAGAATGGATGGCTTCGAGCTG
TAGTGACGGTACCGAATGAATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGGTAATACGGAGGGTGCAGCGTTGTCGGGAATCATTGGGTTAAAGGGTGCAGTGGCGGA

TATTTAAGTCTGGGGTAAATGGTGC GGCTCAACCGTAGCACTGCCCTGGTACTGGCTATCTTGAGTATAACAGAGGCCGGTAGAATTCGTGGTGTAGCGGTGAAATGCATAGA
TATCACGAAGAATACCAAGTGGCGTAGCGCGCCGGCTGGTTATAACTGACGCTGAGGCACGAGAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu145
TGGGGAAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCAATGCCCGTGTGTGAAGAAGCCCTCGGGTTGTAAGCACTTTCAGTAGAGAAGAAAAGCCTGGCGTTAACACCG
TCGGGTCTTACGTAACCTCAGAGAAGCAGCCGGTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGGTCAACGCTTAACTCGGAATTAAGCGCACGTAGG
CGGCCTTGAAGTCAGATGTGAAGCCCGGGCTTAACCTGGGAATGGATCTGATCTGACGCTGCGGGCTAGAGTTCCGGTAGAGGAGAGTGGAAATCCCGGTGTAGCGGTGAAATGC
GTAGATATCGGGAGGAACACCAGTGGCGAAGCGACTCTCTGACCAAACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu146
TCGAGAATCTTCGGCAATGGGCGAAGCCTGACCGAGCGACCCCGTGGGGATGAAGCCCTCGGGTTGTAACCGCTGTAGTGGGGAGGAACGTATAGCAATATACTTG
ACCGATCCGAGAGGAAGTACGGGCTAAGTTCTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGACCGTACAAACGTTATTCGGAATCACTGGGCTTAAAGGGTGCAGGCGCGTGGAA
AGTTGGGTGTGAAAGCCCTCGCTCAACCGAGGAATTGCGCCAAAAGTCCATGCTTGGGGAGACAGAGGTGAGCGGAACCTAGGGTGGAGCGGTGAAATGCGTTGATATC
CTAAGGAACACCAAGTGGCGTAAGCGGCTCACTGGGTCTCTTCTGACGCTGAGGGACGAAAGCTAGGGAGCAAACG
>Otu147
TGGGGAATCATTACAATGGGCGAAAGCCTGATGGTGCACGCCGCTGGAGGATGACGGCTTGGGTTGTAACCTCTGTCAAGTGGGAACAAGAAAGTATAGTACCACTA
GAGGAAGAGACGGTAACTCTGTGCCAGCAGCCCGGTAATACAGAGGCTCAAGCGTTTTCGGATTACTGGGCGTAAAGGGTGCAGTGGCGCGCGTAAAGTCAAGTGTG
AAATTTGGGGCTCAACTCGAACTGACTGATCTGCTGATAGGAGTGTAGAGGAGTGTGGAATTCAGGCTGTAGCAGTGAATGCGTAGATATCGTGGAGAAC
AGTGGCGAAGCGCACTCTGGCAATTCCTGACGCTGAGGCACGAAAGCCAGGGAGCAAACG
>Otu148
TGGGGAATATTGGACAATGGGGCAACCTGATCCAGCCATGCCCGTGTGTGAAGAAGCCCTCGGGTTGTAAGCACTTTCAGTGGTGGAGAGGGTGTGTGTTAATAGCA
ACATACATTGACGTTAGCCACAGAAGAAGCAGCCGGTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGGTGCAGCGTTAATCGGAATTAAGCGTAAAGCGCACGTAGG
CGTTTTGTAAGCAAGATGTGAAGCCCGGCTCAACTGGGAATAGCATTGTAAGTGGCAAGCTAGAGTTTTGAGAGGGTGGTAGAATTTCTGTGTAGCGGTGAAATGC
GTAGATATAGGAAGGAACCAAGTGGCGAAGCGCCACTGGTCAAAAAGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu149
TGAGGAATCTCCACAATGGGCGAAAGCCTGATGGAGCGACACTGCGTGAAGGATGACGGCTTGGGTTGTAACCTCTAAAACGGGACGAAACAATGACGGTACCCGTTGA
GAAGCAGCCGGTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCTAATACGGAGGGTGAAGCGTTATCCGGAATCACTGGGCGTAAAGGGCGCGTAGGGCGTTCAAGTCCGATGTTAAA
GACCCGGGCTCAACCCGACAGCCGCTGGATACTGGTGAAGTGGAGGCGAGTGGAAATACCAGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGACTGTTAGGAAACACCCA
TTGCGAAGGCAGCTGCTGGACAGCACGTGACGCTGAGGCAGCAAGGTGGGGAGCAAACA
>Otu150
TGAGGAATATTGGACAATGGGAGCAACTGATCCAGCCATCCCGCTGCAGGAAGGAGCCCTTGGGTTGTAACCTGCTTTTACAGGGAAGAAATATAGTCAATTTATGATTA
GTTGACGGTACTGAGGAATAAGCAGCCGGTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTATCCGGAATTAAGGGTGCAGGCGTTAAAGCGCGTGG
GATAAGTCATAGGTGAAAGTCCAGGCTCAACTGTTGGATTGCTGTGACTGTTGGACTGAAATGGGATGAGGTTGGCGGAATGTGACATGTAGCGGTGAAATGCATAGAT
ATGTCATAGAACATCGATTGCGAAGGCAGCTGACTGGACCTGATTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGTAGCGAAACA
>Otu151
TCGAGAATCATTGCAATGGACGAAAGTCTGAACGTGCGATACCCGCTGGGGAAGAAGCGTGTGCGTTGTAACCACTGTCAGGGGCTAAGAATAAGCGCAGCAACCTGC
GTGATGACGTTAACCCAAAGGAAGTCGAGCTAACTACGTGCCAGCAGCTCGGTAATACGTAGGCGGCAACGTTACTCGGAATCACTGGGCTTAAAGAGCGGTAGGTGGC
TTGCAAGTTGGAGTTGAAATCCGCGGCTCAACCGTCAAACTGGCCCAATACTGACCGAGCTAGAGTTGCGGAGGGGATGCTGGAATCGTGGTGGAGCGGTGGAATGCCCA
GATATCACAGGAACCAATAGCGAAGGCAGGCACTTGGCCGACAACCTGACGCTGAGGCACGAAAGCTAGGGGAGCAAACA
>Otu152
TGGGGAATTTGGACAATGGGGCAACCTGATCCAGCCATGCCCGTGAAGTGAAGAAGCCCTCGGGTTGTAAGCTCTTTCAGTGGGAAGAAATCGCGCACTTGAATACGG
TGCGTGGATGACGGTACCCGCAAGAAGCAGCCGGTAACTACGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGTAGGGTGCAGGCTTAACTCGGAATTAAGCGGTAGGCGCGCAG
CGGCTCTGTTAAGACAGGTGTGAAATCCCGGGCTCAACCTGGGAACCTGCGCTGTGACTGGCAGGCTGGAGTGAAGTACCGCAGAGGGGGTGGAAATCCACGCTGAGCA
GGTGGTGGAGTGTGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAGCCCTGGCCGATACTGACGCTCATGCAGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu153
TGAGGAATATTGGTCAATGGGCGAAGCCTGAACAGCCATCCCGCTGCAGGATGAATCCCTATGGGTTGTAACCTGCTTTAGACTGGGAAGAAACCTTGTATGCGTCAAG
AGCTGACGGTACCAAGTGAATAAGCAGCCGGTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTATCCGGAATCACTGGGTTAAAGGGTGCAGTGGCGGC
TTATTAAGTCAGAGGTGAAATCCGGAGCTTAACTCGGAATGCTTTGATACTGGTGAAGCTTGAACAGGACGAGGTTGGCGGAATGTGGCATGTAGCGGTGAAATGCATAG
ATATGCCATAGAACCCGATTGCGAAGGCAGCTGGCTAGACCTGATTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu154
TGGGGAATCTTAGACAATGGGCGAAGCCTGATCTAGCCATGCCCGTGAAGCGATGAAGCCCTAGGGTTGTAAGCTCTTTCAGCGGGGAAGATAATGACTGTACTGCGAGAA
GAAGCCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGGGCTAGCGTTGTTGGAAATTAAGGGTGCAGGCTTAAAGCGCACGTAGGGCGACTGAAAGTCAAGGGTGA
TCCCGGGCTCAACCCCGAAGTGCCTTTGAAACTCCAGTCTTGAAGTGCAGAGGCTGCGCTGTGACTGGCAGGCTGGAGTGAAGTCCAGGTGAGAGTGAATTCGATGATATCCG
GGGAAGCGGCTCACTGCTGATACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu155
TGGGGAATATTGCGCAATGGGCGAAGCCTGACGCGACGACCCCGTGGGAGGAAGCCCTAGGGTTGTAATCGCTTTCGCGAGGGACGAAATTGACGGTACTGCGAGA
AGAAGCCCGGCAACTACGTGCCAGCAGCCCGGTAACAGTGAAGGGGCGAGCGTTGTCGGGATTTATGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGGCGCTCAGTAAGTCACTGTGAAA
GCTCCAGGCTCAACCTGGAGAGCCAGTGGATACTGTGTGGTAGAGTCCGGTAGGGGAGCGTGGAAATCCAGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGATATTGGGAGGAACACCA
CGCGCAAGGGCGGCTCGTGGCCGGAAGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGTAGCAAACA
>Otu156
TGGGGAATATTGGCAATGGTTCGCAAGACTGACCCAGCCATGCCCGTGCAGGAAGACGGCCCTACGGTTGTAACCTGCTTTTTCAGGGAAGAAACCTTTGTTGCGAACGA
GGTGCAGGTAAGAAATAAGGATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGATCCAAGCGTTGTCGGGATTTATGGGTTAAAGGGTGCAGGCGCGGAT
TATTAAGTCAGAGGTGAAGCGGTAGCTCAACTATCGAATAGCCTTTGAAACTGTTAGTCTTGAAGTGTGAGTGGTGGAGTGGAGGCGGAATGTATATGTAGCGGTGAAATGCATAGAT
ATGATACAGAACCCGATTGCGAAGGCAGCTTAAGCAATAACTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGATCAAACA
>Otu157
TGAGGAATATTCCACAATGGGGAAACCTGATGGAGCGACCCCGTGGGAGGAAGACGCCCTTTCGGGTTGTAACCTCTTTTTCAGTGCAGGAAGCAAGTACGGTGTAGTGCAG
GAATAAGCAGCCGCTAACTACGTGCCAGCAGCCCGGTAAGAGCTAGGGTGAAGCGTTGTCGGGATTTATGGGTTAAAGGGTGCAGGCGGATCGCGTGCAGCGT
AAAGCCCGGCTCAACCGGGAGGGTGTGCGAAACGATGTGCTTGAAGCAGAGAGGCGAGTGAATCCCGGTGATGTGTGAAATGCGTAGATATCGGGAGGAACA
CCAGAGCGAAGGGCGCTCGCTGGCTGACCTGACGCTGAGGCGTGAAGCGTGGGGAGCGAAAC
>Otu158
TGGGGAATATTGGTCAATGGACGCAAGTCTGAACAGCCATGCCCGTGAAGGATGAATGCCCTCGGGTTGTAACCTCTTTTCTGCGGGAAGAAACCCCGGATTCATTGGGG
GCTGACGGTACAGAGGAATAAGCAGCCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTATCCGGAATTAAGGGTGCAGGCGGGATGCAAGTTAGCCATGA
CTGTAAGTCAAGTGGTGAAGGCTGAAGCTCAACTCAGAATTGCCATTGATACTGACGCTTGGTGTGAGTACAGTGGTGGGCGGAATGTGTCATGTAGCGGTGAAATGCTTAGAT
ATGACCCAGAACCCGATTGCGAAGGCAGCTCGCTAACTGTAAGTACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCGAAACA
>Otu159
TGAGGAATATTGCACAATGGGCGAAGTCTGATGCGAGCAGCCCGTGGGCGATGAAGGCTTTCGGATCGTAAAGCCCTTTCTGCTGACGAGGAAGGACGGTAGCGCAGG
AAAAAGTCTCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCCGGTAAGAGCTAGGAGGCAAGCGTTATCCGGAATTAAGGGTGCAGGCGGGATGCAAGTTAGCCATGA
AAGTCCCGGCTAACTGGGAGGAGTGGTTGAAACTGCCAACCTTGAAGTGGAGCAGAGGAACACGGAATCCCGGTGATGTGTGAAATGCGTAGATATCCGAGGAACACC
AGTGGCGAAGCGGTGTTCTGGCTCAACTGACGCTGAGACGCGAAAGCGTGGGTAGCGAAAC
>Otu160
TGGGGAATTTGCGCAATGGGCGAAGCCTGACGCGAACCCCGTGGGTGACGAAGGCTTAGGGTTGTAAGCACTGTTGAGAGGGAAGAACATCCGGGGTAAACGCC
CGCCTGACGGTACTCTTAGCAAGCACTGGTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGAGTGAAGCGTTGTCGGAATTAAGGGTGCAGGCGGGTCAAGTTAGCGTTG

CACGGCAAGTCAGGTGTGAAATCCCTCGGCTAACCCGAGGAACTGCACTTGAAGCTGCCGCGCTCGAGTACCGGAGGGGGCAGCGGAATCCCGGTGTAGGGGTGAAATCCGT
AGATATCGGGAGAACACCAAGTGGCGAAGCGCGTCCCTGCGCGGATACTGACACTAAAGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu161
TGGGGAATATTGGCAATGGGGCAAGCCTGACGCGAGCAACGCCGCTGAGCGATGAAGGCCCTCGGGTCGTAAAGCTCTGTAGGAGGGAAGAACAGGTCTTATGGCCCTGA
CGTTACCTCCGAAGGAAGCACCAGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGTAACTGTTTCGGAATCATTGGGCGTAAAGCGCACGACGAGCGGCTACGCA
GTCGGGTGTGAAATCCCGGGGCTCAACCCCGGAGTTGCGCTCGAAACCCGCGTGGCTGAGGCTCGGAGGGGACCTGGAATCCCTGGTGTAGGGGTGAAATCCGTAGATATCA
GGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAACCTCTGCGCGAGTACTGACGCTGAGGTGCGAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu162
TGGGGAATATTGGCAATGGGGCAACCTGATCCAGCAATGCCGCTGCTGATGAAGGCCCTAGGGTTGTAAGCGCTTTCGCGGGGAAGATGATGACGGTACCCGACAGA
AGAAGCCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGGCTAGCGTTGTTGGAATTAAGGCGCTAAAGGCGCGTAGGCGCGATTTAAGTTAGCGGTGAA
AGCCCGGGCTAACTCGGAACTGCGCTGATACTGAGTTGCTTGAGGACGGAAGAGGGTGTGGAATCCAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGGGAAGAACACCA
TGCGGAAGGCGACTACCTGGTCCGTTTCTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu163
TGGGGAATATTGGCAATGGGGGAACCTGATCCAGCAATGCCGCTGTGTGAAGAAGGCCCTGAGGGTTGTAAGCACTTTCAGTGGGAGGAGGGTTGACAGGTTAAGAG
CCAGTTAACTGGACGTTACCCACAGAAGAACCCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGCAGCGTTAATCGGAATTAAGGCGTAAAGGGTGTGCGTA
GTGGTTTTATTAAGTTATCTGAAATTCCTGGCTCAACTGGGACGCTGAGGAGGTTGTAAGCTGGAATCTGAGTATGGAGAGGGTGTGGAATTTCCCGTGTAGCGGTGAAAT
GCGTAGAGATCGGAAGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTACCTGGCTAATACTGACACTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu164
TGAGGAATCTTCGCAATGGGGGAACCTGACCGAGCGACACTGCATGAGGGATGACGCGCTTCGGTTGTAACTCTGAACCAGGGACGAAAATGACGGTACCTGGGTAA
TAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGCAGCGTTATCCGGAATCACTGGGCGTAAAGGCGACGTAGGCGGCTCTGTTAAGTCCGATGTTAAAGC
GTGGGGCTCAACCCATCATGGCGTTGGATACTGGCAGGCTTACTTCTGGAGAGGAAAGTGAATTAACAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATACTGTTAGAACACCCATAG
CGAAGGCAGCTTTCGGACAGATAGTACGCTGAGGTGCGAAAAGTGTGGGGAGCAAACA
>Otu165
TGGGGAATATTGGCAATGGGGCAAGCCTGACGCGACCATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCCCTAGGGTTGTAAGCTCTTTTATCCGTGAAGATAATGACTGTAAACGGAAGAA
AAAGCCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGGGCAGCGTGTTCGGAATTAAGGCGTAAAGCGTACGTAGGCGGCTATGCAAGTTAAGAGTAAAA
GCCCAGGGCTCAACTTGAATGCTTTTAACTGCATGGCTAGAACTCGGAGAGGATAGCGGAATTTCCAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGGGAAGAACACCAAGT
GCGTAGGCGGCTATCTGGACGAATATTGACGCTGAGGTACGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu166
TGAGGAATATTGGCAATGGGGGAGAGCCTGACCCAGCCATGCCGCTGACGGAAGAGCCCTATGGATTGTAAGCTCTTTTATACGGAAGAAACACTCCGACGCGTCCGGA
GCTTGACGGTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGCAGCGTTATCCGGAATCACTGGGCGTAAAGGCGACGTAGGCGGCTCTGTTAAGTCCGATGTTAAAGC
CTATAAGTCAAGTGGTAAATCCGGCAGCTCAACTGTCGAAGTGCATTGATGTAAGTCTTGAATTTTGTGAAGTGTAGATAATGTAGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGATA
TTACATGGAATACCGATTGCGAAGGCGAGTTACTAACAAAACATTGACGCTGAGGGACGAAAGCGTGGGTAGCGAAACA
>Otu167
TGAGGAATATTGCACAATGGGGCAAGCCTGAAGCAGCGACCCGCTGACGATGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGTCTTTTGTGTGACGAGAACCGGACGGTAGCACAGG
AAAAAGTGTCCGCTAACTCAGTGCAGCAGCCGCGTAAACGCTAGGACGCAAGCGTTATCCGGAATTAAGGCGTAAAGCGCGTACGAGCGGGCTGATAAGTCCGCTATGA
AAGTCTCGCTAACTGGGAGAGGATAGTTGATACTGTTGGTCTTGTAGTGAAGAGGAAAGTGAATTTCCGCTGTAGTGGTGAATTCGTAGATATTGGGAAGAACACCA
AGTGGCGAAGGCGGCTTCTGTTCTTAACTGACGCTGAGACGCGAAAGCGTGGGTAGCGAACG
>Otu168
TCGAGAGGCTTCGGCAATGGGGGAACCTGACCGAGCGACGCCGCTGAGGGATTAAGCCCTTTGGGGTGTAACTCTTTTCGATGGGAAGAAATGCCCAGGATGGCAATCC
GGGAGTACGGTACCATGATAAGAAGCACCAGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGCAGCGTTATTCGGAATTAAGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCG
GTCAAGTCAAGTCTGGTGTGAAAACGCTACCCTCAACGGAGCGACTGACTGATGTAAGTGTAGTGCAGGAGAGGTGGAATTCGTTGTTAGCGGTGGAATGCG
GTAGATACAGGAAGAACACCAAGTGGCGAAGGCGACTACTGCCCGTAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu169
TCGAGAATCTTCGGCAATGGGGCAAGCCTGACCGAGCGATGCCGCTGCGGGATGAAGGCCCTTCGGTTGTAACCCGCTGTAGTGGGAGGAAAGCTTCGTGAAGAGCGAA
GTTTGACCTATCTCAGAGGAAGTCCGGCTAAGTTCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAACCCGACAAACGTTATTCGGAATTAAGGCGTAAAGGGTGTAGCGGTGTC
GGTAAAGTGAAGTGTGAAATCCCTCGGCTCAACCGAGGAACTGCGCTTCACTGCGGTGTAGAGGGAGACAGAGTAAAGCGAACTGATGGTGGAGCGGTGAAATGCGTTGA
TATCATCAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGCTTACTGGTCTCTTGTAGCCTGAGGACGAAAGCTAGGGTAGCGAACG
>Otu170
TCGAGAAGCTTCGGCAATGGGGCAAGCCTGACCGAGCGACGCCGCTGAGGGATGACGCCCTTCGGGGTGTAACTCTTTTCGACCGGGAAGAAAGTCCCGATGGTGAATCG
GGATTTGACGGTACCGGGAGAAGAACACCAGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGCAGCGTTATTCGGAATTAAGGCGTAAAGGGCGCGTAGGCG
GTCTGGTAAGTCTGGTGTGAAAACGCTACCCTCAACGGAGCGATTGACTGTAGTACTGTAAGTGTAGTGCAGGAGAGGTGGAATTCGTTGTTAGCGGTGGAATGCG
GTAGATATCACAGAATACCGTGGCGAAGGCGGCTACTGGCCGCAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu171
TGGGGAATCATTCAATGGGGGAACCTGATGGTGAACGCCGCTGAGGGATGACGCGCTTCGGTTGTAACCCCTGTCAACCAAGGACTAAACCTATGTTTCATAGCCAT
AGCTGAATTAAGTGGAGAGGAAGAGGTGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGACTCGAGCGTTACTCGGATTAAGGCGTAAAGGGTCCCGAGGTGGC
CTGTGTGTCGGGTGTGAAATCCCGAGCTTAACTCCGGAACCTGCGCCGAAACTACAAGGCTAGAGTCTCGGAGAGGTAAGTGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAG
ATATTAGGAGGAACCAACCGCGAAGGCGACTTACTGGACGAGAAGTGCATGACGAAAGTGTGGGGAGCAAACA
>Otu172
TGAGGAATCTTCAATGGGGGAACCTGATAGAGCAGCCGCTGGGTGAAGAAGGCCGGAAGTGTGTAAGCCCTTCTATCTGAGGAATAATACCCGAGGCAATGC
CGGTGAGATGACGGTAGGGTAGGAATAAGCCCGGCAATTAAGTGCAGCAGCCGCGTAACAGCTATGGGCGGAGCGTTGTTGGAATCATTGGGCGTAAAGGGCGCGCAG
GCGTTATGCAAGCTTGGTGTGAAAACGCTACCCTCAACGGAGCGATTGACTGTAGTACTGTAAGTGTAGTGCAGGAGAGGTGGAATTCGTTGTTAGCGGTGGAATGCG
GTAGATATCAGGAAGAACATCAGTGGCGAAGGCGAGCTTCTGGCTATGAATGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu173
TGGGGAATTTGGCAATGGGGCAACCTGATCCAGCCATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCCCTTCGGTTGTAAGCTCTTTCAGTTGGGAAGAAACGCGCGCTAACATAG
TGCGCTGTCAGGGTACCGAACAAGAACCGGCTAACTACGTCGACGAGCCGCGTAATACGTAAGGCGGAGCGTTAATCGGAATTAAGGCGTAAAGCGTGGCGAG
GCGTTTTGTAAGACAGATGTGAAATCCCGGGCTTAACTGGAACTGCGTTTGTACTGCAAGGCTAGAGTACGGCAGAGGGGGTGAATTCACGTGTAGCAGTGAATG
CGTAGAGATGTGGAGAACACCGATGGCGAAGGCGACCCCTGGGCGGATACTGACGCTATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu174
TGGGGAATCATTGACAATGGGGCAAGCCTGATCGTGCAGCAGCCGCTGGGGATGAAGGCTTCGGATTGTAACCCCTGTACCAGGGGACAAACCGGCTGAAGTTAACAGCT
TTGGTCTGATTTAACCCGAGAGGGAAGCAGTGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACAGAGACTGCGAGCGTTATTGGAATCACTGGGCGTAAAGGGTGGCAGGC
GGCCAGGTGTGTCAGGTGTGAAATCCCGGGCTCAACCCCGAACCAGCGCTGAACTACCTGGCTCGAGTCCGGAGAGGGAAGCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCG
GTGGATATCGAAGGAACACCAAGGCGAAGGCGACTTCTGGACGATTACTGACGCTGACGACGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu175
TGAGGAATTTCCGCAATGCGCGAAGCGTACGCGAGCAATGCCGCTGACGAGTGAAGCCCTCGGGGTGTAACTGCTGTAGGGTTAGAAAACAATGATCAGACCCAAA
GGAAGGGCCGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACAGAGGGCCAAAGCGTTAATCGGAATCACTGGGCTAAAGGGTGGCAGGCGGATCAGCAAGTACTTTGTGAA
ATCCACCGCTCAACGGTGAAGTGTGCTGTAAGTGTGATCTTGTAGCCGACAGAGTATCGGAATGTAGGTGGAGCGGTGAAATGCGTAGATATCTACAGGAACCCAA
ATGTGAAGACAGGTGACTGGTGGCGCTGACGCTCAGTACGAAAGCGTGGGTAGCGAACG
>Otu176
TCGAGAATCTTCGGCAATGGGGCAAGCCTGACCGAGCGACGCCGCTGAGGATGAAGGCCCTTCGGTTGTAACCTCTGTGAGGGGGAACAGGCCGCTGAAGAATCGG
GCTTGTAGTATCCCTGGAGGAAGCAGCGCTAAGTTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAAGACGAAAGCGTAAAGGCGGCTGAGCGGAT

GGCCACGTCGGTTGCTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGATGGGCGCCGATACGGGCCGTGGAGGGGCTAGGGGGAGCTGGAACACCGTGGAGCGGTGAAATGCGT
 TGAGATCGTGAGGAACCGCCGCGGAAAGCGAGCTCTGGACGCTTACTGACGCTGAGGCGCAAAGCCAGGGGAGCGAACG
 >Otu177
 TGAGGAATATTGGCAATGGGGCAAGCCTGACGCAGCCACCGCGTGGCGGAAGACGGTCTATGGAATTGTAACCGGCTTTTGTACGGGAAGAACCGGCTGGATTCTGCCGG
 CTCTGACGGTACCTGATGAAATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGGTGAAGCGTGTCCGGATTTATGGGTGTAAGGGTGCAGTGGCGGGT
 CTTAAGTCTGGGGTGAATCTCGCGGCTCAACCGTAGAACTGCCTCAGATACTGGAGATCTTGGATGACAGAGGTCCGCGGAATTCGTAGTGTAGCGGTGAAATGCATAGAT
 ATTACGAAGAACCAGTGGCGTAGGCGCGCGGCTGGTGCATAACTGACGCTGAGGCACGAGCGTGGGGAGCAAACA
 >Otu178
 TGGGGAATATTGGCAATGGGGCAACCTGATCCAGCCATGCCGCTGTGTGAAGAAGCGCTTCCGGTTGTAAGCACTTTAAGCAGGGAGGAAAGGTGATGGCTAATATC
 CATCATATTGACGTTACTGACAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGAAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTAAGGGCGTAAAGCGCGCTAG
 GCGTCTGGTTCAGTTGATGTGAAGCCAGGGCTCAACCTTGGAACTGCATCAATACTGCCAGGCTAGAGTACGGGAGGGGGTAGAATCCACGTGTAGCGGTGAAAT
 GCGTAGAGATGTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGGCGCCCCCTGGCTCGATACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
 >Otu179
 TGGGGAATATTGGCAATGGACGAAGTCTGACGCAGCGACACCGCGTGGGTGAAGGCTTCCGGATCGTAAACCCTGTGGCGAGGGAGAAATCTGATAGTACCTCGCTA
 GAAAGCACCGTAACTACTGTCAGAAAGCTTCGGTAATACGTAGGGTGCAAGCGTTATCCGGATTTATGGGCGTAAAGGGTCTGTCGGCGCTCTTTAAGTTTATGTTCAAGC
 CCAGGGCTCAACTCGGAAGCATGGAAACTGGAAGGATTGAGTCTGTTGAGGAAATGGAAATCTGGTGGAGGGGTGAAATCCGTAGATATCAAGAGGAACACCGCGC
 GCGAAGGCAGATTCTAGGACAGTACTGACGCTCAGGAACGAAAGCTTGGGTAGCAAAA
 >Otu180
 TGAGGAATATTGCTCAATGGACGCAAGTCTGAAGCAGCGACCGCGTGGGTGAAGAAGCGCTTCCGGTCTGTAAGCCCTTTTCTCAGTGACGAGGAAGGACCGTAGCTGAGG
 AATAAGTGTCCGCTAACTACTGTCAGCAGCCCGGTAACCGTAGGACGCAAGCGTTATCCGGAATTAAGGGCGTAAAGCGCGTGCAGGGGGTGCAGTAAGTATGCGTGA
 AAGCTCTGGCTAACTAGGAGAGGTGGATGATACTGCTGGTCTGGAGGGTGGTAGAGGAGTGGAAATCCGCTGTAGTGGTAAATGCGTAGAGATGCGGAGGAACACC
 AGTGGCGAAGGCGCACTTGGGCCACCTGACGCTGAGGCGCAAAGCATGGGTAGCGAACG
 >Otu181
 TAACGAATCTCCGCAATGCGCAAAGCGTACGGAGCAATGCCGCTGCAGGATGAAGCCCTTCCGGGTGTAACCTGCTGTCAGGGTTCAGGAACACAATGACCAGACCCAAA
 GGAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACAGAGGGTGGCAGCGTTAATCGGAATCACTGGGCTTAAAGCGTGCAGTGGCGGATGTCAGGATGTTGTGAA
 ATCCATGGCTCAACATGGAATTGCTTCGTGAACCCGACATCTTGAAGCAGGTAGAGGTGGTCGGAACGATAGTGGAGCGGTGAAATGCGTAGATATCTATCGGAACCCAA
 AGGAGAAGTCAGGCCACTGGCGCTGCTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGTAGCGAACG
 >Otu182
 TGAGGAATATTGGCAATGGGCGCAAGCCTGACCCAGCCATGCCGCTGCAGGAAGACCGCTTATGGGTTGTAACCTGCTTTTGTAAAGGACTAACCTGTGGTACGTGACCG
 CACTGCATGTACTTGAATAAGCATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGAGGGTGGCAGCGTTAATCGGAATCACTGGGCTTAAAGCGTGCAGTGGCGGATGTCAGGATGTTGTGAA
 AATTAAGTCAGTGGTAAATATTCCGGCTCAACCGGAGACTGCCATTGATACTGATTCTGTTAGTTAGTTGACGTTGGCGGAATGTGTATGATGCGGTGAAATGCATAGAG
 ATGACACAGAACCAGGATAGCGAAGGCAGCTGACGAACTATAACTGACGCTGATGACGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
 >Otu183
 TGAGGAATCTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCTGAGTGTGAAGCCCTTCCGGTTGTAAGCTTTTCACTGTTGTAAGATAATGACGCTAGCATCAGAA
 GAAGTCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGAGGGGAGCGAGCTTGTTCGGAATTAAGGGCGTAAAGCGTATGTAGGCGGTTTGTAAAGTCAAGTGTGAAAT
 CCCAGAGCTAACTTGGAACTGCATTTGAGACTGCAAGACTTGAATATCGGAGAGGTTGGCGGAATCCAGTGTAGCAGTGAATGCGCAGATATTGGGAGGAACCCGATG
 CGTAGGCAAGCAACTGGACGATTATTGACGCTGAGGTACGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
 >Otu184
 TGGGGAATCTGGACAATGGGGCAACCCCTGATCCAGCCATGCCGCTGAGTGTGAAGAAGCGCTTCCGGTTGTAAGCACTTTACAGCAGGGAGGAAGGCTTGAAGTTAATCCCT
 TGAGTACTTACGTTACTCGACAAGAAGCACCGGCTAATTCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGAAAGGTGCGAGCGTTAATCGGAATTAAGGGCGTAAAGCGCGCTAGG
 CGGTTAGTTAAGTCTGATGTGAAGCCAGGGCTCAACCTTGGAACTGCATCCGATAGCTGAGTGTAGTAGAGTGCAAGTGGAGGGGAGGTTCCGGTGTAGCGGTGAAATGC
 GTAGAGATCGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGGCGCTCTGGACTGATACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
 >Otu185
 TGGGGAATATTGGCAATGGGCGAAGGCTGACCCAGCCATGCCGCTGCAGGAAGAAGCGTTATGCGTTGTAACCTGCTTTTATACGGGAAGAAAAGGCCATGCGTGGGA
 CATTGCCGTAACCGTATGAATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGAGGGTGGCAGCGTTGTCGGATTTATGGGTTAAAGGGTGCAGTGGCGGCC
 TTATAAGTCAGCGGTGAAATACCCAGGCTCAACCTGGGGGGTCCCTTGATACTGATGCTTGGTGTAGTACGTTCCGTTGATGCAATGGAATTTATGGTGTAGCGGTGAAATGCATAGAT
 ACCATAAGGAACCCGATAGCGAAGGCATTGTACAGGGGCGTAACTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGTAGCGAACG
 >Otu186
 TCGAGAATCTTGGCAATGGACGCAAGTCTGACCGAGCGATGCCGCTGCGGGATGAAGCCCTTCCGGTTGTAACCCGCTGTGAGAGGAAGGAAATTTGACTGAACCTCAGA
 GGAAGGGGGGGTAAAGTCTGTGCCAGCAGCCCGGTAAGACGAACCCGCAACCGTTATTCGGAATTAAGGGGTTAGGCGGCCAGCAAGTCAAGTGTGAA
 ATCCACGGCTCAACCGTGGAACTCGCTTGAACCTGCTGGCTTGGAGGATAGAGGTAAGCGGAATGATGGTGAGCGGTGAAATGCATTGATATCATCAGGAACACCG
 GTGGCGAAGGCGCTTACTGGTCTCTTACGCTGAGGCACGAAAGCTAGGGAGCGAACG
 >Otu187
 TGGGGAATATTGGCAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCTGAGTGTGAAGAAGCGCTTCCGGTTGTAAGCTTTTCCGGCGGGACGATAATGACGTTACCCGAGA
 AGAAGCCCCGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGAAGGGGGTACGCTTGTTCGGAATCACTGGGCGTAAAGCGCACGTAAGGGGATTATTAAGTCCGGGGTGA
 ATCCGAGGCTCAACCTCGGAAGTCTTGGATACTGTAATCTTTGAGTCCGGGAGAGGTGAGTGGAACTCCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCCGGAAGAACCCA
 GTGGCGAAGGCGCTACTGGCCGCTACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
 >Otu188
 TGGGGAATCATTACAATGGGGGAAACCCCTGATGGTGAACCGCGTGGGGATGACGCGCTTCCGGTTGTAACCCCTGTCACCAGGGACTAACCTGTGGCTCATACCCAC
 ACCTGAATTAACCTGGAGAGGAAGAGGTGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGAGACCTCGAGCGTTACTCGGATTTACTGGGCGTAAAGGGTCCGTAGGCGGCC
 CTGTGTGGGTGTAATCCACGCTTAAACCGTGAACCTGCGCCGAAACTACAGGCTAGAGTATTGGAGAGGTGAAATTCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAG
 ATATCTGGAGGAACCAACCGCGAAGGCAGCTACTGGACAATTACTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCGAAAAG
 >Otu189
 TCGAGAATCTCCGCAATGGGCGAAGCCTGACGGAGCGCAGCCGCTGGTGGATGAAGTACTTCCGTTACGTAACACCTTTTATGAGGGAGGAAGTTTATTGACGTTACTCAT
 GAATAAGGGGCTCCCAACTCTGTGCCAGCAGGAGCGTAATACAGAGGCCCAAGCATTTATCCGGAATTAAGGGCGTAAAGGGTGCAGTGGCGGTTGATTAGTCAAGTTGTA
 AATCCCGGGCTCAACCCGGAACGCAATTGAAACGGTCACTAGAATTGATCAGAGGCAAGCAGAACTCTCGGTGAGGGGTGAAATCCGTGATATCAGAGGGAAATACCA
 AATGCGAAGGCAGCTGTGTTGGGTTATTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGTAGCGAAGA
 >Otu190
 TGGGGAATCTTGGCAATGGGCGAAGCCTGACGCAGCAACCGCGTGGGGATGAAGGCCCTCCGGTTGTAACCCCTTTACAGCAGGGAGCAAATGACGGTACTGACAGA
 AGAAGCCCCGCAACTACTGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGTAAGGGGCAAGCGTTGTTCGGAATTAAGGGCGTAAAGAGCTGTAGGCGGTTCCGTTAAGTCCGGTGTGAA
 AATCCAGGGCTCAACCTGGGACGCCACCCGATACTGCTGACTGAGTCCGGTAGAGGAGTGGAAATCTCGGTGATGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACCA
 GCGCGAAGGCGCACTTGGCCGCTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
 >Otu191
 TGGGGAATATTGGCAATGGTCCGAAGACTGACCCAGCCATGCCGCTGCAGGAAGAAGCGTTATGCGTTGTAACCTGCTTTTATACGGGAAGAAAAGCAACTGCGGTTGAA
 ATTGCCGTAACCTATGAATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGAGGGTGCAGCGTGTCCGGATTTATGGGTTAAAGGGTGCAGCAGCGGCT
 GATAAGTCAGCGGTGAAATACTCCGGCTCAACCGGAGGGGTGCCGTTGATACTGTTGGCTTGAAGTGGGTCTACTGATGAAATTTATGGTGTAGCGGTGAAATGCATAGATA
 CCATAAGGAACCCGATAGCGAAGCATTTGACGGGGCCGTAAGTACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGTAGCGAACG
 >Otu192
 TGAGGAATATTGGCAATGGAGGCAACTCTGACGCAGCAACCGCGTGGGGATGAAGGCTTCCGGATCGTAAACCCTTTTGTAGGGGAAGAGTAAGGACGGTACTCACG
 AATAAGTCTCGGCTAACTACTGTCAGCAGCCCGGTAACCGTAGGAGCAAGCGTTATCCGGAATTAAGGGCGTAAAGCGGTCAGGCGGTTTGGTAAAGTGTGCGTGA

AGCTCCCTGGCTCAACCGGAGAGGTCGTGCGATACTGCCAACTTGTAGGGAGGTAGAGGCAAGTAGAATCCGGGTGTAGTGGTAAATGCGTAGATATCCGGAGGAATACC
AGTGGCGAAGGCGGCTTGTGCCCCCTCTCTGACGCTCAGACGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACC
>Otu193
TCGAGAATCTTCCAAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCCACGCCGCTGTAGGAGGAAGCCCTTTGGGTTGTAATACTGTTGCGAGGGGGGAACCCCTGAGGTGAATAGCC
TCAGGACTGACTGCCCTCATGAGGAAGCCCCGGTAAACACGTCGCCAGCAGCCGCGTAATACGTGTGGGGCAAGCGTTGTTGCGAATTACTGGGCTTAAAGGGTGCATAGGCCG
GCCGCTCAAGTCAGATGTGAAATCCCACGCGCTAACCCGTGGCATTGATTTGATACTGGTGGGCTTGTAGTGTGCTAGGGGTAAGCGGAACGAGTGGTGTAGCGGTGAAATGCGT
AGATATCACTCGGAAGGCCGAGCCGAAGGGGGCTTACTGGGCACTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu194
TGGGGAATATTGGCAATGGACGAGAGTCTGACCCAGCCATGCCGCTGACGGAAGACGCGCTATTGGTTGTAACCTGCTTTTATACGGGAAGAAAAGGCCATGCGTGGGA
CATTGCCGGTACCGTATGAATAAGCACCAGCTAACCCTGTCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGTGAAGCGTGTGTCGGATTATTGGGTTTAAAGGGTGCATAGGCCGGCT
GATTAAGTCAGCGGTGAAAGACTTCCGCTCAACCCGAGCAGTGCCTGATGACTGGTTAGCTTGTAGTGTGTCAGGGGTACATGGAATTGCTGGTGTAGCGGTGAAATGCATAGA
TACCATCAGGAACACCGATAGCGAAGGCATTGTACTGGGACGCACTGACGCTGATGCACGAAAGCGTGGGGAGCGAACA
>Otu195
TGGGGAATCTTGTCCAATGGCGAAAGCCTGAGACAGCCAGCCGCTGCGGGAAGAAAGCGCTTCGGGTCGTAACCCGCTTTCAGGAGGGAAGAAGCGAGAGTACGGTACCT
CCAGAAAGAGCAGCCGCTAATCTGTCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTCCGAGCTTACCGGAATCATTGGGCGTAAAGCGCATGTAGCGGCCATGTAAAGTCGGTT
GTAAATCCCAGGCTCAACCTCGAATCCGATACTGCTGCTGAGGTAAGGTAGAGGAGTGAATCCCGGTGTAGCGGTGGAATCCGAGATATCGGGAGGAA
CACCAGCGCGAAGGCGGCTCTGCGGCTCTCTGACGCTGAGATGCGAAAGCGTGGGTAGCGAACA
>Otu196
TCGAGAATCATTGCAATGGCGAAAGCCTGACGGTGCAGCCGCTGGGAGTGAAGGCTCTCGGGTGTAACTCCTGTATGGGGGAACAAGAAAGTGTATGATACCCCA
AGAGGAAGAGGGCGAACTCTGTCCAGCAGCCGCGTAATACAGAGGCTCAAGCGTTGTTTCGATTACTGGGCGTAAAGGGTGCATAGGCCGGTACCGCAAGTCTGATGT
GAAATCTCGGGCTCAACCTCGAACTGCATTGGATACTGCTGTAGAGGATTGTAGAGGAGACCGGAATCAGCGTGTAGCAGTGAATGCGTAGATATCGTGAAGAGC
CAGTTGCGAAGGCGGCTCTGCGCAATCTCTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACG
>Otu197
TGGGGAATATTGGCAATGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCTGATGATGAAGGCTTACGGTGTAAAGTCTTTTGTAGGGAAGATGATGACGGTACCTGCAGAA
TAAGCACCAGCTAATCTGTGCGCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGTGTAGCGTTTTCGGAATCATTGGGCGTAAAGCGCGTAGCGGCTTATCAAGTCAGGGGTGAAAT
CCCACAGCTCACTGTGGAAGTGCCTTGAAGCTGGTAAAGTGTGCGAGGAGTACGCGAATGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTAGCAGGAACACCGGTG
CGAAGGCGGCTACTGAGCAACTGACGCTGAGGCGGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu198
TGGGGAATATTGGACAATGGGGCAACCCCTGATCCAGCAATGCCGCTGTGTGAAGAAGGCTTGGGTTGTAAGCACTTTCAGTAGGAGGAAAGCTTTTCTGCTAATACCA
GAAAGTGTGACGCTACACAGAAAGCACCAGCTAATCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACAGAGGCTCAAGCGTTGTTTCGATTACTGGGCGTAAAGCGTAAAGAGCAGCTAG
GTGGATGAGCAGGTTGGATGTTAAATCCCTGGGCTTAACTAGGAATGTATTCAAACCACTCACTTGTAGTACAGAAGAGGAAAGTGGAAATTCGGGTGTAGCGGTGAAATGC
GTAGATATCGGAAGGAACACCCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGTCTGATACTGACACTGAGGTGCGAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu199
TGGGGAATTTGGACAATGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCTTTCGGTTGTAAGCTCTTTCGCAAGGGAAGAAAAGATATGGGTTAATAGCC
TATGTTGCTGACGGTACCTTATAAAGAGCACCAGCTAATCTGTCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTAATCGAAATCAGGCGTAAAGCGTGCAGAGG
CTGTTTGGCAAGTCAGATGTAAATCCCAGGCTCAACTGGGAAGTGCCTTGTAAAGTGCAGACTAGAATAGTGTAGAGGGGGTGAATCCACCGTGTAGCAGTGAATGC
GTAGAGATGTGGAGGAATACCAATGGCGAAGGCGAGCCCTGGGATCATATTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu200
TGGGGAATTTGGACAATGGCGCAAGCCTGATCCAGCAATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCTTTCGGTTGTAAGCTCTTTCGCAAGGGAAGAAAAGATATGGGTTAATAGCC
TATGTTGCTGACGGTACCTTATAAAGAGCACCAGCTAATCTGTCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTAATCGAAATCAGGCGTAAAGCGTGCAGAGG
CTGTTTGGCAAGTCAGATGTAAATCCCAGGCTCAACTGGGAAGTGCCTTGTAAAGTGCAGACTAGAATAGTGTAGAGGGGGTGAATCCACCGTGTAGCAGTGAATGC
GTAGAGATGTGGAGGAATACCAATGGCGAAGGCGAGCCCTGGGATCATATTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu201
TGGGGAATATTGCGCAATGGCGAAAGCCTGACGCGACCATGCCGCTGTGTGAAGAAGGCTTTCGGTTGTAAGCACTTTCAGTAGGAGGAAAGAGTGGTGTAAATAGC
GCTGACGGTTGACGTTACCCACAGAAAGCACCAGCTAATCTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGTGCAGCGTTAATCGAAATCAGGCGTAAAGCGCGGTA
GGCGTTTGTAAAGTCGATGTGAAATCCCAGGCTCAACTGGGAAGTGCATCCGAGACTGGCAGGCTAGAGTACGGGAGAGGGCTGTGAAATCCATGTGTAGCGGTGAAA
TGCGTAGATATGTGGAGAACATCAGTGGCGAAGGCGAGCCTGGCTGATACTGACGCTGAGGTGCGAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu202
TCGAGAATCATTGCAATGGCGAAAGCCTGACGCGACCATGCCGCTGTCAGGATGACGGCTTTCGGTTGTAACCTGCTGCTTGTAGGGAACAATAGCAGCGGGGTGAATAGC
CCGATGTGTGTGTAATCTCAGGAGGAAGTACCGGCTAATCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACAGAGGTCTCAAGCGTTTTCGATTACTGGGCGTAAAGGGTGCATAG
GGCGCTTCGTATGTGCGGATGTGAAATCTCACCCTCCGCTGAAACCGGCTTGTGACTGCAAGGCTGGAAGTGCAGAGAGGAGGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAAT
GCGTAGATATCAAGGAAACACCGGTGGCGAAGGCGGCTCTGACTGATACTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu203
TGGGGAATCTTCGCAATGGCGAAAGCCTGACGAGCAGCAGCCGCTGACAGCAGGCGCTTCGGTTGTAACCTGCTGACGCTATAGAACGCTGCTTCCGCACTTGACC
AAAGCGAGAGGAAGCACCAGCTAATCTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAAGACGAGGGTGAACAGCTTGTGCGAATCAGTGGGCAATAAGCGCAGTAGCGGCTTCTAAGTC
GGATGTGAAATCCCAGGCTCAACCCGGAAGTGCATCCGATACTGGGAAGTCTGAGAATGGTTGGGTTGAGCGGAAGTCCAGTGTAGCGGTGAAATCCGATGTAGCGGTGAAATGC
GGAACACCGGTGGCGAAGCGGCTCACTGGACCATCACTGACGCTGAGGTGCGAAGCTAGGGAGCAAACG
>Otu204
TCGAGAATCATTGCAATGGCGAAAGCCTGACGGTGCAGCCGCTGTGACGATGAAGGCTTTCGGTTGTAAGCTCTTTCGCAAGGGAACAAGAGATAGTACTAATAATC
ACTAATTTGAGGGTACCTTGTAAAGAGCACCAGCTAATCTCCGTGCCAGCAGCTGCGGTAATACGAGGGTGAAGCAATTAATCGGATTTATTGGGTGTAAGAGCGCGTAGG
CGGGTACAGAACTCAGATGTGAAATCCGGAACCTCACTCCGAGGCTGCAATTTGAACTACTGATCTTGGGATAGACGAGAAACGGAATCCACATGTAGCGGTGAAATGC
GTAGATATGTGGAAGAACACCGGTGGCGAAGGCGGTTTCTAGTTTATTCTGACGCTGAGGCGGAGAGCATGGGTAGCAAACA
>Otu205
TGGGGAATTTTGGCAATGGCGAAAGCCTGACGCGAAGCAGCCGCTGTGTGACGAAAGGCTTTCGGTTGTAAGCACTGTGGGAAGGGAAGAAAATGGCGGGTAAACGCC
CGTTCTGACGCTACCTTCTAGAAAGCACCAGCTAATCTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGTGAAGCGTGTGTCGAAATATTGGGCGTAAAGGGTGCAGGTG
GTCTATCAAGTCAGGTGTGAAATCCCAGGCTAACCCTGGAAGTGCATTTGAACTGTTGACTGAGTGTGGAGGGGCGAGGAAATCCCGGTGTAGAGGTGAAATTCGT
AGATATCGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTGCTGGCAATCACTGACACTGAGACGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu206
TGGGGAATATTGGCAATGGCGCAAGCCTGATCCAGCAATGCCGCTGTGTGAAGAAGGCTTTCGGTTGTAAGCACTTTTATTAGGGAAGAAACGGCAAGGCTAATACCT
TTGGCAATTGACGGTACCTAAGGAATAAGCACCAGCTAATCTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATCAGTGGGCGTAAAGCGTGCATAGG
CGGCTTCTAAGTCGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCTGGGAATGCATTCGATACTGGTGGCTAGAGTGGTGTAGAGTGGTAAATCCAGGTGTAGCGGTGAAATGC
GTAGATATCGGAGGAACATCAGTGGCGAAGGCGGCTTACTGGACAAAATGACGCTGAGGTACGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu207
TGGGGAATATTGGACAATGGGGCAACCCCTGATCCAGCCATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCTTTCGGTTGTAAGCACTTTCGCGAGGGAAGATAATGACGGTACCTGGTAAA
GAAGTCCCGGCTAATCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGGGCTAGCGTTGTTTCGGAATCAGTGGGCGTAAAGAGTACGTAGCGGCTTGTCAAGTTGGGTGTGAAA
GCCCGGGCTCAACCCGGAAGTGCATTCGAACTGGCTGGCTAGAGATCGGAAGAGTAAAGTGGAAATCCAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGGGAAGAACACCGG
TGGCGAAGGCGACTTACTGCTCGATACTGACGCTGAGGTACGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu208
TGGGGAATATTGGCAATGGTCGGAAGACTGACCCAGCCATGCCGCTGACGGAAGACGCGCTTTCGGTTGTAAGCTGCTTTTATCAGGGAAGAAAAGCCATGCGTGGCA
AATTGCCGGTACCTGATGAATAAGCACCAGCTAATCTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGTGAAGCGTGTGTCGGATTATTGGGTTTAAAGGGTGCATAGCGGCT

