

Supplementary Materials

Biodegradation potential and putative catabolic genes of culturable bacteria from an Alpine deciduous forest site

Caroline Poyntner¹, Andrea Kutzner¹ and Rosa Margesin¹

¹Department of Microbiology, University of Innsbruck, Technikerstrasse 25, 6020 Innsbruck, Austria

Table S1. Primers and PCR conditions for partial 16S rRNA gene amplification and the detection of putative catabolic genes: catechol-1,2-dioxygenase (C1,2D); multicomponent phenol hydroxylase (MPH); protocatechuate-3,4-dioxygenase (P3,4D).

Gene	Forward Primer 5'-3'	Reverse Primer 5'-3'	PCR conditons	Ref.
16S rRNA	AGAGTTTGATCCTGGCTC	AAGGAGGTGATCCAGCCGCA	i) 5 min at 95 °C; ii) 35 cycles of 30 s at 95 °C, 30 s at 52 °C, 1 min at 72 °C; iii) 10 min at 72 °C	[1]
C1,2D	CGCGGATTGTNGAYSTNTGGCANGCNAAYAC	GACTCAGGTNGCRWANGCRAARTCRTC	i) 3 min at 94 °C; ii) 30 cycles 30 s at 94 °C, 40 s at 60 °C, 60 s at 72 °C; iii) 10 min at 72 °C	[2]
MPH	GCGCGGAATTCGARTAYGTGYTGACCAA	GATCTCGAGCCGCGCCAGAACCAYTTRTC	i) 3 min at 94 °C; ii) 30 cycles 30 s at 94 °C, 40 s at 60 °C, 60 s at 72 °C; iii) 10 min at 72 °C	[2]
P3,4D	TGCCCNTACCACGGCTG	GCDCCGAKCTTCCAGTT	i) 5 min at 94 °C; ii) 10 cycles 1 min at 94 °C, 1 min at 60 °C, 1 min at 72 °C; iii) 15 cycles of 1 min at 94 °C, 1 min at 55 °C, 1 min at 72 °C; iv) 15 cycles of 1 min at 94 °C, 1 min at 50 °C, 1 min at 72 °C; v) 5 min at 72 °C	[3]

References

- [1] Lane, D. 16S/23S rRNA sequencing. In *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*, Stackebrandt, E., Goodfellow, M., Eds.; John Wiley & Sons: Chichester, 1991, pp. 115-175.
- [2] Tuan, N.N.; Hsieh, H.-C.; Lin, Y.-W.; Huang, S.-L. Analysis of bacterial degradation pathways for long-chain alkylphenols involving phenol hydroxylase, alkylphenol monooxygenase and catechol dioxygenase genes. *Biores. Technol.* **2011**, *102*, 4232–4240.
- [3] Li, C.; Zhang, C.; Song, G.; Liu, H.; Sheng, G.; Ding, Z.; Wang, Z.; Sun, Y.; Xu, Y.; Chen, J. Characterization of a protocatechuate catabolic gene cluster in *Rhodococcus ruber* OA1 Involved in naphthalene degradation. *Ann Microbiol* **2016**, *66*, 469–478.

Table S2. Identification of the 55 strains investigated, growth temperature range on R2A agar, effect of temperature (5°C and 20°C) on the utilization of organic compounds as sole carbon source, and presence of catabolic genes.

OD600: < 0.100 0.1 - <0.25 0.25 - <0.5 0.5 - < 0.75 0.75 - >1 >=1

LSS, lignosulfonic acid; BPA, bisphenol A; C1,2D, catechol-1,2-dioxygenase; MPH, multicomponent phenol hydroxylase; P3,4D, protocatechuate-3,4-dioxygenase