TTATAAGTCAGCGGTGAAAGTTTCAGGCTCAACCTGGAAATTGCCATTGATACTGTATAGCTTGAGTGCCTTCTGGGTACATGGAATTTATGGTGTAGCGGTGAAATGCATAGATA
CCATAAGGAACACCGTAGCGTAGGCATTGTACTGGGACGTAAGTACGCTGATGCACGAAAGCATGGGGAGCGAACA

>Otu209

TGGGGAAATTTGGACAATGGGCGGAGCCCTGATCCAGCCATGCCCGTGGGGGAAGACGGCCCTATGGGTTGAAACTCCTTTTATACAGGAAGAAACCTCTCATTATGAGT
GAGCTGACGGTACTGTATGAATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGGTGCAGCGCTTATCCGGATTTACTGGGTTTAAAGGGTGCAGTGGCGG
GCATTTAAGTCAGTGGTGAATCAACGGGCTCAACCTGTTAACTGCCATTGATGACTGGATGCTTGAATATGAGAGAGGCGAGCGGAATTTGCATGTAGCGGTGAAATGCTTAG
ATATGCTACGGAACACCGATTGCGAAGGCAGCTTCTATTTCATTATGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCGAACA

>Otu210

TGGGGAAATTTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCCGTGTGTGAAGAAGCCCTTAGGGTTGTAAGCACTTTAAGCTGGGAGGAAGGCCTTAGGTTAATACCC
TTAAGGATTGACCTACAGCAGAATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGGTGCAGCGTTAATCGGAATTAAGCTGGGCGTAAAGCGCACGTAGG
TGGATTGTTAAGTTGGATGTAAACCCCTGGCTTAACTGGGACGTGCATCCGATACTGGCAAGCTAGAGTACGGTAGAGGGAAGTGAATTTCCGGTGTAGCGGTGAAATGC
GTAGAGATCGGAAGAACACCCAGTGGCGAAGGCAGCTTCTGACTGATACTGACTGAGGAGCGAAAGCGTGGGTAGCAACA

>Otu211

TGGGGAAATTTGGCAATGGACGAAAGTCTGACCCAGCCATGCCCGTGCAGGATGAATCCCTCTGGGTTGTAAGCTGCTTTTATAAGGGAAGAAACCCCTCTACGTGTAGAG
GGCTGACGGTACTTATGAATAAGGATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGATCCAAGCGTTGTCGGGATTTATGGGTTTAAAGGGTGCAGTGGCGGAT
TACTAAGTCAGTGGTGAAGCTGTACTTAACCTACAGAACTGCCATTGAACTGTAACTTTGAAATAGTTGGGTGAGTGAATTTGCTAGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGAT
ATGCAACAGAACCAATCGCAAGGCAATTTACTAAACCTAATCTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGTAGCGAACA

>Otu212

TGGGGAAATTTGCAATGGGGGAAACCCCTGACGCAGCAATGCCCGTGTGAGTGAAGAAGCCCTTAGGGTTGTAAGCTGTCAAATGGGAAGAACGGCGTAGAGTGAATAG
GCTTTGCGTTGACGGTACCAATTAAGGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGAAGGGTGCAGCGTTGTTGCGAATTTATGGGCGTAAAGCGCGCGCA
GGCGGTTTTAAGCCAGATGTGAATCTCGGGGCTAACCCGAAACTCGCTGTGAACTGGAACCTAGAATCTCGGAGGGGAAGGAGAATTCGCATGTAGGGGTAAAT
CCGTAGAGATGCGAAGGAACACCAAGGCGAAGCGCCTTCTGGACGAGTACTGACGCTGAGGCGCAAGCGTGGGGAGCAACA

>Otu213

TGAGGAATCTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCGACGCCGTTGGTGTGAAGGCCGTGAGGTTGTAAGCCCTTTCTGTCTGAGGAATAAGCCTGGGAGGGAATG
CCCCGGTGTAGCGGTAAAGACAGGAATAAGCCCGGCTAATTACGTGCCAGCAGCCCGGTAACACGATGAGGGCGAGCGTTGTTGCGAATTTATGGGCGTAAAGGGCGCGTA
GGCGGATACGCAAGTCTGGTGTGAAGACCGCAGCTTAACTGCGGGAGCGCGTGGAACTGTGTACTTTGAACTTTGAGGGGAACTGGAATTCCTGTTAGGGGTGAAAT
CTGTAGAGATCAGGAAGAACAATCACTGGCAAGGCGGATTTCTGGCAAGTACTGACGCTGAGGCGCAAGCGTGGGGAGCAACA

>Otu214

TGAGGAATTTGGACAATGGGGGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCCGTGTGAGTGAAGAAGCCCTTAGGGTTGTAAGCTCTTTCAATCGTGAAGATAATGACGGTAGCGATAGAA
GAAGCTCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGAGCAAGCGTTGTTGCGAATTTATGGGCGTAAAGGGTGCAGTGGCGGATTTGTAAGTCAAGAAGTGAAA
GCCCAGGGCTCAACCTGGAATGCTTTTAACTACTAGATGATGTTAGAGGTTGGGAGAAATCTAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTAGGAGGAATACCAAGTGC
GCGTAGGCGCCAACCTGGACCAATCTGACGCTCAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAACA

>Otu215

TGGGGAAATCATTACAATGCACGAAAGTGTGATGATGCGACGCCGTTGAAGGATGAAGTCTTCGATTGTAAGCTTCTGTCAGAAAGAAAGAACAGGCCCGGGTGAATACC
CCCCGGTTTTGACGGTACTTACAGAGGAAGCCAGCGTAACTCTGTGCCAGCAGCCCGGTAATACAGAGGTGGCGAGCGTTGTTGCGAATTTACTGGGCGTAAAGGGTGCAGT
GCGGCCCTTGTGTGATGATGTAAGCCATGGCTCAACCATGGGACTGCATTTGAAACTGCAGGGCTTGTGATGTCGGAGAGGTATGTGAATTTCTGGTGTAGCGGTGAAATG
CGTAGATATCAAGAAGAACACCGCGGGCAAGGCGCATACTGGACGAATACTGACGCTGAGGCGCAAGCGTGGGGAGCGAACA

>Otu216

TCGAGAATCTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCGACGCCGTTGGTGTGAAGGCCCTCGGGTTGTAACATCTGCTGAGGGGAGGAAATTTGACCGATCCTAGGA
GGAAGCACAGGCTAAATCGTCCAGCAGCCCGGTAATACGAATTTGCGCAAGCTTATTGGAATCACTGGGCTTAAAGGGTGCAGTGGCGGACATGTAGGTCAGGTGTGAA
ATCCACGGCTCAACCGTGAAGCTGAGCCTTGAACCCACAGCTTTGAGGAGGTGAGGAGGCGGAACTGATGGTGGAGCGGTGAAATCGTTGATATCATCAGGAACACCC
GTGGCGAAAGCGCTCTCTGGGACCTTCTGACGCTGAGGCACGAAAGCTAGGGTAGCGAACG

>Otu217

TGAGGAATTTGGCAATGGACGAAAGTGTGATGATGCGACGCCGTTGAAGGATGAAGTCTTCGATTGTAAGCTTCTGTCAGAAAGAAAGAACAGGCCCGGGTGAATACC
CCCCGGTTTTGACGGTACTTACAGAGGAAGCCAGCGTAACTCTGTGCCAGCAGCCCGGTAATACAGAGGTGGCGAGCGTTGTTGCGAATTTACTGGGCGTAAAGGGTGCAGT
GCGGCCCTTGTGTGATGATGTAAGCCATGGCTCAACCATGGGACTGCATTTGAAACTGCAGGGCTTGTGATGTCGGAGAGGTATGTGAATTTCTGGTGTAGCGGTGAAATG
CGTAGATATCAAGAAGAACACCGCGGGCAAGGCGCATACTGGACGAATACTGACGCTGAGGCGCAAGCGTGGGGAGCGAACA

>Otu218

TGGGGAAATTTGGCAATGGACGAAAGTGTGACGCAGCGACGCCGTTGAGGGATGAAGTCTTCGATTGTAAGCTCTTTTCTGAGGGAAGAAAGATGAGAGTTACTTTT
AGTTGACGGTACTCAGGAATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTATCCGGAATTAAGGTTGCGTGGGCGGCTAG
AGATAAGTCAGTGGTGAAGTTTGGCGCTCAACCGTGAATTTGCCATTGATGACTGTTGGCTTGAATCAGGCTGAGGATGCGGAATGAGACATGTAGCGGTGAAATGCATAGA
TATGCTTAGAACACCGATTGCGAAGGCAGCTATCTAGACCTGATTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGTAGCGAACA

>Otu219

TGGGGAAATTTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCCGTGTGAGTGAAGAAGCCCTTAGGGTTGTAAGCTCTTTTCTGACGCGCAGCAGATAATGACGGTAGCGTGAAG
GAAGCCCGGCTAACTCTGTCAGCAGCCCGGTAATACGAAGGGGGTACTGCTGGAACTCACTGGGCGTAAAGGGCGCGTAGCGGACATTTAAGTCCGGGGTGAAG
GCCAAGGCTCAACCTGGAATTTGCTCCGATACTGGGTGTCTAGAGACCGGAAAGAGGTGAGTGAAGTGCAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGCAAGAACACCACT
GGCGAAGCGCGCTACTGTTCCGCTTCTGACGCTGAGGCGCAAGCGTGGGGAGCAACA

>Otu220

TGGGGAAATTTGCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGCAGCAACGCCGTTGAGGGAAGAAGCCCTTAGGGTGTAACTCTTTTCTGAGGAGGGAAGAACTGCATGGATTGCAATAG
GGTGTGTTGACGGTACTTCAAAGGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGGTGCAGCGTTATTCGGAATTAAGCTGGGCGTAAAGGGCGGTGA
GGCGGCTTTAAGTCAGGTGTGAATCCACGGCTTAACCGTGAACCTGCACTTGAAGGAGGTGAGGAGGCGGAACTGAACTCTGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGATATCAGGAAGAA
CCAAATGGCGAAGGCAGTCTCTGGGCCCTTCTGACGCTGAGGACGAAAGCGTGGGGAGCAACA

>Otu221

TCGAGAGGCTTGGCAATGGGGCAACCCCTGACCGAGCGACGCCGTTGAGGGAAGAAGCCCTTAGGGTGTAACTCTTTTCTGAGGAGGGAAGAAAGCCCTTGTGGTGAACCTG
GGTGTGATCGACCGGAAGAAAGCCCGGCTAACTCTGTCAGCAGCCCGGTAATACGAAGGGGGCGAGCGTTATTGCGAATTTATGGGCGTAAAGGGCGCGTAGGCTGC
CGGCAAGTCTGGTGTGAAGACCTACCGCTTAACCGAGCGATTGCGCTGAAACTGCTCGGCTTGTGAGTGCAGAAAGGCAAGCGGAATACCTGGTGTAGCGGTGAAATGCTC
AGATACAGGTGGAACACCGGAGGCGAAGGCGGCTTGTGTTGTTACTGACGCTGAGGCGCAAGCGTGGGGAGCAACA

>Otu222

TGAGGAATCTCCGCAATGCGGAAAGCGTACGGAGCAATGCCCGTGTGGGATGAAGGCGCTGCGTGTAAACCACTGTCAGACCTCGAACCAACGATCAGGGTGCAGAG
GAAGGGCGGCTAACTCTGTCAGCAGCCCGGTAATACGAGTGGCCCAAGCGTAACTGGAATCACTGGGCTTGAAGCGTGCAGAGCGGACCATAGCGCTCCCGTGAAG
TGCCCCGGCTCAACCGGGGAATGGCGGGCGAACCTTGGTCTTGAAGGAGGTAGGGGGCGCAAGCTGCGTGGAGCGGTGAAATGCGTAGATATGACAGGAATGCCG
AAGGGGAAGCGCGCCTGGGCTGTCTGACGCTCATGCAGAAAGCGTGGGGAGCAACA

>Otu223

TAAAGCAATCATTACAATGGGGGCAACCCCTGATGGTGAATGCCCGTGGGGGATGAAGGTTCTCGGATCGTAAACCCCTGTACCAGGACTAAACCAAGGTTTCATAGCCTTG
GCTGAATTAACCTGGAGAGGAAGAGGTGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGACTCGAGCGTTACTCGGATTAAGGCGTAAAGGGTGCAGCGGAGC
TGGTATGTCAGGTGTGAATCCCGGGCTTAACCCGGAAGTGCCTGAAACTACCGGCTTGTAGATTCGGAGAGGTGAGCGGAATTCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGA
TATCTGGAGGAACACCCATGCGAAGGCAGCTACTGGACGAAATCTGACGCTATGACGAAAGCGTGGGTAGCGAAG

>Otu224

TGGGGAAATTTGCGCAATGGTGAAGGACTGACGCAGCGACGCCGTTGGGAGGAAGCCCTTAGGGTGTAAACCACTGTCAGGAGGGAAGAAACCCCGTGCATTCGAATAG
GGTGTGCGGTTGACGGTACTCAGAGGAAGCGCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAAGACGGAGGCGCAAGCGTTGTTGCGAATTAAGGCGTAAAGGGCGGTGC

AGGCGGCCCTTTAAGTCTTTTGTAAATTCGGAGCTCACTCCGGACCTGCAAAGGATACTGGGGGGCTAGAGACCGGTAGAGGCTAGTGAATTCTGGTGTAGCGGTGGAA
TGCGTAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGACTAGCTGGCCGGGTCTGACGCTCATGCGGAAAGCGTGGGGAGCAAAAC
>Otu225
TGGGGAATATTGGACAATGGGGGAAACCTGATCCAGCGATGCCGCTGTGTGAAGAAGGCCCTAGGGTTGTAAGCACTTTAGTTGGGGAGGAGGAGTTGCGATTGAATAGG
TCGTGACGAGGACGTTACCAAGAATAAGCACCCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACAGAGGGTGCAGCGTTAATCGGAATAATGGGCGTAAAGGGTGCCTA
GGTGGTATCTTAAGTGGTATGTGAAGAACCCGGGCTTAACCTTGGGAGGTCATATCATCTGGGATGCTAGAGGACAGTAGAGGAAGGTGGAATTCGGGTGTAGCGGTGAAA
TGCGTAGATATCGGGAGGAACATCAGTGGCGAAGGCGACCTTCTGGGCTGTTCTGACACTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAAAC
>Otu226
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCATGCCGCTGTGTGAAGAAGGCCCTCGGGTTGTAAGCACTTTAGTTGGGGAGGAAGGGTTGTTGTAATAGTA
GCAATCTTTGACGTTACCCACAGAAGAAGCACCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTAAGCGCACGACGAG
CGCTTTTAAAGTGGATGTGAAGCCCGGGCTCAACTGGGAATGCATTGCTACTGGAAGGCTAGAGTACGTGAGAGGGGGTAGAATCCAAGTGTAGCGGTGAATGC
GTAGAGATTGGAGGAATACAGTGGCGAAGGCGCCCTGGCTGATACTGACGCTCAGTGGCAAGGCGTGGGGAGCAAAAC
>Otu227
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAGCCTGATCCAGCATGCCGCTGTGTGAAGAAGGCCCTAGGGTTGTAAGCTCTTTAGTTGGGGAGGATAATGACGGTACCCACAGAA
GAAGCCCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGGGCTAGCGTTGTTCCGATTACTGGGCGTAAAGCGCACGTAGGCGGATCGTTAAGTCGAGGGTAAAA
TCCTGGAGCTCAACTCCAGACTGCTTGCATCTGATACTGGGATCTTGAATCGGAAAGGTAAGTGAACCTCTAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTAGGAAGAACCCAGTG
GCGAAGGCGGCTACTGGTCCGTAAGCTGACGCTGAGGTGCGAAGGCGTGGGGAGCAAAAC
>Otu228
CGACGAATCTTGCGAATGGGCGAAGCCTGACGCGACCAAGCCGCTGGGGAGCAAGGCTTAGGATTGTAACCCCTTTGCGAGGGAAGAGTTCTGACGGTACCTCGC
GAATAAGACACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGCAAGCGTTGTCGGATTATTGGGCGTAAAGCGCCGCGAGGCGGCTCGCAAGTTTCGGGTGA
AATCTCTGGCTCAACTGGGAGGGTCTCGAAAACTATCGGGCTTGGGAGGAGAGGGAAGCAGAATCCAGTGTAGCGGTGAATGCGTAGATATCTGGAGGAATACC
AGTGGCGAAGGCGGCTTCTGGCCCTGCTGACGCTCAGGGGCGAAGGCGTGGGTAGCAAAAC
>Otu229
TGGGGAATATTGGTCAATGGACGGAAGTCTGAACCAGCATGCCGCTGACGAGCAAGGCCCTCGGGTTGTAACCTGCTTTGTATAGGAAGAAACGCTCCGACGTGTCGGA
GTTTGACGGTACTATAAGAAATAGGATCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGATCCGAGCGTTGTCGGGATTATTGGGTTAAAGGGTGCAGCGCGCC
CGATAAGTCAGTGGTGAAGCCGACAGCTTAACTGTGCAACTGCCATTGATACTGTTGGGCTGAGTATAGTTGAGGTTGGCGGAATGTAACATGTAGCGGTGAATGCTTAGAT
ATGTTACAGAACCCGATTGCGAAGGCGACTGACTAAGCTTACTGACGCTGATGACGAAAGCGTGGGGATCAAAAC
>Otu230
TGAGGAATCGTGCCAATGGACGAAAGTCTGACGCCGCGACACCCGCTGGAGGATGAAGGTTTTCGGATCGTAACTCTTTATGAGGGAACAAGTTCTGAGTGTACCTCATG
AATAAGCACCTTCAACTACGTGCCAGAAATCGGTGATACGTAGGTTGCAAGCGTTGTCGGATTACTGGGCGTAAAGCGCCGCGAGGCGGCTCGCAAGTTTCGGGTGA
AGCTTTCAGCTCAACTGAAAAAATTAGGAAACTATTTGATTGAGGCACAGAGAGGAGAAGGGAATTCGTGGTGGAGCGTGAATGCGTTGATATCAGGAGGAACACCAA
TTGCGAAGGCACTTCTGCTGTGACTGACGCTAAGGCTCGAAGGCGTGGGGAGCAAAAC
>Otu231
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAGCCTGATCCAGCAATGCCGCTGCGTGTGAAGAAGGCCCTCGGGTTGTAAGCGCTTTCTCTGACGATGATGACGGTAGCGAGGGAA
TAAGCCCGGCTAACTCGTGCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGGGCTAGCGTTGTCGGAACTACTGGGCGTAAAGGGCGCGTAGGCGGCGAGCATAGTCGGGTGTGAAA
GCCCGGGCTAACTGGGATGTGCACTGATACTGGCTGTAGAGTTGCGGAGAGGTCAGTGGAAATCCAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGGGTGGAACACCACT
GGCGAAGGCGACTGACTGGACCGATACTGACGCTGAGGCGCGAAGGCGTGGGGAGCAAAAC
>Otu232
TGGGGAATCTTCCGAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACCCGCTGAGTGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGCCAGGGAAGAAAAGGTTGGTTAACTGCC
GACCTGTGACGGTACTGAGAAGAAAGCCCGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGGGCAAGCGTTGTCGGAAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGG
CGGAGGGTCACTCCAGTGTCTAACTTGAAGACGCTGAAAGCAGCATCGGAAACTGCGCCGCTTGAAGTGCAGGAGGGGAGTGGAAATCCAGTGTAGCGGTGAAATGCG
GTAGATATGTGGAGGAACACCACTGCGAAGGCGACTCTTGGCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAGGCGTGGGGAGCAAAAC
>Otu233
TGGGGAATCTTAGACAATGGGGGAAACCTGATCTAGCCATGCCGCTGAGCGATGAAGGCTTAGGGTTGTAAGATCTTTAGATGGGAAGATAATGACGGTACCATCAGAA
GAAGCCCGGCTAACTCGTGCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGGGCTAGCGTTATTGCGAATTAAGGCGTAAAGCGCACGTAGGCGGATCAGAAAGTCAAGGTTGAAA
TCCCGGGCTCAACCCCGAACCGCTTTGAAACTCTGGTCTGAGGTCGAGAGAGGTGAGTGGAAATCCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGGAGGAACACCACT
GGCGAAGGCGGCTACTGCTGATACTGACGCTGAGGTGCGAAGGCGTGGGGAGCAAAAC
>Otu234
TCGAGAATCATTACAATGGGCGAAGCCTGATGGTGCAGCAGCCGCTGGAGGATGACGGCCCTCGGGTTGTAACCTCTGTCAAGTGGGAACAAGAAAGTATAGTACCCTA
GAGGAAGAGACGGCTAACTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACAGAGGTTCTCAAGCGTTGTCGGAAATTAAGGCGTAAAGGGTGCAGGCGGCTGTAAGTCAAGTGTG
AAATTTCCGGGCTCAACTCCGAACTCGAATACTGATACTGCTGCTGAGGATTGTAGAGGAGTGTGGAATCTTGGTGTAGCAGTGAAGTGCATAGATATCAAGAGGAAGACC
AATGGCGAAGGCAACTCTGGCAATTCCTGACGCTGAGGCACGAAAGGCGTGGGGAGCAAAAC
>Otu235
TGAGGAATTTTCGCAATCGACGAAAGTCTGACGAGCAACCCGCTGCGGGAAGAAGGCCCTCGGGTTGTAACCGCTTTTGTAGGGAAGAAAGATCTGACGGTACCTCAC
GAATAAGTCAAGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGCGAAGCGTTGTCGGATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGATTGTTAAGTCTGAGGTG
AAAGTCCCGGCTCAACTGGGAGAGCCCTTGGATACTGCAATCTTGAAGACACTAGAGGAGAGTGGAAATCCCGGTTAGTGTGGAATGCGTAGATATCGGGAGGAACACC
AGTGGCGAAGGCGGCTCTGCGGAGTGTGACGCTGAGGCGCGAAGGCGTGGGGAGCAAAAC
>Otu236
TGGGGAATATTGGACAATGGGGGCAACCTGATCCAGCAATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCCCTCGGGTTGTAAGCTCTTTATCAGGGAAGATGATGACGGTACCTGATGAA
TAAGTCCCGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGAGTACGCTTGTTCGGAAATTAAGGCGTAAAGGGCGCGTAGGCGGCTACTATAAGTTAGATGTGAAAG
CCCGGGCTTAACTGGGAAGTCAATTAAGACTGTAGAACTAGAGGACGAGAGGAAAGTGGAAATGTGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTACAAGAACACCACTG
GCGAAGGCGACTTCTGGCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAGGCGTGGGGAGCAAAAC
>Otu237
TGAGGAATATTGGACAATGGGGGCAACCTGATCCAGCAATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCCCTCGGGTTGTAAGCTCTTTAGTGTGAAGATAATGACGGTAAACCCAGAA
GAAGCCCGGCTAAATTCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAATGGGGCAAGCGTTGTTCCGAATCACTGGGCGTAAAGCGTACGTAGGCGGCTATGCAAGTCAAGAGTGA
GCCAGGCTCAACCTGGAATGCTTTGAAACTGATGGCTAGAATCCGGAGAGGTTAGCGGAATCCAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGGAGGAACACCACT
GGCGTAGGCGGCTAACTGGACCGTATTGACGCTGAGGTACGAAAGGCGTGGGGAGCAAAAC
>Otu238
TGGGGAATATTGGTCAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCAATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCCCTCGGGTTGTAAGCTCTTTATACACCAAGAAACCCCTCTCTGTGAGGAGG
GCTGACGGTAGTGTATGAATAAGCAGCCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGTGAAGCGTTATCCGGATTATTGGGTTTAAAGGTTGCGTAGGCGGGC
TGTAAGTCAGTGTGAAGCCTTCACTGTAAGTGGAGAACTGCCATTGATACTGCTGCCCTGAATTCGGTTGAAGTGGGCGGAATGTGTGGTGTAGCGGTGAAATGCATAGATA
TCACACAGAACCCGATTGCGAAGGCGACTCACTAAGCCGACATTGACGCTGAGGCACGAAAGGCGTGGGGAGCAAAAC
>Otu239
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCAACCCGCTGAGTGAAGAAGGCCCTCGGGTTGTAAGCTCTTTAGTGGGAAGATAATGACGGTAAACCCAGAA
GAAGCTCCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGGGCTAGCGTTACTCGGAATTAAGGCGTAAAGCGTGCAGTGGCGGCTTTGTAAGTCAGGAGTGA
CCTGGAGCTTAACTCCAGAAATGCTTTTGAAGTACATGGCTAGAATACCAGAGAGGATGGCGGAATTCCTAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTAGGAGGAACCCGGT
GCGAAGGCGGCTCATGCTGGTGTATTGACGCTGTTGACGAAAGGCGTGGGGAGCAAAAC
>Otu240
TCGAGAATCATTGCAATGGGCGAAGCCTGACGGTGCAGCAGCCGCTGGAGGATGAAGGCCCTAGGTCGTAACCTCTGTATCAGGGAGTAAAGGCTCGCGCAGTAACTG
GCGAGGCTCTGATAGTACCTGAAGAGGAAGGACGCGCAAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGTCCCGAGCGTTGTCGGATTACTGGGCGTAAAGGGTCCGT

AGGCGGCAAGGTAAGTCAGATGTGAAATCCCGGGGCTCAACCCCGAACTGCATCCGATACTGCCTTGTAGAGTATTGGAGGGGAGTCTGGAATTCTCGGTGTAGCAGTGAA
TGCCTAGATATCGAGAGGAACACTAGTGCCGAAGGCGAGACTCTGGACAATTACTGACGCTGAGGGACGAAGGCTAGGGGAGCGAAAA
>Otu241
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCAATCCCGCGTGGAGGATGACGCATTACGGTGTGTAACCTCTTTTGTGTAGAAGCAGACTGACGGTATACCAGGA
ATAAGAGACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAAGTCTCGAGCGTTATCCGGAGTACTGGGCGTAAAGGGTCCGTAGCCGGATCTATAAGTCTGTTTCAAAT
TCTTTCGCTCAACGAAAGGCGAGGAATAGATACTGTAGATCTAGAGGTTTTAGAGGTTAGTGGAAATCCAGTGGAGCGGTGAAATCGCTGTATTTGGGAGGAACCCCGAAA
GCGAAAGCAGCTAACTATAATTACCTGACGGTCAAGGACGAAAGCGTGGGAGCAAAACG
>Otu242
TGAGGAATATTGGACAATGGAGAACTCTGATCCAGCCATGCCCGGTGAGTGAAGAAGCGCTTAGGGTTGTAAGACTCTTCAATAGTGAAGATAATGACGCTAGCTATAGAA
GAAGCTCCGGCTAAATTCGTGCCAGCAGCCGCGTAAATACGAATGGAGCAAGCGTTTTCGGAATCACTGGGCTTAAAGCGTACGTAGCGGGATTTGCAAGTCAAGGAGTGAAT
CCCGGGGCTCAACCCCGAACTGCTCTTGAACCTGCAAACTAGAACTCTGGAGAGGTGAGTGGAAATCCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGCAGATATTGAGGAAACACCCAGT
GCGAAGGCGACTCACTGGACAGGTATTGACGCTGAGGTACGAAAGCGTGGGAGCAAAAC
>Otu243
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCAATGCCCGGTGTGTGAAGAAGCGCTTCCGGTTGTAAGCACTTTCAGTAGTGAGGAAAAGCAGCTGGTTAATACCT
GGCTGATTGACATTAGCTACAGAAGAAGCAGCCGGTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAAATACGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGTGGTACAGG
CGCTTGTAAAGTCTGGTTGAAAGCCCGGCTTAACTGGGAATTCGATCCGTAATCGAATGTAAGTGGAGGATAGTGGAAATTCGCGTGTAGCGGTGAAATGC
GTAGATATCGGAAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGACTGTCTGGCCCAACTGACGCTGAGGTACGAAAGCGTGGGTAGCAAAAC
>Otu244
TGAGGAATATTCCCAATGGGCGAAAGCCTGATGGAGCAGCCGCGTGGAGGAAGACGCTTCCGGGTGTAACCTCTTTTCAGGGACGAAGACAGTACGCGTACCTGA
GGAATAAGCACCGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAAAGCGTAGGGTGAAGCGTTTTCGCGAGTTACTGGCGTAAAGGGCGCTAGGCGGCGCGCGCTCGCACGT
GAAAGCCCCGCTCAACCCGGGAGGGTGTGCGAAACCGCGTCTTGTAGGACGTGAGAGGCGAGTGAATTCGCGTGTAGTGGTAAATGCGTAGATATCGGGAGGAAC
ACCAGAGCGAAGGCGGCTGCTGGCACTGACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGAGCGAAACG
>Otu245
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCAATGCCCGGTGTGTGAAGAAGCGCTGCGGGTTGTAAGCACTTTCAGTGGGGAAGAAAAGCCTGGGGCTAATACC
TCCGGTCTTGACGTTATCCACAGAAGAACCCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAAATACGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGTGGCGAG
GCGGTACAGTCAAGTGTGAAAGCCCGGGCTTAACTGGGAATGCACTGATAGTCTGCTGACTAGAGTGGGAGAGGGAAGTGGAAATTCGCGTGTAGCGGTGAAAT
GCGTAGATATCGGAAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGACTTCTGGCCCAACTGACGCTGAGGACGAAAGCGTGGGAGCAAAAC
>Otu246
TCGAGAATCTCGGCAATGGGCGCAAGCCTGACCGAGCAGCCGCGTGGGGATGAAGGCCCTGGGTTGTAACCCGCTGTAGAGGGGATGAAAGCGTAAAGTTCAGACAG
CCTCAGAGGAAGCGCGGCTAAGTTCTGTCAGCAGCCGCGTAAAGCGTAGGGTGAAGCGTTTTCGCGAGTTACTGGCGTAAAGGGCGCTAGGCGGCCACCAAGTCAAG
ATGTGAAATCCACAGCTCACTGTGGAACGGCATTTGAAACCGCGGGCTTGTAGTGAATAGAGGCATACGGAATTCGCGTGGAGCGGTGAAATGTGTTGAGATCGGAAGG
AACCCAGAGCGAAGCGGTATGCTGGAGTTTGTCTGACGCTGAGGACGAAAGCGTGGGAGCAAAACG
>Otu247
CTAAGAATCTTCCGAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAGCCGCGTGGGTGAAGAAGCGGTGAGTTGTAAGCCCTTTTCGCTGAGGAATAAGCCTGGGAGGGAATG
CCTGGGTGATGACGGTAGGGCAGGAATAAGCCCGCTAATACGTGCCAGCAGCCGCGTAAACACGTATGGGGCAGCGTGTTCGGAATTTAGGGCGTAAAGGGCGCGTA
GGCGAAGTACAAGTCTGGTGTGAAAGCCCGAGCTCAACTGCGGGCACGCGTGGAAACTGTACATCTTGAATCCTGAGGGGAACTGGAATTCCTGGTGTAGGGGTGAAAT
CTGTAGAGATCAGGAAGAACAATCGGTGGCGAAGGCGAGTTTCTGGCAAGTATTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGAGCAAAAC
>Otu248
TAACGAATCATTACAATGGGCGAAAGCCTGATGGTGAACCGCGGTGGGGATGAAGTCTCGGATCGTAACCCCTGTACCCAGGACTAACTGCAGGTTTCATAGCCTG
CACTGAATTAACCTGGAGAGGAAGCAGTGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAAATACGAGACTGCAAGCGTTACTCGGATTAAGTGGCGTAAAGGGTGGCTAGGCTGCA
TTGTGTCAAGTGTGAAATCTGGGGCTTAACTCCGAACTGCGCCTGAAACTCAATCTGAGGACTGCAATCTGAGAGTGTGGAGAGTGAAGTGGAAATTCAGGTTGATAGCGGTGAAATGCGTAGA
TATCTGGAGGAACCAATGGCGAAGGCGACTCACTGGACAACAAGTACGCTGATGACGAAAGCGTGGGAGCGAAAG
>Otu249
TCGAGAATCCTCCGAATGGACGAAAGTCTGACGGTGCAGCAGCCGCGTGGTGTGAAGTCTTCCGGACGTAACACCTTTTATGAGGGAGGAAGTTTATTGACGTTACCTCAT
GAATAAGGGGCTCCCACTCTGTGCCAGCAGGAGCGGTAATACAGAGGCCCAAGCGTTACCCGGATTACTGGCGTAAAGGGTGGCTAGGCGGTTGATTAGTCTTGTGTTA
AATATTTGGGCTTAAACCAATGCTGCATAGGAAACCGTACAACATAGAAAGAGCGAGAGTGAACAGAATCACTCGGTGATAGGGGTGAAATCCGTTGATATCTGGGGAATACCA
AATCGGAAGCGATTCAGTGGCGCTCTATTGACGCTGAGGACGAAAGCGTGGGTAGCGAAACG
>Otu250
TCGAGAATCATTGCAATGGGCGAAAGCCTGACGATGCGACGCGCGTGTGAGTGAAGAAGGCCCTCGGGTTGTAAGACTCTTTCGCTGGGAAACAAGAGAGGATGGCTAACATCC
ATCCAATTTGAGCGTACCAGTAAAGAAGCAGCCGGTAACTCCGTGCCAGCAGCTGCGGTAATACGAGGGTGAAGCGTTAATCGGATTCATTGGGCGTAAAGGGCGTAAAGGGCGTGG
CGAAATGAAAGTGAAGTGAAGTCCGAAGCTCAACTCCGAGCTGCAATTCGAGGCTGCAATCTGAGGACTGCAATCTGAGGATAGATGGAGAGAACGGAATTCACGTTGATAGCGGTGAAATGCGTAGA
GTAGATATGGAAGAACACCCGTGGCGAAGGCGGTTCTTAATTTATTCTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGAGCAAAAC
>Otu251
TTTCGAATCATTACAATGGGCGAAACCTGATGGTGAACCGCGTGTGAGGATGAAGCGCTTCCGGTGTGTAACCTCTGTACCAAGGAGCAACAAGCCGGTTTCATAGCCGG
CCCTGAGTTAACTGGAGAGGAAGCAGTGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAAATACGAGACTGCAAGCGTTACTCGGATTAAGTGGCGTAAAGGGTGGCTAGGCGGAT
AGGTGTGTTAGGTGTGAAATCTCGGGCTTAACTCGAAACTGCGCTAAAAGTGCCTATCTAGAGTATTGGAGAGTAAAGCGGAATTTCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAT
ATCAGGAGGAACCAATGGCGAAGGCGACTTACTGGACAATAACTGACGCTGAGGACGAAAGCGTGGGTAGCGAAAG
>Otu252
TGGGGAATCTCCGAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAACCGCGTGTGAGTGAAGAAGTTTTCCGATCGTAAAGCTCTGTTGCCAGGGAAGAACGTACCTTTGTTAATTGCA
GAGGTAGTACGGTACCTGAGAAGAAAGCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAAATACGTAAGGGGCAAGCGTTGTCGGAATTTAGGGCGTAAAGCGCGCGCAGG
CGGTCAAGTAAGTCTGGTGTAAAGCCAGGGCTCAACCTGGTACGCACTCGGAACCTGCGTACTTGGAGTGTAGTGCAGGAGAGGAAAGTGGAAATTCACGTTGATAGCGGTGAAATGCG
TAGAGATGTGGAGGAACCAAGTGGCGAAGGCGACTTCTGGCTGCAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGAGCAAAAC
>Otu253
TGGGGAATCTTCCGAATGGGCGAAAGCCTGACGAGCCAGCCGCGTGGGGACGAAGGCCCTCGGGTGTGTAACCCCTTTCAGCAGGGACGAAATGACGGTACTGACGAGA
AGAAAGCCCGGCAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAAACGTAAGGGGCGAGCGTTGTCGGAATTAAGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTTGTAAGTCAAGTGTGAA
AATCCGGGCTCAACCCGGGACGCCATCTGATACTGCTGTACTGACTAGTCCGGTGTAGAGGAGTGTGAAATTCGCGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCGGAGGAACACC
AACGCGAAGGCGACTCTGGCGGCACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGTAGCAAAAC
>Otu254
TGAGGAATCTTCCGAATGCACGAAAGTGTGACGGAGCTATGCCGCTGCCGGATGACGCGCTTCCGGTTGTAACCGCTGCTCTGGGGACGAAATTTTACGGTACCCAGAG
AGAAAGTAGTTGCTAACTCTGTGCCAGCAGCAGCGGTAATACAGAGACTACGAGCGTTGACCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGTGCAGCGGCTGTGATAAGTCAATTTGTTAA
ATCTTCAAGCTCAACTGGAGGACGGAATGAAACTACAACTAGAGGACGGGAGAGTGTAGGCGGAATGCTGGTGTAGGGGTAATCCGTTAAGATCAGGTGAACACCA
AAAGCGAAAGCAGCTACTGGAACGATCCTGACGCTGATGACGAAAGCGTGGGTAGCAAAAC
>Otu255
TGAGGAATCTTCCGAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAATGCCCGGTGCGGGATGAAGCGGCTTCCGGTGTAAACCGCTGTGAGGGTGCAGGAACAATGACCACCCAAA
GGAAAGGGCGGCTAAACTCGTCCAGCAGCCGCGTAAATACGAGTGGCCAGCGTTAATCGGAATCACTGGGCTTAAAGGGTGCAGCGGATCCGCAAGCATCTCGTGAA
AGCCCCGGCTCAACCCGGGAACTGCGGGGTGAACTGCTGATCTTGTAGGAGGAGTGGGGTGTGAAACCATGGGTGGAGCGGTGAAATGCGTAGATATCCATGGGAACGCC
GATGGCGAAGGCGACTGAGTGGGCTGTCTGACGCTCAGGACGAAAGCGTGGGTAGCAAAAC
>Otu256
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCAATGCCCGGTGAGTGTGAAGCGCTTAGGGTTGTAAGACTCTTTCGCGGGGACGATAATGACGGTACCCGAGAG
AGAAGCCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAAATACGAGGGGCTAGCGTTGTCGGAATTAAGGGCGTAAAGGGCGCTAGGCGGTTTGTCTAGTACGCGGTGAA

AGCCCCGGGCTAACCTGGGATGTGCGCTGATACTGGCAGGCTCGAGTCCGGGAGAGAAAGCGGAATCCACAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGGGAAGAACCA
 GTGGCGAAGCGCGCTTCTGGACCGTACTGACGCTGAGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
 >Otu257
 TGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCAATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCTGCGGGTGTAAAGCACTTTCAGTGGGGAGGAAAGCTTCAGGTGAATAGC
 CTGGAGTGTGACGTTACCTACAGAAGAAGCACCAGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTAAGCGCAGCTAG
 GCGTTCGTTAAGTTAGCTGTGAAAGCCCCGGGCTTAACCTGGGAAGTCAAGTAACTGCGAGCTAGAATCTGGCAGAGGGTGTGAAATCCCGGTGTAGCGGTGAAATG
 CGTAGATATCGGGAGGAACACCAGTGGCGAAGCGACTACCTGGCCAAAGATTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
 >Otu258
 TGAGGAATATTCACAATGCGCGAAAGCCTGATGGAGCAATGCCGCGTGCAGGATGAAGCCCTCGGGGTGTAACTGCTGTGAGGTTTACCAACACCATGAGGAAACCCAAA
 GGAAAGGCCCGCTAATTCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGCCGAGCGTTGCGCGATTACTGGGCTTAAAGGGTGCAGCGGACTCGCAAGAACTTTGTGAA
 ATCCACAGCTCAACTGTGAAATTGCTTGTAACTGCGGGTCTTGAAGCCGCGAGAGTCTGCGAACTGTAGTGGAGCGGTGAAATGCGTAGATATCTACAGGAACCCAAA
 AGGTGAAGACAGCGACTGGGCCGGTGTGACGCTCAGGCACGAAAGCGTGGGTAGCGAAGC
 >Otu259
 TGGGGAATCTTCCACAATGGGCGAAAGCCTGATGGAGCAATGCCGCGTGTGAGTGAAGAAGTTTTCCGATCGTAAAGCTCTGTGTTAGAGAAGAATAAGAGGTGTAGTAAGTGG
 CACTCTTTGACGGTACTAACCAGAAAAGTACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGACAAGCGTTGTCGGATTATTGGCGTAAAGCGCAGCGCAGG
 CGGTCTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCAITGGAACTGGAAGACTTGAATGCAAGAAGGAAAGTGGAAATCCATGTGTAGCGGTGAAATGC
 GTAGATATGAGGAACACCAGTGGCGAAGCGACTTCTGTCTGTAAATTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCGAAACA
 >Otu260
 TGGGGAATCATTACAATGGGCGAAAGCCTGATGGTGCACGCCGCTGGGGATGAAGGCTTCGGGTGTAAACCCTGTCATTAGGGAGCAAAAAGCAGGTTTATAGCCT
 GCCTTGTAGTTAACTAAGAGGAAGCAGTGGCTAATCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGACTGCAAGCGTTACTCGGATTCACTGGGCGTAAAGGGTGCAGTGGTGT
 CAGGTATGTCAGGTGTGAAAGCCCGAGCTCAACTCGGAACTGCGCTGAAACTACCTGGCTTGTGAGAGGATAGCGGAATTCGGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAG
 ATATCGGAAGGAACCAATGGCGAAGCGACTATCTGGACAAGTACTGACGCTGAGGCACGAAAGGTGTGGGGAGCGAAA
 >Otu261
 TGAGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGTCTGATCCAGCCATGCCGCGTGCAGGAAGAATGCCCTCGGGTGTAACTGCTTTTATATGGGAATAAACCTCCACGTGTGGAGA
 GCTGAAGGTACCATATGAATAAGCACCAGGCTAATCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGTGCAAGCGTTATCCGGATTATTGGGTTTAAAGGGTCCGTAGGTGGAAT
 TGTAAGTCAGTGGTGAATCTTTGCGTTAACCGGAAACTGCCATTGATACTGACGTTCTTGTAGTGTGCTGAGGTAGCGGGAATATGTCATGTAGCGGTGAAATGCATAGATA
 TGACATGGAAACCAATAGCGAAGCGACTACAGATCTGAATGACACTGAGGGAGCAAAGCGTGGGGAGCAAACA
 >Otu262
 TGGGGAATCATTACAATGGGCGAAAGCCTGATGGTGCAGCAGCCGCTGGGGACGAAAGTCTTCGGATTGTAAACCCTGTACCAGGGAAGAAACCTCATTCAACAAATG
 GGTGCGCTGACTTAACCTGAGAGGAAGCAGTGGCTAATCTGTGCGCAGCAGCCGCGTAATACGGAGACTGCAAGCGTTATTTCGGATTCACTGGGCGTAAAGGGTCCGTCAGG
 CGGTGCGTGTGTCAGGTGTGAAATCTCGGGCTTAACCCGAAACTGCGCTGAAACTACGTGACTAGAGACTGGAGAGGGTAGCGGAATTCACGGGTGTAGCAGTGAATGC
 GTAGATATCGTGAGGAACACCAGAGCGAAGCGGCTACTGTGACAATGCTGACGCTCAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAATG
 >Otu263
 TGAGGAATCTTGGACAATGGGCGAAGCCTGATCCAGTGTGTCGCGTGTGATGAAGCGTTTTTTGTGTAATACTTTTATCGGAGAAAAAGATGATGGTATCCGAAGAAT
 AAGTCTGGCTAATTCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGGAAGGACTAGTGTATTCTATTAAATTTGGCGTAAAGGGTGTGTAGGCTGCCTAATAGTGTAGTGAATCC
 CAAAAAGTGGGAATGCTTAATACTGATAGGCTAGAGTTAAAGAGAGGTAGTGAATTTCTAGTGTAAAGGATAAAAATCTGAAGATATTAGAAGGAATCTCAAAGCGAA
 GGCAACTAACTGGCTTTACTGACGCTGAGACACGAAAGTGTGGGGAGCGAAACA
 >Otu264
 TGAGGAATATTGGCAATGGGCGCAGCCTGACCCAGCCATGCCGCGTGCAGGAAGACCGCTTATGGGTTGTAAACTGCTTTTATATGGGAATAACCTATCCACGTGTGGG
 TACTGTATGTACCATATGAATAAGCATTGGCTAATCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGTGCAAGCGTTATCCGGAATCATTGGGTTTAAAGGGTGCAGTGGCGGAT
 AAGTAAAGTCAGTGGTGAATACCCGTGCTCAACATGGGGGCTGCCATTGATACTGATGTTTATAGAGTTTGTAGCTTGGCGGAATGTGTATGTAGCGGTGAAATGCATAGAG
 ATGACACAGAACCAGATAGCGAAGCGAGCTGACGAAACTGAAACTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
 >Otu265
 TGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCAATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCTGCGGGTGTAAAGCACTTTTATCAGGAAAGAAACCGCCTGGGCTAATACCC
 CATGGCAATTGACGGTACCTGATGAATAAGCACCAGGCTAATCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTAAGCGTAAAGCGTGCAG
 GCGGCTGACTAAGTGGATGTGAAATCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATTGATACTGTTGCGCTAGAGTCTGGTAGAGGTAAGTGAATTCGGGTGTAGCGGTGAAATG
 CGTAGATATCCGAGGAACACCAGTGGCGAAGCGGCTACTGACCAAGACTGACGCTCAGGCACGAAAGCGTGGGTGACAAACA
 >Otu266
 TGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAGCCTGATCCAGCAATGCCGCGTGAATGATGAAGGCTTAGGGTTGTAAAGTCTTTTAGTTGAAAGATAATGACGGTACCAACAGAA
 AAGCCCCGGCTAATCCGTGCCAGCAGCCGCGTAAGACGGAGGGGCTAGCGTTGTTGCGAATTAAGCGTAAAGGGCGTAAAGGGTGCAGGCGGATAGTAAAGTGGGAGTGAAA
 GCCGCGGCTTAACTCGGAAGTCTTTCAAACTGCTAGTCTTGTAGTGAAGTAGGGGATGATGGAATCTAGTGTAGAGGTGAAATCTTAGATATTAGAGGAACACCAGCGT
 GCGAAGCGGTCTATGACTTCACTGACGCTGAGGCAGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
 >Otu267
 TGAGGAATATTGGCAATGGACGCAAGTGTGACCCAGCCATGCCGCGTGCAGGAAGACAGCCTTATGGGTTGTAACTGCTTTTATCAGGAAATAAACCCCGGTGCGCACCG
 GGGCTGAAGGTACCTGAAGAATAAGCACCAGGCTAATCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTATCCGGATTATTGGGTTTAAAGGGTGCAGGCGG
 GTTTGTAAGTCAGCGGTGAATCTACGGCTCAACCGTAGAAGTGCATTGATACTGACAGCCTTGTAGTATTGAAGTGGCGGAATGTAGCATGTAGCGGTGAAATGCATAG
 ATATGCTACAGAACCATTGCGAAGCGAGCTCACTAACTACAAGTACGCTGATGCAGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
 >Otu268
 TAACGAATCTCCGCAATGCGCAAGCGTACGGAGCAATGCCGCGTGCAGGATGAAGCCCTCGGGTGTAACTGCTGTGAGGTTTGAAGACACAATGACCAGACCCAAA
 GGAAAGGCCCGCTAATCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACAGAGGGTGCAGCGTTAATCGGAATCACTGGGCTTAAAGCGTGCAGTGGCGGATCCGCAAGTACTTTGTGAAA
 TCCACAGCTCAACTGTGGAAGTCTTGTAGACTCGGATCTTGAGATCGGTAGGGTGTGCGGAATCTAGGTGAGCGGTGAAATCGTAGATATCTAGAGGAACCCAAA
 GGGGAAGCCAGCAGTGGGCGGATTCTGACGCTGAGGCAGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
 >Otu269
 TGAGGAATATTGGACAATGGACGCAAGTGTGAACCAGCCATGCCGCGTGCAGGAAGAATGCCCTAGGGTGTAACTGCTTTTATTAGGATAAACCCCCGACGTGTGGG
 GGCTGAAGGTACTAAATGAATAAGCACCAGGCTAATCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTATCCGGAATCATTGGGTTTAAAGGGTCCGACGGCGGAC
 GTATAAGTCAGTGGTGAATCCATCGCTAACGATGGAAGTGCATTGATACTGTGTTGAAATTCGGTGAAGTAGCGGGAATGTGTATGTAGCGGTGAAATGCATAGAT
 ATGACACAGAACCAGATAGCGAAGCGAGCTTACTAGGCTGAATTGACGCTCATGACGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
 >Otu270
 TGGGGAATATTGGACAATGGGGGAAACCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGATGAAGGCTTAGGGTTGTAAAGTCTTTTGGCGGGGACGATAATGACGGTACCCGAGAA
 ATAAGCCCCGGCTAATCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGGGTACGCTTGTGCGAATCACTGGCGTAAAGCGCAGTAGGCGGACTGTAAAGTCAAGGGTGA
 ATCCCGGGCTCAACCTCGGAAGTCTTTGATACTGCAAGTCTGAGTCCGAGAGAGGTGAGTGGAAATCTAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTAGGAAGAACACAGT
 GGCGAAGCGGCTACTGGCTCGTACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
 >Otu271
 TGGGGAATCATTACAATGGGCGAAGCCTGATGGTGCATGCCGCGTGGGGATGAAGGCTTCGGATTGTAAACCCTGTCACCAGGGACTAAACCGACGTGAAGAGCGTGC
 CTGAATTAACCTGGAGAGGAAGAGGTGGCTAATCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGACTCGAGCGTTACTCGGATTCACTGGGCGTAAAGGGGAGCGCAGCGGCA
 AGTGTGTGAGGTGTGAAATCCCGGGCTTAACCTCGGAACTGCGCTGAAACTACTTGGCTTGTAGACTCGGAGAGGTAAGCGGAATTCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAT
 ATCTGGAGGAACCAAAAGCGAAGCGAGCTTACTGACGAGATCTGACGCTCAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
 >Otu272
 TGGGGAATCTTGCAGCAATGGGCGAAGCCTGACGCAAGCAGCCGCGTGTGGGAAGACGCGTTTCGGGTTGTAAACCCTTTCAGGGGGACGAAAGCTTCGGGGTTAATAGC
 CTACGGGTGACGGTACCCCGAAGAAAGCCCCGGCTAATACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGGCGAGCGTTGTCGGGAATCATTGGGCGTAAAGCGGTGTAG

GCGGCTTGGTAACTGTGGTGTGAAACCTTGGGGCTCAACCCCAAGCCTGCACTGATCTGCCTCGTTGAGTCCGGGAGGGGAGAGCGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATG
CGCAGATATTAGGAAGAACACCCGGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGAACGGTACTGACGCTGAGACGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACA
>Otu273
TGAGGAATCTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGAGCGACGCCGCTGGGTGAGGAAGGCCAAAGGTTGTAAGCCCTTTCTTCTGCTGAGGAATAAGCCTGGGAGGGAATG
CCTGGGTGATGACGGTAAGCAAGGAATAAGCCCGGTAATTACGTGCCAGCAGCCGCGTAACTACGTATGGGGCAGCGTTGTTCCGGAATTTAGGGCGTAAAGGGCACGCA
GGCGGCTTTGTAAGTCTGGTGTGGAAGACCCGAGCTTAACGTCCGGGAACGCGCTGGAAACTATAAAGCTTGAGTTTAAAGAGGGGAACCCGGAATTCAGGTGTAGGGTGAAA
TCTGTAGATATCTGGAAGAACACCAGCGGCGAAGCGGGTTTCTATCTAGAAGTACGCTGAGGTGCGAAAGTGTGGGGAGCAAAACA
>Otu274
TGGGGAATTTTGGCAATGGCGAAACCTGACGAGCAGCGCCGCTGGGTGATGAAGCCCTTGGGTCGTAAGCCCTGTCGGGAGGGAAGAACACCCGCGAATTAATAC
GTCGTCCGCTGACCGTACTCTTAAGGAAGCACCGGTAACCTCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTTTCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGCGTGA
GGCGGCTTTAAGTCTGGTGTGAAAGCCCGGGCTCACCCCGAAGTGCAGTGGAACTGGGAAGTAGAGTACCAGGAGAGGGGGTGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAA
TGCGTAGATATCAGGAAGAACACCCGGTGGCGAAGGCGGCCCTCTGGACGGATACTGACGCTGAGACGCGAAAGCGTGGGGAGCAAAACA
>Otu275
TGGGGAATCTTAGACAATGGGGGAAACCTGATCTAGCCATGCCGCTGAGTGAAGAAGCCCTAGGGTCGTAAGCTCTTTCGCGAGGATGATAATGACAGTACCTGGTAAA
GAAACCCCGGTAACCTCGTCCAGCAGCCGCGTAACTACGGAGGGGTTAGCGTTGTTCCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGCGCTAGGCGGACTATTAAGTCAAGGGTGAAA
TCCCGGGCTCAACCCGGAACCTGATCTGATCTGATCTGAGTGTGAGTGTGAGAGGTAAGTGGAAATCCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAGGAACACCACT
GGCGAAGGCGGCTACTGCTGATACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAAACA
>Otu276
TGGGGAATCTTGGACAATGGGGGAAACCTGATCCAGCCAGCCGCTGACCGATGAAGGCCCTTGGGTCGTAAGGCTCTTTCAGCGGGACAATAATGATGGTACCCGCGAGAA
GCAGGAGCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAACTACGTAGGCTCAAGCGTGTTCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGAGTGTAGGCGGCTCTGCAAGTCAAGTGTGAAAT
CTCCCGGCTCACTGGGAGGGTGGGTCGAAACTGACAGACTAGAGTTCGGGAGAGGAGAGTGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCAGGAGGAACACCCGGT
GGTGAAGACGGCTCTGGATCGATACTGACGCTGAGACTCGAAAGCGTGGGTAGCAAAACA
>Otu277
TGGGGAATATTGGACAATGGGGGAAACCTGATCCAGCCATGCCGCTGAGTGTGAGGAGGCTTGGGTCGTAAGGCTCTTTCACAGGGATGATAATGACAGTACCTGGAGAA
TAAGCTCCGCTAACTCGTGCCAGCAGCCGCGTAACTACGGAGGGGAGTACGTTGTTCCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGCACCTAGGCGGCTTTTAAAGTCAAGGGTGAAAT
CCCGGGGCTCAACCCGGAACCTGCTTGAAGTGGGAAGCTAGAATCTGGAGAGCGAGTGAATTCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAAGAACACCCAGT
GCGAAGCGACTCGTGGACAAGTATTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAAACA
>Otu278
TGGGGAATCTTGGCAATGGGGGAAAGCCTGACGAGCAACGCCGCTGTGGGAAGAAGGCCCTTGGGTTGTAAGCTCTTTCAGGAGGGAAGAAGCGTTTGTGACGGTACCT
CCAGAAGAAGCCCGGCAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAACTACGTAGGGGCGAGCGTTGTCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGCACCTAGGCGGCTTTTAAAGTCAAGGGTGAAAT
GTGAAATCTCAGGGCTCAACTCTGAAACTGCACCTGATACTGTGACAGTTCGAGGAGGAGAGTGAATTCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAAGAACACCCAGT
ACCGTGGCGAAGGCGGATCTGGGCTGTCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCAAAACA
>Otu279
TGAGGAATTTGCACAATGGAGGAAACTCTGACGAGCCAGCCGCTGACGGAAGAAGTCTATGGATCGTAACTGCTTTTATTCGGGACGAATGGGAAGGTTTCGACCTT
GAGTGACGGTACCGATTGAATAAGCACCGGTAACCTCGTGCCAGCAGCCGCGTAACTACGGAGGGTCAAGCGTTGTCGGAATCATTGGGTGTAAAGGGTGCCTAGGCGGG
TTTTTAAGTCTGGGGTGAAGTCTGGGCTCAACCGTAGGATGCTTGGATCTGGAGACCTGAGTGAACAGAGCCCGTAGAATTCGTGGTGTAGCGGTGAAATGCATAG
ATATCAGGAAGAATACCACTGGCGTAGGCGCCGCTGGGTTACAAGTACGCTGAGGACGAAAGCGTGGGGAGCAAAACA
>Otu280
TGAGGAATTTGCACAATGAGCGAAAGCTTACGCGAGCAGCCGCGTGGGCGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAAGCCCTTTCTAGGTGACGAGAACCGGACGCTAGCCTAGG
AAGAAGTGTGGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAAACGTTAGGACGCAAGCGTTATCCGAGTACTGGCGTAAAGCGCGCAGGCGGATGTTAAGTCACTATGAA
AGCTCTGGCTAAACTGGGAGAGGCTGGATGATACTGGCGCTGAGAGAGAAGCAGAGGAAGGTAGAATTCGCGTGTAGTGGTGAATTCGTAGATATTCGGGAGGAATACCA
GTGGCGAAGGCGGCTTCTGGGCTCAACTGACGCTGAGACGCGAAAGCATGGGTAGCGAACG
>Otu281
TGAGGAATATTCCGCAATGCGGAAAGCGTACGCGAGCAATGCCGCTGAAAGTGAAGCCCTCGGGTGTAACTTCTGTAGATATAGCAACACAATGAGCAAGTCCAAA
GGAAGAGGCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAACTACAGAGGCTCAAGCGTAACTCGGAGTTACTGGGCTAAAGGGTGCCTAGGCGGCTGCAAGTGCCTGTGAAA
TCCACGGCTCAACCGTGAATGCTTGTAGACTGACGAGTGTAGGTTGGTAGGGTGCCTGAACTCAGGTGAGCGGTGAAATGCGTAGATATCTAGAGGAACACCCAAA
CGTGAAGACAGGCGACTGGCCAAATCTGACGCTGAGGCAGGAAAGCGTGGGGAGCAAAACG
>Otu282
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAGGCTGATCCAGCCATGCCGCTGAGTGTGAGGAGGCTTGGGTCGTAAGGCTCTTTCAGCGGTGAAGATAATGACGGTAAACCGTAGAA
AAGCCCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAACTACGAAGGGGGTAGCGTTGTTCCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGCACCTAGGCGGATGTTTGTAGGGGGTGA
TCCAGGGCTCAACCTGCACTGCTCATACTGCAATCTGAGTTTGGAGAGGTTGAGTGAATTCGCGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAGGAACACCACT
GGCGAAGGCGGCTACTGGCCAAAAGTACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAAACA
>Otu283
TGGGGAATCTTGGCAATGGGGGAAAGCCTGACGAGCAACGCCGCTGGGGAGCAAGGCTTGGGTCGTAACCCCTTTCAGCAGGAGCAAACTGACGGTACCTGCAGA
AGAAGCCCGGCAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAACTACGAGGGGGAGCGTTGTCGGGATTTAGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTTTCGGTAAAGTGCATGTGAA
AGTCCAGGGCTCAACCTGGGAAGCCATCTGATACTGCTGACTAGAGTCCGCTAGGGGAGCGTGGAAATTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACC
AGCAGCGAAGGCGGCTCTGGGCGGCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACA
>Otu284
TGGGGAATATTGGACAATGGGGGCAACCTGATCCAGCCATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCTTGGGTCGTAAGGCTCTTTCAGCAGGGAAGATAATGACGGTACCTGCAGAA
GAAGCCCGGCTAACTCGTCCAGCAGCCGCGTAACTACGGAGGGGCTAGCGTTGTTCCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGCGCTAGGCGGATGGCAAGTTGGGGGTGAAA
TCCCGGGCTTAAACCCGGAACCTGCTCATACTGCAATCTGAGTTTGGAGAGGTTGAGTGAATTCGCGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAGGAACACCACT
GGCGAAGGCGGCTACTGGCCAAAAGTACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAAACA
>Otu285
TCGAGAAGCTTGGCAATGGGGGAAACCTGACCGAGCAGCCGCGTGGGGATGACGCATCTTGGTGTGTAACCTCTTTCGCGGGGAAGAAGGCTGGATGGTGAATC
CGGTTTGGAGCGTACCAGGAAAAGAACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAACTACGGGGGTCGAGCGTATTTCGGAATTTATTGGCGTAAAGGGCGCGTAGGC
GGCCTGATCAGTTTGGTGTGAAACGCTACCGCTAACGGAGCGAATGCGCTGAATACTGTCAGGCTTGGGCTGGAGAGGCGAGCGAATGAGTGGTGTAGCGGTGGAATG
CGTAGATACACTCGGAACACCACTGGCGAAGGCGGCTCGTGCCAGCATCTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCGAAGC
>Otu286
TGAGGAATATTGGCAATGGTCGAGAGACTGACCCAGCCATGCCGCTGACGGAAGAGCGGCTTATGGGTTGTAAGTCTTTTGAAGGGACTAACCTGACTACGTGTAGTG
CACTGATGTACCTACGAATAAGCATCGCTAATCCGTCAGCAGCAGCCGCGTAACTACGGAGGGTCAAGCGTTATCCGGAATCATTGGGTTTAAAGGGTGCCTAGGCGGGC
TAGTAAGTCAAGTGGTAAATCCTGTGCTCAACATGGGGCTGCCATTGATACTGTTAGTCTTGAAGTGTAGTTCGAGTGGCGGAATGTGATGTAGCGGTGAAATGCATAGAG
ATGACACAGAACCAGATAGCGAAGGCGCTGACGAAACTAAAAGTACGCTGATGACGAAAGCGTGGGGAGCAAAACA
>Otu287
TGGGGAATATTGGCAATGGGGGAAAGCCTGACGAGCCAGCCGCGTGGGTGATGAAGGCCCTTGGGTTGTAAGGCTCTGTGGGAGGGAAGAAGATCTGACGGTACCTCCC
AAGAAGCGCCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAACTACGGAGGGTCAAGCGTTGCTCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGGACGAGCGGCTTGTCAAGTCAAGTGTG
AAAGCCCGGGCTCAACCCGGAATGCACTTGAAGTGGCAACTGGAGTACGGAGAGGAGAGCGGAATTCCTGGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATCAGGAGGAACAC
CAGTGGCGAAGGCGGCTCTGGCCGATACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGTAGCAAAACA
>Otu288
TGAGGAATATTGGCAATGGGGGAAACTCTGACGAGCCAGCCGCTGACGGAAGAAGTCTATGGATCGTAACTGCTTTTATTCGGGAAGAATGTTGGCTTTCGAGCTG
ATTTGACGGTACCGATTGAATAAGCACCGGTAACCTCGTGCCAGCAGCCGCGTAACTACGGAGGGTGTAGCGTTGTCGGGAATCATTGGGTGAAAGGGTGCCTAGGCGGGC

CTTTAAGTCTGGGGTAAATGCTGCGGCTCAACCGTAGCACTGCTTGGATACTGGAGGCTTTGAGGGTAACACAGGCCGGTAGAATTCGTGGTGTAGCGGTGAAATGCATAGA
TATCACGAAGAATACCAAGTGGCGTAGCGCGCCGGCTGGTCACAACCTGACGCTGAGGACACGAGAGCGTGGGGAGCGAACA
>Otu289
TGAGGAATCTTGCGAATGAGGCAACTCTGACGACGCCAGCCGCGTGCAGGAAAGCGCCCTATGGGTTGTAACCGGCTTTGATTGGGAAGAAAGGGTGGGTTTACCTG
TTTTGACGGTACCGATTGAATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTGTCGGGAATCATTGGGTGTAAGGGTGCAGGCTGGC
TCTTAAGTCTGAGGTGAAATCTTGGCGTTAACCGTAAATGGCCCTGGATACTGGGAGTCTTGAATCTGACAGAGGTCCGGTGAATTCGTAGTGTAGCGGTGAAATGCATAGAT
ATTACGAAGAACCAGTGGCGAAGGCGCGGCTGGTGCAGTATTGACGCTGAGGCACGAGAGCGTGGGGAGCGAACA
>Otu290
TGAGGAATATTGGTCAATGGGCGAAAGCCTGAACGACCATCCGCGTGCAGGATGACGCCCTATGGGTTGTAACCTGCTTTTACGCCAAGAAGCGCCCTACGTGTAGGG
CACTGACGGTAGCGTAGGAATAAGCATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGATGCAAGCGTTATCCGGATTATTGGGTTAAAGGGTGCAGGCGGG
AAAGTAAGTCAAGTGTGAAAACTGCGCTCAACGGTAGTCTGACATTGATACTGCTTTTCTGAGTTGGATGAGGTAGGCGGAATGTCAGTGTAGCGGTGAAATGCATAG
ATATTGCACAGAACAATTCGGAAGGCGACTTAATCCACGACTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCGAACA
>Otu291
TGGGGAATATTGGCAATGGGGCAACCTGATCCAGCATCCGCGTGTGTGAAGAAGCCCTAGGGTTGTAAGCACTTAAAGTTGTAAGAAGGCTGGCGGCTAATAAGT
CGTCCGATTGACATTAGCAACAAGAAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGGTAGG
TGTTTTTAAGTCAAGTGTGAAGAAGCCCGGCTCAACCTGGGAAGCTGACACTGGCAGGCTAGAGTATGTTAGAGGAGGTAGAAATCCACGTGTAGCGGTGAAATGC
GTAGAGATGTGGAGGAATACCAAGTGGCGAAGGCGCCCTCTGACTAAACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu292
TGGGGAATTTTGGCAATGGGGCAACCTGATCCAGCATCCGCGTGTGTGAAGAAGCCCTAGGGTTGTAAGCACTTTTGGCAGGAAAGAAATGGCCCGGCTAATACCC
TGGGTGGATGACGGTACTGCAGAATAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCAG
GCGGTTGGAAGAAAGATGTAAATCCAGGGCTCAACCTTGAATGGCAATTTTAACTCCGACTAGAGTGTGTAGAGGGGGTGGAAATCCGCGTGTAGCAGTGAATG
CGTAGAGATGCGGAGGAACCCGATGGCGAAGGCGCCCTGGGATAATACTGACGCTCAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu293
CCGGGAATATTGCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGCGACGACCCGCGTGTGGGAAGAAGCTCTCGAGTGTAAACCACTGTGGCGGGGATGAAATTTGACAGTACCCGC
TAGAAAGCACAGTAACCTGACGCAAGCTTCGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTATCCGGATTTACTGGGCGTAAAGGGTCCGTCGGCCTTTGGTAAAGTTCTGTCCA
ATACTGGGGCTCAACTCCAGAAGGCGCAAAAAGCTGCAAAAATAGAGTCTGTTGAGGAAGCTAGAAATCTTGGTGGAGGGGTGAAATCCGTAGATATCAAGAGGAATACCCG
GCGGAAGGCGAGGCTTAGGACACGACTGACGCTCAGGGACGAAAGCTTGGGTAGCAAAA
>Otu294
TGGGGAATATTGGACAATGGGGAAACCCCTGATCCAGCAATGCCCGTGTGATGAAGCCCTAGGGTTGTAAGCTCTTTCAACTGTGAAGATGATGACGGTAACAGTAGAA
GAAGCTCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGTAGCTTTGCGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGGTAGCGGTTCTGTAAAGTTAGAGTGAAT
CCCCGGGCTCAACTGGGAAGCTTTTAAAGACTGACAGGACTGAGGACGAGAGGAAAGTGAATTCCTAGTGTAGAGGTGAAATCCGTAGATATTAGGAGGAACACCAAGT
GCGAAGGCGACTTTCTGGCTGTATCTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu295
TGGGGAATCTCCACAATGGGCGAAAGCCTGATGGAGCAACCGCGTGCAGGATGAATGCCCTCGGTTGTAACCTGCTTTTATAAGTATGATTGACGGTAACTTATGAAT
AAGGATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTGCAGCAGGAGTCAAGCGTTATCCGGAATGACTGGGCGTAAAGAGTTGCGTAGGCGGCACTGTAAGCGTGTAGTAAA
TCATGGGGCTCAACTCATGCTATTACGCGAAGTGCAGAGCTAGAGCATATGAGGGGTACTGGAATTCCTAGTGTAGGAGTGAATCCGTAGATATTAGGAGGAACCAAT
GGCGTAGGCGAGGCTAGCATATTGCTGACGCTAAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCGAAGC
>Otu296
TGGGGAATATTGCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGCGACCAAGCCGCGTGGGGATGAAGCAATTCGGTGTGTAAACCCCTGTTGCCCGGACGAAACCGCTTTTCGAGGGCTC
TGACGGTACCGGGTGAAGAACCCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACAGAGGGTGCAGCGTTGTCGGGAATCACTGGGCGTAAAGGGCGCGTAGGCGGCCG
ACTAAGTGTGGTGAAGTGTGAAAGCCCGGGCTCAACCCGCGTATTGCAATTTAAACTGGTGGCTGAGCACTGTAGAGGCAAGTGGAAATCCGGTGTAGCGGTGGAATGCGTGA
GATCCGGAAGAACACCGGTGCGAAGGCGGCTGCTGGGCGTAGCTGACGCTGAGGCGGAAAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu297
TGGGGAATCTTAGACAATGGGGCAACCCCTGATCTAGCCTAGCCGCTGAACGATGAAGCCCTAGGGTTGTAAGCTCTTTCACTGGGGAAGATAATGACGGTACCCACAGAA
GAAGCCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGGCTAGCCTGTTTGGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGGTAGGCGGATCGGAAAGTTGGGGGTGAA
ATCCCGGGCTCAACTCGGAAGCTGCTTCAAAATATCGTCTTGAAGTCTGAGAGGTTGAGTGGAAATCCGAGTGTAGAGGTGAAATCCGTAGATATTGAGGAGAACACCAAGT
GGCGAAGGCGGCTACTGCCCCATACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu298
TGGGGAATATTGCGCAATGGGGAAACCCCTGACGCGACCAAGCCGCGTGAACGACGAAAGCCTCGGGTCGTAAGTCTGTCAAGTGGGACGAAGTCTTAACGTTAACAGCC
GTTGAGGTGACGGTAACTAAAGAGGAAGCTCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGAGCAAGCGTTGTCGGGAATTACTGGGCGTAAAGGGCGCGTAGG
CGGCCACTTAAGTTAGATGTGAAAGCCCGGGCTCAACCCGCGTATTGCAATTTAAACTGGTGGCTGAGGTTGAGGTTGAGAGGAGGAAAGTGGAAATCCGTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTGA
GTAGATATTAGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGCTGACACTGACGCTGAGGCGGAAAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu299
TGAGGAATATTCCGCAATGCGCGAAAGCGTGCAGGAGCAATACCGCGTGTGGATGAAGCCCTCGGGTGTAAACCTGTGACGATGTAGAAACACAATGATCGGATCCAAA
GGAAAGGACCGGCTAACTCGTCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGTCAAGCGTTAATCGGAATCACTGGGCTTAAAGGGTGCAGGCGGTTAGCGGGTGGCAAGTGCCTTTAA
ATCCACCGGCTCAACCGTGAAGTCTGGGTATACTGCCGATCTGAGGCGGTTAGGGGCAAGTGGGAATCTAGGTTGAGGCGGTGAAATGCACAGATATCTAGAGGAACGCCAA
AGGTGAAGACAGACTGCTGGGCGGCTACTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu300
TCGAGAGGCTTGGCAATGGGGAAACCCCTGACCGAGCAGCCGCGTGGAGGATGAAGCCCTCGGGTGTAAACCTCTTTGGCGGGAAGAAAAGCCGGTGAATTTTACCCG
GTGTGATCGACCCGCGAAGAACCCCGGCTAACTCGTGCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGGCAAGCGTTATTCGGATTTATTGGGCGTAAAGGGCGCGTAGGCGGCT
GGGCAAGTCTGGTGAAGACGCTACCGCTTAACGGAGCGATTGCGCTGGAAGCTGCTCAACTGAGTTGAGTGTAGAGAGGTTGACAGAAATGCTGTTGAGCGGTGGAATGCTTA
GAGATCAGGCGGAATACCAAGGCGAAGGCGGCTTACTGGCTGACTGACGCTGAGGCGGAAAGCGTGGGTAGCAAAACG
>Otu301
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCAATGCCCGTGTGTGAAGAAGCCCTGCGGGTTGTAAGCACTTTCACTGGGGAAGAAAAGCCCGGTTAATACC
CGGCAGTCTGACATTACCAAGAAAGACCCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTAAAGCGCGTAG
GCGTTATGTAAGTTGGATGTAAAAGCCCGGCTTAACTGGGAATTCATCAATACTGCATGCTAGAGTTTGGTAGAGGAGGCGGAATCCCGGTGTAGCGGTGAAATG
CGTAGATATCGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTCTGGAACAAAAGTACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu302
TGGGGAATATTGGCAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCAATGCCCGTGTGTGAAGAAGCCCTGCGGGTTGTAAGCACTTTGACGAGGGAAGAACAGCGTGGGCTAATATC
CCCGCTCTGACGTCACCTGAAGAAAGAACCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGTGCAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCAGT
GTGGCCTGTATGCAATGTGAAAGCCCGGGCTTAACTGGGAACCGATCCGAAACTGTTGGGCTAGAGTAAGGGAGAGGGAAGTGGAAATTTCCGGTGTAGCGGTGAAAT
GCGTAGATATCGGAAGGAACCAAGTGGCGAAGGCGGCTTCTGGCCCTTACTGACACTGAGGTACGAAAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu303
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCAATGCCCGTGTGATGAAGCCCTAGGGTTGTAAGCTCTTTTACAGGGATGATAATGACAGTACCTGGAGAA
TAAGCTCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGAGTAGCCTTTTTCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGGTAGGCGGCTATTCAAGTCCGGGGTGAAG
GCCCCGGGCTCAACCCGGAATGCTTCAAACTAGGTAGTGAATCTTGGAGAGGTCAGTGGAAATCCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGGAAGAACACCAAGT
GGCGAAGGCGACTGACTGGAAGATTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACA
>Otu304
TGAGGAATATTGCGCAATGGAGGAAACTCTGACGCGACCCGCGTGCAGGAAGAAGCTCTAGGATCGTAACTGCTTTTATTGGGACGAAAGCGGCGGGTTTCGACCTG
TTTTGACGGTACCGAAAGAATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGTAGCCTGTGCCGGAATCATTGGGTGTAAGGGTGCAGGCGGGT

TTTTAAGTCTGGGGTAAAAGGCAGCGGCTCAACCGTTGGACTGCCCTGGATACTGGAGACCTTGAGGGTGACATAGCCGGTAGAATTCGTGGTGTAGCGGTGAAATGCATAGA
TATCACGAAGAATACCAAGTGGCGTAGCGGCCAGCTGGTCACTAGACGCTGAGGACAGAGAGCGTGGGGAGCAAAA
>Otu305
TGGGGAATATTGGACAATGGAGGAACTGTACCCAGCATGCCCGGTGAGTGAAGAAGGCCCTAGGGTTGTAAGCTCTTTCAGTGGTGAAGATGATGACTGTAAACCAGAA
GAAGCCCCGGTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGGGCTAGCGTTGTCCGAATTAAGTGGCGTAAAGGGCGTGTAGCGGGCTTGTAGTACAGAGGTGAAA
GGCCCGGGCTCAACCCGGAACTGCTTTGATCTGACAGGCTAGAGTCCGGGAGAGGATAGTGAATCCCAAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGGGAAGAACCAGT
GGCGAAGGCGGTACTCTGACCGTACTGACGCTGAGGCGGAAAGCGTGGGGAGCAAAA
>Otu306
TGAGGAATCTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAATGCCCGTGTGGATGAAGCATCTCGATGTGTAACCCTGTAGGGTTAGGAACAATGACAGACCCAAAG
GAAGGCCCGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACAGAGGGCCGAGCGTAAATCGGAATCACTGGGCTTAAAGCGTACGAGGCGCCCTGAAGGCATCGTGTGAAA
TCCCGCGGCTAACCGCGAATGCACGGTGAACACAGGGCTTAGAGCAGGTAGGGGTGAGTGAACCATGAGTGGAGCGGTGAAATGCGTAGATATTCTGGAACGCCAA
TGGCGAAGGCGAGCTGACTGGGCTGTCTGACGCTCATGTACGAAAGCGTGGGGAGCAAAA
>Otu307
TGGGGAATATTGGACAATGGGGGCAACCTGATCCAGCAATGCCCGTGTGTGAAGAAGCGCTGAGGGTTGTAAGCACTTTCAGTGGGGAGGAGAGTTATAAGGTTAAGAGC
TGTAACTGGAGCTTACCACAGAAGAAGCAGCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGGTGCGAGCGTAAATCGGAATTAAGTGGCGTAAAGGGTGCCTAG
GTGGTATGGTAAGTATCTGTGAAATCCCGGCTTAACTGGGGCGGTCAAGCTGGGGCGGTCAAGCTGTGATATAGGAGAGGGTATGGAAATTCGGGTGTAGCGGTGAAATG
CGTAGAGATCGAAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGTACTGCGCTAATACTGACACTGAGGACGAAAGCGTGGGGAGCAAAA
>Otu308
TGGGGAATATTGCGCAATGGGCGAAAGACTGACGACGACGCGGTGTGTGGATGAAGCCTTTCGGGGTGTAAACCCTGTAGGGAGGGAAGAATGCGATACGTTGCAACAG
GGCGTATGATTGACGCTACTTCAAAGGAAGCGCCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAAGACGGAGGCGCAAGCGTGTTCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGCACGC
AGGCGGTACTTAAAGTCTCTGTGAAAACCGAGCTCAACTCCGCGAATGCAGAAGATACTGGAAGACTAGAGATCGGTAGAGGCTAGTGAATTCCTGGTGTAGCGGTGGA
ATGCGTAGATATCAGGAGAACACCGGTGGCGAAGGCGACTAGCTGGCCGAGTCTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAAA
>Otu309
TGAGGAATATTGGACAATGGGGGAAACCTGATCCAGCAATGCCCGTGAATGATGAAGCCTTTCGGTGTAAAGTCTTTCACCTGTGAAGATAATGACGGTAGCAGGAGAA
GAAGCCCCGGTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACAGAGGGGGCTAGCGTTGTTCGGAATGACTGGGCGTAAAGGGTGCCTAGGTGGTCTTAAAGTAAAGTGTAAAT
CCCTGGGCTCAACCCAGGAAGTGCCTTAACTGAAGAGCTAGAGTGGGGAGAGGATAGTGAATTCCTAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTAGGAAGAACCCAGA
GGCGAAGGCGGCTTCTGGTCCGCAACTGACACTGAGGACGAAAGCGTGGGGAGCAAAA
>Otu310
TGGGGAATTTCCGCAATGGGCGCAAGCCTGACGGAGCAACGCCGCTGAGGGAGGAAGGCTTTCAGGGTGTAAACCCTTCTCTGGGAAGAAGAACTGACGGTACCAGAG
GAATAAGCCTCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAAGACGGAGGAGCAAGCTTATCCGGAATTTAGGGCGTAAAGCGTCCGAGGCGGTTAATAAGTCTGTTGTTA
AAGCTCAGGGCTCAACCTGAATCGGCAATGGAAGTACTGACTGAGTGTGGTGGGGTGTAGGGGAAATCCCGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCGGGAAGAACC
AGTGGCGAAGGCGCTACTGCGCAACTGACGCTGAGGGAGCAAGCTAGGGGAGCGAAAG
>Otu312
TGGGGAATCTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACCCGCTGATTGATGACGCCCTTGGGGTGTAAAGATCTTTCAGGGGAAGAATATTGACGGTACCTTAGGA
ATAAGCACCGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACAGAGGGTGCAGCGTATCCGGAATATTGGCGTAAAGCGTCCGAGGCGTGTATTAAGTAGGATATTTAA
GCCAATAGCTCAACTATTGTTAGTATCTAACTGATAAGCTAGAGACTCATAGAGTATGTGGAATTCGATGTAGGGTAAAATCCGTAGATATGACAGAGAACCCAAA
GCGAAGGACGACTGATGATGTTCTGACGCTCAGGACGAAAGCGTGGGGAGCAAAA
>Otu313
TGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGACGCAATGCCCGTGTGATGAAGCCTTTCGGTGTAAAGCTCTTTCAGGTGGGACGATGATGACGTTACCACAGAA
GAAGCCCCGGTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGGGCTAGCGTTGTTCGGAATTAAGTGGCGTAAAGGGCGGTAGGCGGACCTTTTACTGAGGGGTGAAA
TCCCGGGCTCAACCTGAACTCGGCAATGGAAGTACTGACTGAGTGTGGTGGGGTGTAGGGGAAATCCCGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTGGGTAGAACACCAGT
GGCGAAGGCGGCTACTGCGCAACTGACGCTGAGGGAGCAAGCTAGGGGAGCGAAAG
>Otu314
TCGAGAATCTTCCGCAATGGGCGCAAGCCTGACCGAGCAGCCGCGTGTGGATGAAGCCTTTCGGTGTAAACCGCTGTGAGGGGATGAAAGCGAAAGCTTGCAGAG
CCTCAGAGGAAGCGCGGCTAAGTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGTGCAGCGTATCCGGAATTAAGTGGCGTAAAGCGTCCGAGGCGTGTATTAAGTAGGATATTTAA
ATGTGAAATCCCCAGCTCAACTGGGGAATGGCATTGGAACCGATCGCGTTGAGTGTAGCTAGAGGTGACGGAATTCGGTGGAGCGGTGAAATGTGTGATATCGGAAGG
AACCCAGAGGCGAAGGCGGTGACTGGGCTGTCTGACGCTGAGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAAAG
>Otu315
TGAGGAATAATGCACAATGGAGGAACTGTGATGCTGCAACGCCGCTGCGGGATGAAGGGGCTGTGCCTTGTAAACCGCTGTGACATAGAAAAAAGTCCCCTGGGGACT
GGGATTGTATATGCGAAGGAAGGATCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAAGGCTTTCGGGAATTAAGTGGCGTAAAGGGTGCAGCGGGGTT
TGTGCGTCAAGGGTTAAAGACCAAGCTTAACTGTGGAGTGCCTGATACGCGCAATCTTGAAGTGTAGAGAGGAAAGTGGAAATCCCTGGTGTAGCAGTGAATCGGTAGAT
ATCAGGAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTCTGGCTCAACTGACGCTCAGGACGAAAGCGTGGGGAGCAAAA
>Otu316
TGGGGAATCTTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCACGCCGCGTGGGTGACGAAGCCTTTCGGTGTAAAGCCTTTCACCGGGGACGATGATGACGGTACCCGGAGA
AGAAGCACCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAAGACGAGGGGTGCTAGCGTTGTTCGGAATCACTGGGCGTAAAGGGCGGTAGGCGCGCTGTCCGCTCGGAGGTGAA
AGCCCGGGCTCAACCCGGAAGGTCTCCGATACGGGCGGGCTCAGAGTTCGGAAGAGGAGCGGAATACCCAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGGAGGAACCCCG
GTGGCGAAGGCGGCTCTGTGCTGTAAGTACGCTGAGGCGGAAAGCGTGGGGAGCAAAA
>Otu317
TGGGGAATCATTACAATGCAGAAAGTGTGATGATGCGACGCCGCTGAAGGATGAAGTCTTCGGATCGTAACTTCTGTGAGAAAGAAACAGCCTGTGCGGTAATACC
CTCAGGCTGACGGTACCTCAGAGGAAGCCAGCGTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGGGTGGCGAGCGTGTTCGGAATTAAGTGGCGTAAAGGGTGCAGT
GCGTTCGTGTGATGATGAAAGCCATGGCTCAACCATGGAATTTGAACTCGGAACTTGAAGTGTAGAGAGGAAAGTGGAAATTCGTAGATATTGGGTAGCGGTGAAATG
CGTAGATATCAAGAAGAACCCGGCGGAAAGCGGCTACTGGACGAATACTGACGCTGAGGACGAAAGCGTGGGGAGCAAAA
>Otu318
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCAATGCCCGTGGGTGAAGAAGCCTTTCGATTGTAAAGCCTTTCGGCGGGGACGATGATGACGGTACCCGAGA
AGAAAGCCCCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGGGCTAGCGTTGTTCGGAATTAAGTGGCGTAAAGGGCGGTAGGCGCGCTGTAGTACGGCGTGA
ATTCTGGGCTCAACCTGGGACTGCGCTTGTACGCGAGGGCTAGAGGATGAAGAGGCTGGAATTCAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGGGAAGAACCAGG
GTGGCGAAGGCGGAGCTGTCCATTAAGTACGCTGAGGCGGAAAGCGTGGGGAGCAAAA
>Otu319
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCAATGCCCGTGTGATGAAGAAGCCTTTCAGTGGGAAGATAATGACGGTACCAACAGAA
GAAGTCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGGGCTAGCGTTGTTCGGAATCACTGGGCGTAAAGGGCGCGTAGGCGGTTTGTAGTAAAGTGAAGTAAA
GCCCAGGGCTAAACCTGGAATTTCTCAAACCTACTTTACTGATGATGAGGGATATTGGAATTCCTAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTAGGAGGAACCCGGT
GCGAAGGCGAATATCTGGGTCGAATCTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAAA
>Otu320
CGACGAATCTCCGCAATGGGCGCAAGCCTGACGGAGCAATGCCCGTGAAGGATGAAGCCTTTCGGGTTGTAACCTTCTGTAGGGTTGAGAAACGACTGATCGGACCCAAAG
GAAGGGCCGGTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGGGCTAGCGTTGTTCGGAATCACTGGGCGTAAAGGGCGCGTAGGCGGTTTGTAGTAAAGTGAAGTAAA
TGCCACGGCTAACCTGGAACGGCTGGTAGACTGCGAGTCTTAGGCGGCGAGAGCCATCGAACTAGGTGGAGCGGTGAAATGCGTAGATATCTAGAGGAACGCCAA
AGGTGAAGACAGATGGCTGGGCGGCTCTGACGCTCAGGACGAAAGCGTGGGGAGCGAACG
>Otu321
TGAGGAATCTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAGCCGCGTGGTGAAGAAGCGGAAAGTGTAAAGCCTTTCACGTGAGGAATAACACAGGAGGTAAATG
CCTGTGGATGACGGTAGCGTAGGAATAAGCCCCGCCAATACGTGCCAGCAGCCGCGTAACACGATAGGGGCGAGCGTGTTCGGAATTAAGTGGCGTAAAGGGCGGT

GGCGGCATGCAAGTCTGGTGTGAAAGACCGCAGCTTAAGTGCAGGAGCGCGCCGAAAGCTGATGGCTTGAATCTGGAGGGGAGTTGGAATCCAGGTGTAGGGGTGAAA
TCTGTAGATATCTGGAAGAACCCTGGTGGCGAAGCGAACTCTGGCCCTGAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACA

>Otu323

TGGGGAATATTGGACAATGGGGGAAACCCCTGATCCAGCAATGCCCGTGTGTGAAGAAGCCCTCGGGTTGTAAGCACTTTCAGTGAGGAGGAGGGTTGATTGGTTAAGACG
TGATTGATTGGACGTTACTCACAGAAGAAGCACCAGGCTAAGTCCGTCAGCAGCCGCGTAATACGAGAGGCGTAATACGAGGGTGCAGCGTTAATCGGAATTAAGGGTGCCTAG
CGGTTTAAAGTTGATGTAAAATGCCAGGGCTTAACCTTGGGAGGTCATACGATACCTGGTAGACTTGAAGTACGGGAGAGGGGCAAGTTCGGTGTAGCGGTGAAATG
CGTAGAGATCGGAAGAACATCGGTGGCGAAGCGGCTGCTGCCTGATACTGACGCTGAGGCGCAAAAGCGTGGGTAGCGAACA

>Otu324

TGAGGAATTTTGGCAATGGGGGAAAGCCTGACGCGCAACGCCGCTGGGGATGAAGCCCTCGGGTTGTAACCCCTTTCTCAGGGAAGATAATGACGGTACCTGAGGA
ATAAGTCTCGGCTAAGTACGTCAGCAGCCGCGTAATACGTAAGGAGCAAGCGTTTCCGGATTTACTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGTGGTTGTTAAGTCCGATGTGAAA
TCTCCGCTCAACTGGGAGGGTGGCTTGGATACGCGGACTTGAAGGCGATCAGGGGAGAGCGGAATCCCGGTGTAGTGGTAAATGCGTAGATATCGGGAAGAACACCG
TGCGGAAGGGGCTCTCTGGGTGACCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAAGC

>Otu325

TGGGGAATCTTGGACAATGGGGGAAAGCCTGATCCAGCAATACCGCTGAGTGAAGAAGCCCTAGGGTTGTAAGCTCTTTAGTGGAGAAGATAATGACGGTATCCACAGAA
AAAGTCCCGGCTAAGTACGTCAGCAGCCGCGTAAGAGCTAGGGGACTAGCGTTTCCGGAATTAAGGGTAAAGAGCGCGTAGGCGGTTCAACAAGTTGGGAGTGAAA
TCCCGGCTTAACTCGGAATTTCTTCAAACTGTTGACTAGATATGGTAGGGATGTAAGAACTCCAGTGTAGAGGTGAAATTCAGATATTAGGAGGAACACCGGAG
GCGAAGGCGATCATCTGGGCCAAACTGACGCTGAGGCGCAAAAGCGTGGGGAGCAACA

>Otu326

TGGGGAATATTGGACAATGGGGGAAAGCCTGATCCAGCAACGCCGCTGAGGGATGACGGCTTCGGGTTGTAACCTCTTTCAGCACCAGCAAGCGAAAGTACGGTAGGT
GCAGAAAGAGGACCGCCAACCTAGTCCAGCAGCCGCGTAATACGTAAGGTCGCGGTTTCCGGAATTAAGGGTAAAGGGCTCGTAGGCGGTTTTCGCGTGGGA
GTGAAAACCTCAGGCTCAACCTGAGCGTCTTCCGATACGGGCGAGTACAGGATGACGAGGGAGAACGGAATCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAA
CACCCTGGCGAAGGCGGTTCTCTGGCATTTCCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCATGGGGAGCGAACA

>Otu327

TGAGGAATCTTGCACAATGGGGGAAACCCCTGATGACGCGACGCCGCTGGAGGATGAAGGATTTAGGCTGTAACTCTTTTCCAGGAAAGACTTAGGACGGTACCTGGCGA
ATAAGCGCCGCTAAGTACGTCAGCAGCCGCGTAATACGTAAGGCGCAAGCGTTTCCGGAATTAAGGGTAAAGGGCGCGCAGGCGGCTGTTAAGTGGGGTGAA
ATTTCCAGGGCTCAACCCGAAACTGCTTCAAACTGGCAGACTAGAGGAAGGAAGAGGTGAATGAAATCCCGGTGTAGGGGTGACATCAGATATCGGGAGGAATACC
GAAAGCGAAGGCGAGTCACTGGTCTTCTGACGCTGAGGCGCAAAAGCGTGGGTAGCAACA

>Otu328

TGAGGAATCTTCCGCAATGGGGGAAAGCCTGACGCGAGCAATGCCCGTGGGGATGAAGCGGCTTCGCGTGTAAACCCGCTGTCAGGGTGCAGGAACACTGACCACACCCAAA
GGAAAGGGCCGCTAATCCGTCAGCAGCCGCGTAATACGGAAGCCGAGCGTAACTCGGAATTAAGGGTAAAGGGTGCAGGCGGCTGTTAAGTGGGGTGAA
AGCCCCGGCTCAACCCGGAATTGACGGGTGAACTACGTTGAGGCGAGTAGGGGCCGAGCAACTGTAGTGGAGCGGTGAAATGCGTTGATATCTACAGGAACGCCA
ATGGCGAAGGCGAGTGGCTGGGCTGTCTGACGCTCAGTACGAAAGCGTGGGTAGCGAAGC

>Otu329

TGGGGAATATTGGACAATGGGGGAAAGCCTGATCCAGCAATGCCCGTGTGTGAAGAAGCCCTCGGGTTGTAAGCACTTTCAGTAGGGAGGAAACGTTTCGGGTGAATAATC
CGGATCACTGACGTTACTACAGAAGAAGCAGCCGCTAAGTCCGTCAGCAGCCGCGTAATACGGAAGGTCGAGCGTAACTCGGAATTAAGGGTAAAGGGCGCGTAG
CGGTTCTGTTAAGTTAGTGTGAAAGCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGACGTTGATACTGGCGAGTACAGTCTGGCAGAGGGTAGTGGAAATCCCGGTGTAGCGGTGAAATG
CGTAGATATCGGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGACTACTGGCCAAAGACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACA

>Otu330

TGGGGAATATTGGACAATGGGGGAAAGCCTGACGCGAGCAACGCCGCTGAGGGATGAAGGCTTCGGGTCGTAAACCTCTGTGAGAAGGGAAGAACGGGTGATGGTCTAATAG
GCCGCTATTTGACGGTCACTTACAGGAAGCAGCCGCTAAGTCCGTCAGCAGCCGCGTAATACGGAAGGTCGAGCGTAACTCGGAATTAAGGGTAAAGGGCGCAGTA
GGCGGCTTTGAAAGTCAAGGGTGAATCCCAAGCCGCTCAACCTGGAACTGCTTTGAAACTGCACTGGCTTGAATCCTGGAGAGGGTGGCGGAAATTCCTGGTGTAGGAGTGAAT
CCGTAGATATCAGGAGGAACCCGGTGGCGAAGGCGGCCACCTGGACAGGTAAGTACTGACGCTGAGGTGCGAAAGGTGGGGAGCAACA

>Otu331

TGAGGAATTTTGGTCAATGGGGGAAACCCCTGAACCAGCAGCCGCTGTGTGGGATGAATGGTTACACCTGTAAACCACTGTCAGATGGGAAAAAAGAATCTTTGGGGTCT
GGGATTGTACCATCAGAGGAAGGACCGGCTAAGTCCGTCAGCAGCCGCGTAATACGTAAGGTCGAGCGTTCGCGAATTAAGGGTAAAGGGTGCAGCGGACT
TTGCGTCCGGGTTAAAGACCAAGCTTAACTTTGGGAATGCTCCGAAACGGGAAGTCTTGAAGTGTAGAGAGGTAGGTAGAATTCATGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAT
ATCATGAGGAATACCAAGTGGCGAAGGCGGCTACTGGCTCAACTGACGCTCAGGACCAAGCGTGGGGAGCAACA

>Otu332

TGGGGAATATTGGACAATGGGGGAAAGCCTGATCCAGCATGCCCGTGGGTGAAGAAGCCCTAGGGTTGTAAGCCCTTTCGCGGGGACGATGATGACGGTACCCGACAGA
AGAAGCCCCGCTAAGTCCGTCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGGCTAGCGTTGCTCGGAATTAAGGGTAAAGGGCGCGTAGGCTGTCATGTTAGTTGGGTGTGAA
ACCCCGGCTCAACTGGGAACTGCACTCAATACGCGATGACTTGAAGGAGGAGAGGGTGGTGGAAATCCAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGGGAAGAACACCA
GTGGCGAAGGCGGCCACCTGGCTGTCTGACGCTGAGGCGCAAAAGCGTGGGGAGCAACA

>Otu333

TGGGGAATCTTGTCCAATGGGGCAAGCCTGAGACAGCCAGCCGCTGCGGGACGAAGCCCTTCGGGTCGTAAACCCGCTTTCAGCAGGGAAGGAAAGTACGCGTACT
GCAGAAAGAGGACCGCCAACCTAGTCCAGCAGCCGCGTAATACGTAAGGTCGAGCGTTCGCGAATCATTGGGCGTAAAGCGCATGTAGGCGGCCAGGTAAAGTCCGTA
GTGAAATCCCGAGGCTCAACTCGGAATGCTTCCGTAAGTGCCTGGTGGAGGAGGAGGAGGTAATCCCGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCGGGAGGAA
CACAGCGGCGAAGGCGGCTCTCTGGGCTCTCTGACGCTGAGATGCGAAAGCGTGGGTAGCAACA

>Otu334

TGGGGAATCTTCCACAATGGGGCAAGCCTGATGAGGACGACGCCGCTGAGTGAAGGATTTTCGATTGTAAACTCTGTTGTAGGGAAGAAGCTTTCAGGAGGAAATG
CTTTGAGATGACGGTACTCAGAGGAAGCCCGGTAAGTCCGTCAGCAGCCGCGTAATACGTAAGGTCGAGCGTTCGCGAATCATTGGGCGTAAAGCGCGCGCA
GGCGGCTCTTAAAGTCTGATGTAAAGCCACGGCTCAACCTGGAGGGTCTTGGAAACTGGGGAGCTTGAAGTGCAGAGAGGAAAGCGGAAATCCAGCTGTAGCGGTGAAA
TGCGTAGAGATGTGGAGGAACCAAGTGGCGAAGGCGGCTTCTGGGCTGTAAGTACTGACGCTGAGGCGCAAAAGCGTGGGGAGCAACA

>Otu335

TGAGGAATATTGGTCAATGGGGCAAGCCTGAACCAGCCTATGCCGCTGACAGGAAGCGCCCTACGGGTTGTAACCTGCTTTATACGGGAAGAAGTCCCTACGTTAGGG
GGCTGACGGTACCGTAAGAATAAGGATCGGTAAGTCCGTCAGCAGCCGCGTAATACGGAAGGGGCTAGCGTTGTCGGAATTAAGGGTAAAGGGTGCAGTGGGCGGTG
CGTTAAGTCAAGGGTGAATTTGGCAGCTCAACTGCAAACTGCTTTGATACTGGCGGCTTGAATGTATTGAGTGTAGGCGGAATGCGGCATGTAGCGGTGAAATGCGTAGA
TATGCCGCAAGAACCAATAGCGAAGGCGACTTACCAAGTCATGATTGACGCTGATGACGAAAGCGTGGGGAGCGAACA

>Otu337

TGGGGAATATTGCGCAATGGGGGAAAGCCTGACGCGAGCAGCCGCTGAGTGTGAAGGCTTCGGGTCGTAAAGCTCTGTGCGAGGGGAATAAGAAAGTGAAGTACCCCTG
CAAGAAAGGATCGGCTAAGTCCGTCAGCAGCCGCGTAAGAGCAGGGGATCAGCGTTGTCGGAATCATTGGGCGTAAAGCGGGTGTAGGCGGCTTCGCAAGTCAAGTGT
GAAAGCCAGGGCTCAACCTGGAAGTGCATTTGAACTGCGGAGCTTGAAGTGTGAGAGAGGTGAGTGAATTCCTGGTGTAGTGGTGAATACGTAGATATCAGGAGGAACA
CCGGTGGCGAAGGCGGCTCACTGGCTCAACTGACGCTCAGACCCGAAAGCGTGGGGAGCAACA

>Otu338

TGGGGAATATTGGACAATGGGGGAAAGCCTGATCCAGCAATGCCCGTGGGTGATGAAGGCTTCGGGTTGTAAGCGCTTTCGCCACGACGATGACGGTGTAGGGAGA
AGAAGCCCCGCTAAGTCCGTCAGCAGCCGCGTAATACGGAAGGGGCTAGCGTTGTCGGAATTAAGGGTAAAGGGTGCAGGCGGCTTCCAGTCCGGTGTGAA
AGCCCCGGCTCAACCCGGATGTGCATCCGAGACTGGGCGGCTAGAGTTCGGGAGAGGTGAGTGAATTCAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGGGAAGAACCCG
GTGGCGAAGGCGGCTCACTGGACCAGCACTGACGCTGAGGACGAAAGCGTGGGGAGCAACA

>Otu339

TGGGGAATCTTGCACAATGGGGGAAAGCCTGACGCGAGCAACGCCGCTGGGGGAAAGGCTTCGGGTTGTAACCTCTTTAGTAGGAGCAAGCTTCGGGGTTAACAGC
CTACGGGTGACGGTACTACAGAAGAAGCCCGGCTAAGTCCGTCAGCAGCCGCGTAATACGTAAGGTCGAGCGTTCGCGAATCATTGGGCGTAAAGCGCGTGTAG

GCGGCTTGGTAAGTCTGGCGTAAATCTTGGGGCTCAACCCCAAGCCTGCGCTGGATACTGCCTCGCTCGAGTCCGGGAGAGGAAAGCGGAATCCCAAGTGTAGCGGTGAAATG
CGAGATATTGGGAAGAACACCCGGTGGCGAAGCGCGCTTCTGGCTCGTACTGACGCTGAGACGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu340
TGGGGAATCTTGGCAATGGGCGAAAGCCTGACGACGCCAGCCGCGTGGCGGGAAGAAGGCTTCCGGTTCGTAACCCGCTTTCAGGAGGGAAGAAGCGAAAGTACGGTACCT
CCAGAAGAAGCCCGGCCAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGGGCAAGCGTTGTCGGGAATATTGGGCGTAAAGCGCATGTAGGCGGCCGCTAAGTCGGAT
GTGAAATCCCGAGGCTCAACTTCGGAAGCTGCACTCGATACTGCACGCGTTGAGGAAGGTAGAGGAGAGTGGAAATCCTGGTGTAGCGGTGGAATCCGCGAGATATCAGGAGGAA
CACCGGTGGCGAAGCGAGCTCTGGGCTCTCTGACGCTGAGATGCGAAAGCGTGGGTAGCGAAACA
>Otu341
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCAGCTCTGCGTGAAGGATGAAGCCTTGTGGGGTGTAACTCTTTTGGGAGAAGCAATGACGGTATCTCAGGA
ATAAGAGACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGTCTCGAGCGTTATCCGGAATTAAGCGTCTGACGCCGATGTATAAGTCTGTCTTAAAT
ACTCCGATTCATCGGAGAAAAGGATAGATACTGTATATCTAGAGGATTTTGGAGTTAGTGGAAATTCGGGTGGAGCGGTGGAATGCGTTGATATCGGAAGGAATGCCGAAA
GCGAAAGCAGCTAACTATGAAATATCTGACGGTCAGAGACGAAAGCTTGGGGAGCGAACC
>Otu342
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCTGAGTGTGAAGGCTTAGGGTTGTAAAGCTCTTTCAGTAGGGAAGATAATGACGGTACCTACAGAA
GAAGCCCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAAGGGGGTAGCGTTGTTCCGATTACTGGGCGTAAAGCGCACGTAGGCGGTTTGTAAAGTACAGAGGTGAAAT
CCGGAGTCAACTCCGAACTGCTTGTGATACGCAAGCTAGAGTCCGGAAGGTAAGTGGAACTCTAGTGTAGAGGTGGAATTCGTAGATATTAGGAAGAACCACAGTG
GCGAAGGCGGCTTACTGGTTCGGAAGCTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu343
TGGGGAATATTGGCAATGGGCGGAAGCCTGACCCAGCCATGCCGCTGACGGAAGACGGCGTTAGCGTTGTAACTGCTTTTATACGGGAAGAAAAGGCCATGCGTGGGA
AATTGCCGTTACCGTATGAATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGCAGCGTTGTCGGGATTATTGGGTTTAAAGGGTGCAGTGGCGGCC
CTGTAAGTACGCGGTGAAAGTCACTGCTCAACCATTTGGAGTCCGTTGATACTGCGGGCTTGAAGTTCGGGAGGGTACATGGAATTTAGTGTAGCGGTGAAATGCATAGA
TACCATAAGGAACACCGATAGCGTAGGCACTTGTCTGCCAAACTGACGCTGAGGACGAAAGCGTGGGTAGCGAAACA
>Otu344
TGGGGAATTTCCGCAATGGGCGCAAGCCTGACGGAGCAAGACCGGCTGGGGGAGGAAGGCTTGGGTTGTAAACCCCTTTTCAAGGAAGAACAACATGACGGTACTTGAG
GAATAAGCCTCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGAGGCAAGCGTTATCCGGAATGATTGGGCGTAAAGCGTCCGTAAGTGGCAGTTCAAGTCTGTCTGCA
AAGACAGTAGCTCAACTACTGAAAGGCAAGTGAAGTGAACAGCTAGAGTACGGTAGGGGCGGGGATTTCCCGGGGAAGCGTAAATGGCGTAGATAGCGAAAAAACAC
CGGGGGGAAAGCGCTCTGGGGGGCCGTAACCTCCACTGGGGGACAAAAGTTAGGGGAGGGATGG
>Otu345
TGGGGAATCATTACAACGACGAAAGTGTGATGATGCGACGCCGCGTGAAGGATGAAGTCTTCGGATCGTAACTTCTGTGCAAGGAAAGAACAGCTTATGGGCGAATACC
CTGTGAGTTTACGCGTAACTTCAGAGGAAGCCAGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGAGGTGCAGCGTTGTCGGGATTACTGGGCGTAAAGCGTCCGTAAGTGGCAGTTC
GCGGATGTTGTGTGATGATGAAAGCCCGGGCTCAACCCCGGACTGCAATTTGAACTGCCGTGTTGAGTATCGGAGAGGTATATGGAATCTTAGTGTAGCGGTGAAATG
CGTAGATATTAAGAAGAACACCGAGCGGCAAGCGATATACTGGACGAATACTGACGCTGAGGACGAAAGCGTGGGGAGCGAAACA
>Otu346
TGGGGAATATTGGACAATGGGGCAACCCCTGATCCAGCCATGCCGCTGTGTGAAGAAGGCTTCCGGTTGTAAAGCACTTTAAGCGAGGAGGAAGGGTTCTTAATTAATACTT
GAGAGCATTGACGTTACTCGCAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACAGAGGGTGCAGCGTTAATCGGAATTAAGCGTCCGTAAGTGGCGTAAAGCGCGT
CGGTTGTATAAGTTGATGTGAAATCCCGGGGCTTAACTTAGGCACTGCACTTAAACTGTACAGCTAGAGTGTAGGAGAGGAAGGTAGAATCCAGGTTAGCGGTGAAATGC
GTAGAGATCTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGACGCGCTTCTGGCTAACACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu347
TGGGGAATATTGGACAATGGGGCAACCCCTGATCCAGCCATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCTTAGGGTTGTAAAGCTCTTCACTGGCGACGATGATGACGGTAGCCAGAGA
AGAAGCCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGGCAAGCGTTGTTCCGGAATTAAGCGTAAAGCGCGTAGGCGGCGAGCCGATCAGGCGTGA
AAGCCCGGGCTTAACTCCGTAAGTGCCTGTGATACTGGTTGCTTGAAGTTCGGGAGGAGAGTGGAAATCCCAAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGGGAAGAACAACA
GTGGCGAAGGCGCTCTCGGACCGATGACGCTGAGGCGGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu348
TGAGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGTCTGACCCAGCCATGCCGCTGACGGAAGACGCGCTTGGGTTGTAACTGCTTTTATAGGGAATAAACCCCGCAGCTGTGCGG
GGCTGAAGGTACCATATGAATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGCAGCGTTAATCCGGATTATTGGGTTTAAAGGGTCCGTAGGCGGAA
GATTAAGTACAGAGGTGAAATCCTGACAGTCAACTGTAGAATTGCCCTTTGATACTGATTTCTTGAATATGTACGAAGTGGGCGGAATATGACATGTAGCGGTGAAATGCTTAGATA
TGTCATGGAAACCGATTGCGAAGGCGAGCTCACTAGTCCATTATTGACGCTGAGGACGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu349
TGGGGAATATTGGACAATGGGGCAACCCCTGATCCAGCCATGCCGCTGTGTGAAGAAGGCTTCCGGTTGTAAAGCACTTTCAGTGAAGGAAGAAGGCTTGGCTTAATACGT
CCGAGGAAGGACATCACTCACAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGCAGCGTTAATCGGAATTAAGCGTAAAGCGCGCTAG
GTGGCGTATAAAGCCGTTGTGAAGCCCGGCTCAACTGGGAACCGGCTAAGGAGGAGGAGTGGAAATCCCAAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGGGAAGAACAACA
GCGTAGAGATCGGGAGGAATACAGTGGCGAAGGCGGCTTCTGACTGACACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGTAGCAAACA
>Otu350
TGGGGAATATTGGACAATGGGGCAACCCCTGATCCAGCAATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCTTAGGGTTGTAAAGCTCTTTCACCCGTAAGATAATGACGGTAGCGGGAGA
AGAAGCCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGGCTAGCGTTGTTCCGGAATTAAGCGTAAAGCGCGTAGGCGGTTATCCAAGTTGGGGTGA
AGCCCGGGGCTTAACTCCGGAATTCCTTCAAAACTGGATGACTTGAAGCGGAGAGAGGTAAGGGGAATTCAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCCGAAGAACACAG
TGCGAAGGCGCTTACTGGCTCGTCTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu351
TGGGGAATATTGGACAATGGGGCAACCCCTGATCCAGCAATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCTTAGGGTTGTAAAGCTCTTTCAGTGGGAAGATAATGACGGTACCCCGAGAA
GAAGCCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGGCTAGCGTTGTTCCGGAATTAAGCGTAAAGCGCGCTAGGCGGTTTTTCAAGTTGGGGGTGAAA
TCCCGGGGCTTAAACCCGGAAGTGCCTCAAAACTGGATGACTTGAAGCCGAGAGAGGTAAGGGGAATTCAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTAGGAAGAACCACAGT
GGCGAAGGCGCTTACTGGCTCGGACTGACGCTGAGGCGGAAAGTGTGGGGAGCAAACA
>Otu352
TCGAGAATCATTGCAATGGACGAAAGTGCAGCAGTGCAGCGCCGCTGACGAGTACGCGCTTCCGGTTGTAACTGCTGTGAGGGAACAATAGCGGGACGGTAAATAG
CCGTATCCGTGTGATGGTACCTCAGGAGGAAGCCAGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACAGAGGTGGCAAGCGTTGTTCCGATTACTGGGCGTAAAGGGCGCGT
AGGCGGCGCGTATGTGGATGTGAAATCCACCGTTATCGTGGAACTGCATTGAAACTCGGCTGCTAGAGTACAGGAGGAGAGCGGAATCTTGGTGTAGCGGTGAA
ATGCGTAGATATCAAGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGCTCTGACTGATGACTGACGCTGAGGCGGAAAGCTGGGGAGCAAACA
>Otu353
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCTGAGTGTGAAGGCTTCCGGTTGTAAAGCTCTTTCACCCAGCAGATGATGACGGTAGTGGGAGAA
GAAGCCCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAAGGGGCAAGCGTTGTTCCGGAATTAAGCGTAAAGGGCGCGTAGGCGGCGCTTGGTGTAGGTTGAAA
TCCCGGGCTCAACTGGAACTGCACTTGTACGGGCGTCTTGAATCCGTGAGAGTGTGGTGAATCCCAAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGGGAAGAACAACA
GGCGAAGGCGGCAACTGGCACGGTATTGACGCTGAGGCGGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
>Otu354
TGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGACGCCATGCCGCTGAGTGTGAAGGCTTCCGGTTGTAAAGCTCTTTTTGAGGGAAGAATGCTGAAACAGGAAATGG
TTTCAAGTTGACGGTACCTTAAGAAATAAGGAACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTCCAGAGCTTGTTCGGAATTAAGCGGCTAAAGAGGGCGCAGG
CGGATTCGTTAGTCTAAAGTGGAAATCCAGGGCTCAACTTGGAGCTGCTTGTAGACTGCGGATCTGAGTACGTGAGAGGAAAGCGGAATTCAGGGTGTAGCGGTGAAATGC
TTAGATATCCTGAGGAACACCAATGGCGAAAGCAGCTTCTGCGACGAAACTGACGCTGAGGACGAAAGCGTGGGGAGCGAACC
>Otu355
TGGGGAATATTGCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGCGACGAACCCGTGTGAGGATGAAGCTTTTCCGAGTGTAACTACTGTCAGCAGGGAAGATAATGACGGTACCTGCGAGA
GGAAGCATCGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAAGACGTAGGATGAAGCGTTGTCGGGAATTAAGGGTGTAGGCGGTGCTTAAAGTCTAGTGTAA

GCCCCGAGCTCAACTCCGGCATGGCACCGGAACTGGGTTGCTAGAGTGACAGTAGAGGATGCGGGAAATCCCGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCGGGAGGAACACCAG
TGCGAAAGCGCGCATCTGGGCTGTAAGTACGCTAAGGAACGAAAGCCAGGGTAGCGAAAG
>Otu356
TCGAGAATCTTCGGCAATGGGCGAAAGCCTGACCGAGCGACGCCGCTGCGGGATGAAGGCCCTCGGGTTGTAACCCGCTGCTGAGGGGAGCAAGTGCTTGGGGTTCTCCC
CCTTGCTTGAAGCCTAGGAGGAAGGACGGGCTAAGTTCGTGCCAGCAGCCCGGTAAGACGAAACCGTCAAAACGTTATTCGGTACTACTGGGCTTAAAGAGTTCGTAGGGC
GCCCTGACAGGTGAGGTGAAATCCCTCGGCTTAAACCGAGGAACCTGCGCTTCAAACCGAAAGCTAGAGGGAGACAGGGGTAAGCGGAAACAGATGGTGAGCGGTGAAATGC
GTTGATATCATGTGGAACACCAGTGGCGAAGCGGCTTACTGGGTTCTTACTGACGCTGAGGAACGAAAGCTAGGGTAGCGAACG
>Otu357
TGAGGAATATTGGTCAATGAGCGCAAGTCTGAACAGCCATGCCGCTGACGAGTACGCGCCATGGGTTGTAACCTGCTTTGTACGGGAATAAACCTCGCTGCTGAGCGA
GGCTGAAGGTACCGTAAGAATAAGGATCGGCTAAGTTCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGATCAAGCGTTATTCGGATTATTGGGTTAAAGGGTCCGTAGGCGGAT
AATTAAGTCAGAGGTGAAATCTCGAGCTCAACTGTAGCATTGCCCTTGTACTGTTGCTTGTAGTATATTTGAAGTGGCGGAATGTGTCATGTAGCGGTGAAATGCATAGATA
TGACACAGAACCCGATTGCGAAGGCGACTACTAAGATAAATACTGACGCTGATGGACGAAAGCGTGGGTAGCAAACA
>Otu358
TCGAGAATCTTCGGCAATGGGCGAAAGCCTGACCGAGCGACGCTGCTGCGGGATGAAGGCCCTGGGTTGTAACCCGCTGCTAGAGGGGATGAAAGCGCAAGCTTGACAGAG
CCTCAGAGGAAGCGGGGCTAAGTTCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGAACTCGCAACCGTTATTCGGAACTCACTGGGCTTACAGGGTGCAGGCGGTCCACAGGTCAGA
TGTGAAATCCACAGCTCAACTGTGGAACCTTTGAAACCGCGGCTTGTAGTAACTAGAGGCATACGGAACCTCAGGTGGAGCGGTGAAATGTGTTGAGATCTGAAGGAA
CACCAGAGGCGAAAGCGGTATGCTGGAGTGTCTGACGCTGAGGCACGAAAGCCAGGGGAGCGAACG
>Otu359
TCGAGAATCTTCGGCAATGGGCGAAAGCCTGACCGAGCGACGCCGCTGCGGGATGAAGGCCCTCGGGTTGTAACCCGCTGTCAACGGGGAGGAAGTGCAGGAGGGTTCTCCC
TCGTTTACCTATCCGAGGAGGAAGTACGGGCTAAGTTCGTGCCAGCAGCCCGGTAAGACGAAACCGTACAAACGTTATTCGGAAATATTGGGCTTAAAGGGTCCGTAGGCT
GCGCGAAAGTGGGTGTAAGCCCTCGGCTCAACCGAGGAATGCACTTAAACTACCGTCTGAGGGAGACAGAGTAAAGCGAACTCAAGTGGAGCGGTGAAATGCGT
TTGATATCTTGAAGAACCCGTTGCGAAGGCGGCTTACTGGGTTCTTCTGACGCTGAGGCACGAAAGCTAAGGTAGCAAACG
>Otu360
TGAGGAATCTTCGGCAATGACGAAAGTGTGACGGAGCAATGCCGCTGTTGGGATGAAGCGTTACGCCGTGTAACCACTGTCAGGACCTAGGAAGAAGTACCGGGTCCAA
AGGAAGGGCCGCTAATCTGTCAGCAGCAGCCCGGTAATACGAGAGGCCGAGCGTTATTCGGAACTCACTGGGCTTAAAGGGTGCAGGCGGACCGGCAAGCATGTTGTGA
AATCCACGGCTCAACCGTGAATCGTGTGAACTGCTGGTCTTGAAGCGGGTAGAGGTTGTCGGAACGTACGGTGGAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGACGAAACGCC
GAAGGTGAAGACAGGCAACTGGGCCGACCTGACGCTATGCACGAAAGCGTGGGAGCAAACA
>Otu361
TCGAGAATCTTCGGCAATGGGCGAAAGTGTGACGGAGCGACGCCGCTGTTGGATGAAGCCCTTAGGGGCGTAAACACCTTTATGAGGGAGGAAGTATTGACGTTACCTCA
TGAATAAGGGGCTCCCAACTCTGTGCCAGCAGGAGCGGTAATACAGAGGCCCAAGCTTATTCGGAAATTTACTGGGCTTAAAGGGTGCAGGCGGACCGGCAAGCATGTTGTGA
AACTCCTGGGCTCAACCCAGAATCGCATTTGAAACGTTGCACTAGAAGCGTTAGAGGCAAGCAGAAGTCAAGGTCAGGGTGAAGTCCGTTGATATCGTGGGAATACC
AAATGCGAAGGCGAGTCTGCTGGGACGTTCTTACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGTAGCGAAGG
>Otu363
TGGGGAATCTTCGGCAATGGGCGAAAGCCTGACCGAGCAACGCCGCTGCGGGAAAGAGCCCTAGGGTCTGTAACCCGCTTACAGGGGGACGAAGCTCCGAGGTGAATAGC
CTACGGGTGACGCTACCTCAGAAAGAGTCCGGCTAATACGTCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGAGCCGAGCGTTGTCGGAACTCATTGGGCGTAAAGAGCGGTGTAG
GCGGCCAGTAGTCTGCTGTTAAATCCCGCGCTCAACCGCGGACCTGCACGGGAAACCCCTGGGCTGAGTCCGGAAGAGGAGAGTGGAAATCCTGGTGTAGCGGTGAAAT
GCGCAGATATCAGGAAGAACCCGTAGCGAAGGCGGCTCTCTGGGACGGTACTGACGCTGAGACGCGAAAGCGTGGGAGCAAACA
>Otu364
TGGGGAATTTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCTGCGGGAAAGAGCCCTAGGGTCTGTAACCCGCTTTGTGAGGGAAGAAACGCTCCGGGCAATACC
TGGGTAATGACGCTACTGAAAGAAAGCAGCCGCTAATACGTCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGATCAAGCGTTAATCGGAATTTACTGGGCTTAAAGCGTGCAG
GCGGCTTTGCAAGACAGATGTGAAATCCCGGGCTCAACCTGGAACTGCACTTGTACTGCAAGGCTGGAAGTGCAGGAGGGGGATGGAATTCGCGGTGTAGCAGTGAAT
GCGTAGATATGCGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAATCCCTGGGCTGCACTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGAGCAAACA
>Otu366
TGGGGAATCTTAGACAATGGGGAACCCCTGATCTAGCCATGCCGCTGAGTGAAGAAGCCCTAGGGTCTGTAAGCTCTTACCAGGGATGATAATGACAGTACCTAGAGAA
GAAACCCCGCTAATCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGGTTAGCGTTGTTGGAATTTACTGGGCTTAAAGCGCACGTAGGCGGATTAGTAAGTCAGAGGTGAAA
TCCAGGGCTCAACCTGGAACTGCTTTGATACTGCTAGTCTTGAAGTTCGAGAGAGGTTGAGTGAATTCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAGGAACACCGT
GCGAAGGCGGCTCACTGGCTGATACTGACGCTGAGTGGCGAAGCGTGGGAGCAAACA
>Otu367
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCTGAGTGAAGGCCCTAGGGTGTGTAAGCTCTTTGTGAGGGAAGATAATGACGGTACCTGAAGAA
TAAGCACCAGGCTAATCTGTCAGCAGCCGCGTAATACGAAAGGTTGCTAGCGTTGTTGGAATCACTGGGCTTAAAGCGCGCTAGGCGGTGCTACAAGTCAGGGGTGAAA
TCCAGAGCTTAACTCGGAATGCTTTGAAACTGTAGTGTAGCTAGAGTGTCCGAGGGATGCGGAAATGCTAATGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTAGCAGGAACACCGGT
GGCGAAGGCGGCTCTGACGACAACCTGACGCTGAGGCGGAAAGCGTGGGATCAAACA
>Otu368
TGGGGAATATTGGCAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCTGACGAGTGAAGGCCCTAGGGTCTGTAACCTGCTTTATACAGGAAGAAACCTCCGGACGTGTCGG
ATCTGACGCTACTGTATGAATAAGGATCGGCTAATACGTCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGATCAAGCGTTGTCGGGATTTATTGGGTTAAAGGGTGCAGTGGCGGGA
TATTAAGTCAGTGGTAAAGCCTACAGCTTAACTGTAGAATTGCCTGAAACTGTTATCCTTGAAGTGGTGGAGGTGATGAAATGTATCATGTAGCGGTGAAATGCTTAGAT
ATGATACAGAACCCGATTGCGAAGGCGTCCACTAAGCCATTAAGCCTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGAGCAAACA
>Otu369
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCCCTAGGGTGTGTAAGCACTTTCAAGTGTGAGGAGGCGTGTGATTAATAGCT
GCAACGATTGACGTTAGCCACAGAAAGCAGCCGCTAATCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAAGGTTGCGAGCGTTAATCGGAATTTACTGGGCTTAAAGCGCACGTAG
GCGGCTTTAAGCAAGATGTGAAAGCCAGGGCTCAACCTGGAAATGCACTTTGAACTGGCAAGCTAGAGTTTGAAGAGGGTGGTGAATTTCCAGTGTAGCGGTGAAATG
CGTAGATATTGGAAGGAATACAGTGGCGAAGGCGCCACCTGGTCAATAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGAGCAAACA
>Otu370
TGGGGAATCATCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGTGCACCGCGTGAACGACGAAAGGTTTTCGGATCGTAAAGTCTGTTGTGAGGGAAGAACACGTCGCCGTCAAACAG
GCCGCGCCTTACGCTACTCAGGAAGAACCCCGGCTAATACGTCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGGGCAAGCGTTGTCGGAAATTTGGGCTTAAAGCGCGCGC
AGCGGCTTGTAAAGTCTGATGTGAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGCTATTGGAACCTGACGACTGAGTGTAGGAGGAAAGTGAATTCACGCTGACGCTGAA
ATGCGTAGATATGTGGAGGAACACAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGCGCTCAACTGACGCTGAGGCGGAAAGCGTGGGAGCAAACA
>Otu371
TGGGGAATATTGGACAATGGGGCAACCCCTGATCCAGCCATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCCCTCGGGTTGTAAGCACTTTCAAGTGTGAGGAGGCGTGTGATTAATAGCT
TGCGAGATTGACGTTAGCCACAGAAAGCAGCCGCTAATCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAAGGTTGCAAGCGTTAATCGGAATTTACTGGGCTTAAAGCGCACGTAG
GCGGTTTGTAAAGTATGATGTGAAAGCCCGGGCTTAACTGGAAATGCACTTTGAACTGGCAGGCTAGAGTTTGGAGAGGGTGTGAAATTTCCAGTGTAGCGGTGAAATG
CGTAGATATTGGAAGGAACACAGTGGCGAAGGCGCCACCTGGCCAAAACCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGAGCAAACA
>Otu372
TGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCAATGCCGCTGAGTGAAGAAGGCCCTAGGGTGTGTAACCTCTTTCAGTAGGGAAGATAATGACGGTACCTACAGAA
GAAGCCCGGCTAATCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGGCTAGCGTTATTCGGAAATTTACTGGGCTTAAAGAGCACGTAGGCGGTATAGTAAGTGGAAAGTGA
GCCAGGGCTTAACTCGGAAGTCTTCAAACCTGCTAACTAGAGATTGATAGGGGATAGCGGAATTCCTAGTGTAGAGGTGAAATTTAGATATTAGGAGGAACCCGGA
GGCGAAGGCGGCTACTGGTCAAACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGAGCAAACA
>Otu373
TGGGGAATCTTAGACAATGGGGAACCCCTGATCTAGCCATGCCGCTGAGTGAAGGCCCTAGGGTGTGTAAGCTCTTTCAGCGGGGAAGATAATGACGGTACCCGAGAA
GAAGCCCGGCTAATCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGGCTAGCGTTATTCGGAAATTTACTGGGCTTAAAGAGCACGTAGGCGGTATAGTAAGTGGAAAGTGA
GCCAGGGCTTAACTCGGAAGTCTTCAAACCTGCTAACTAGAGATTGATAGGGGATAGCGGAATTCCTAGTGTAGAGGTGAAATTTAGATATTAGGAGGAACCCGGA
GGCGAAGGCGGCTACTGGTCAAACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGAGCAAACA

ATCCCGGGCTCAACCCGAACTGCCTTTGAACTGCCAGCCTTGAGTCCGAGAGAGGTGAGTGGAATCCGGGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAGGAACACCAG
 TGGCGAAGCGGCTACTGCTCGTACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
 >Otu374
 TGGGGAATCTTGCCAATGGGCGAAAGCCTGACGCAGCAACGCCGCTGCGGGATGAAGGCTCTCGGGTGTAAACCCCTTTCAGCAGGGACGAATCTGACGGTACCTGCAGA
 AGAAGCCCCGGCAAACCTACGTGCCAGCAGCCGCGTAACACGTAGGGGGCGAGCGTTGTCGGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGCGGCTCGGTAAGTCGGGTGTGAA
 AACTCAGGGCTCAACCTGAGACGCCACCTGATACTGCTGTGGCTAGAGTCCGGTAGGGGAGCGTGGAAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATCGCAGATATCAGGAGGAACACCA
 GCGGCGAAGCGGCGCTCTGGCCGCTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
 >Otu388
 TGGGGAATCTTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCTATGCCGCTGAGTATGAAGGCCCTAGGGTTGTAAGCTCTTTCGCTGGGAAGATAATGACGGTACCTGGATAA
 GAAGCCCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGGGCTAGCGTTGTCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGTAGGCGGCTATCCAAGTTGGGGGTGAAA
 TCCCTGGCTTAACCCAGGAATGCTTCAAACCTGGATGGCTAGAGTCCGAGAGAGGTGAGTGGAAATTCAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGAAAGAACACCAGT
 GGCGAAGCGGCTACTGCTCGTACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
 >Otu390
 TTTCCGAATCATTGCAATGGGCGAAAGCCTGACGACGCAACGCCGCTGGGGATGAAGGCCCTCGGGTGTAAACCCCTGTCATCAAGGAGCAAAAATTCGGTGAAGAGCCGAC
 CTGAGTTAACTGAAGAGGAAGAGGTGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGACCTCGAGCGTACTCGGATTACTGGGCGTAAAGCGTGGCTAGGCGGTGCG
 GGTGTGTAGGTGTAAAGCCATGGCTTAACCATGGAATGCGCCTGAAACTACCTGACTTGAAGTACTGGAGAGTAAGCGGAATTCGGGTGTAGCGGTGAAATCGGTAGAT
 ATCGGGAGGAACCAATGGCGAAGGCGACTACTGACAGATACTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCGAATG
 >Otu413
 TGGGGAATTTCCGCAATGGGCGCAAGCCTGACGGAGCAACGCCGCTGAGGGAGGAAGGCCCTAGGGTTGTAACCTCTTTTCTCTGGGAAGAAGACCTGACGGTACCAGAG
 GAATAAGCCTCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAAGACGGAGGAGGCAAGCCTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGTCCGACGGCGCTTTTAAAGTCTGTTGTA
 AAGCCACAGCTCAACTGTGGATCGGCAATGAAACTGGAGAGCTTGTGTAGGGGTAGAGGGAATTCGGGTGTAGCGGTGAAATCGGTAGATATCGGGAAGAACCAC
 GGTGCGAAAGCGCTCTGCTGGCCGTAACCTGACACTGAGGGAGCAAAGCTAGGGGAGCGAATG

Table S6: *Sodalinema* sp. OTU6-CS3 16S ribosomal RNA, partial sequence

>*Sodalinema* sp. OTU6-CS3 16S ribosomal RNA, partial sequence
 GTGCTACCATGCAAGTCAACGAAAGTTCTTCGGAACCTTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGAGAATCTACCTTCAGG
 ACGGGGACAACAGCTGGAACCGGCTGCTAATACCCGATATGCCGAAAGGTGAAATGTTATTTTCGCTGGAGAGGAGCTCG
 CGTCCGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAAGCTTACCAAGGCGACGATCGGTAGCTGGTCTGAGAGGATGAGCAGCCACAC
 TGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCA
 ACGCCGCGTGGGGGAAGAAGTTTTTGGATTGTAAACCCCTTTTCTCAAGGAAGAACAATAATGACGGTACTTGAGGAATC
 AGCCTCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGAGGCAAGCCTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGT
 TCGTAGGCGGCTGTTCAAGTCTGCTGTCAAAGACCGAGGCTCAACCTCGGGTCCGCAAGTGGAACTGAATAGCTAGAGGT
 CGGTAGGGGACAGAGGGAATTCAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTGGGAAGAACACCGGTGGCGAAAGCGCTCTG
 CTGGGCCGAACCTGACGCTGAGGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAATGGGATTAGATACCCAGTAGTCTTAGCCGTAAACG
 ATGGAACCTAGGTGTGGCTGTATCGACCCGGCCGCTGCCGAAGCTAACGCGTTAAGTTTCCGCTGGGGAGTACGCAC
 GCAAGTGTGAAACTCAGAGGAATTGACGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAGTATGTGGTTTAATTCGATGCAACCGGAAGA
 ACCTTACCAGGCTTGACATGCCGCAATCTCCTTGAAAGAGGAGAGTGCCTACGGGAGCGCGGACACAGGTGGTGCATG
 GCTGTGCTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCACAACGAGCGCAACCTCGTCTTAGTTGCCATCATTAA
 GTTGGGCACTCTAGGGAGACTGCCGGTGATAAACCCGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAGTCAATCATCATGCCCATATGTCC
 TGGGCTACCACGTACTACAATGGTGGGACAACGAGCAGCAACTCGCGA