Strain	Accession number	OTU	Phylum	Species	Growth temp. range (°C)	LSS				Catechol				Phenol				BPA				BPA + YE				C1,2D	MPH	P3,4D		
						2 g/L 5°C	2 g/L 20°C	5 g/L 5°C	5 g/L 20°C	0.2 g/L 5°C	0.2 g/L 20°C	0.5 g/L 5°C	0.5 g/L 20°C	0.2 g/L 5°C	0.2 g/L 20°C	0.5 g/L 5°C	0.5 g/L 20°C	0.2 g/L 5°C	0.2 g/L 20°C	0.5 g/L 5°C	0.5 g/L 20°C	0.2 g/L 5°C	0.2 g/L 20°C	0.5 g/L 5°C	0.5 g/L 20°C					
AM0-02	MW969693	OTU17	Actinobacteria	<i>Rhodococcus sp.</i>	0-30	<0.1	0.250	0.221	0.286	0.275	0.270	0.112	<0.1	0.104	0.104	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1			1		
AM0-03	MW969733	OTU21	Bacteroidetes	<i>Pedobacter ginsenosidimutans</i>	0-30	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.120	0.133	0.322	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1				
AM0-04	MW980058	OTU20	Bacteroidetes	<i>Duganella levis</i>	0-30	<0.1	<0.1	0.130	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1			1	
AM0-06	MW969759	OTU09	Proteobacteria	<i>Pseudomonas sp.</i>	0-30	0.136	<0.1	0.299	0.141	0.231	0.112	<0.1	0.105	0.241	0.220	0.105	0.270	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.152	<0.1	0.237	1	1	1	
AM0-07	MW969809	OTU04	Proteobacteria	<i>Collimonas sp.</i>	0-30	<0.1	<0.1	0.137	0.152	<0.1	0.106	<0.1	0.246	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.121	<0.1	<0.1				
AM0-10	MW969906	OTU19	Proteobacteria	<i>Pseudomonas jessenii</i>	0-30	<0.1	<0.1	0.104	0.111	<0.1	0.135	<0.1	0.201	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.109	1		1	
AM0-14	MW971569	OTU18	Proteobacteria	<i>Serratia myotis</i>	0-35	<0.1	0.735	0.118	0.475	<0.1	<0.1	<0.1	0.104	<0.1	0.483	<0.1	0.108	<0.1	0.259	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1				
AM0-15	MW971570	OTU06	Bacteroidetes	<i>Pedobacter sp.</i>	0-30	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.137	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1				
AM0-16	MW971571	OTU02	Proteobacteria	<i>Collimonas fungivorans</i>	0-30	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.110	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1				
AM0-17	MW971573	OTU06	Bacteroidetes	<i>Pedobacter sp.</i>	0-30	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.174	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	1		1	
AM0-18	MW971574	OTU02	Proteobacteria	<i>Collimonas fungivorans</i>	0-30	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.105	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.166	0.354	0.118	<0.1	1			
AM0-19	MW971686	OTU11	Proteobacteria	<i>Serratia quinivorans</i>	0-35	0.220	0.681	0.302	0.752	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.145	0.365	<0.1	0.137	<0.1	0.681	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1			
AM0-23	MW971687	OTU02	Proteobacteria	<i>Collimonas fungivorans</i>	0-30	0.138	<0.1	0.163	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1			
AM0-28	MW971904	OTU16	Actinobacteria	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	0-35	0.417	1.107	0.426	0.945	0.329	0.592	<0.1	0.255	0.340	0.842	0.303	0.947	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1			
AM0-29	MW971928	OTU10	Proteobacteria	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0-30	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.133	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	1		1	
AM0-30	MW979603	OTU02	Proteobacteria	<i>Collimonas fungivorans</i>	0-30	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.101	0.139	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.188	0.131	<0.1	<0.1				
AM0-31	MW979602	OTU13	Proteobacteria	<i>Glaciimonas immobilis</i>	0-25	0.391	0.291	0.376	0.248	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.275	0.451	<0.1	0.297	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1		1		
AM0-33	MW980053	OTU12	Proteobacteria	<i>Pseudomonas frederiksbergensis</i>	-5-30	<0.1	<0.1	0.180	0.139	<0.1	<0.1	0.106	0.141	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	1		1	
AM0-34	MW979604	OTU08	Firmicutes	<i>Sporosarcina globispora</i>	-5-25	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.				
AM0-35	MW979608	OTU01	Proteobacteria	<i>Pseudomonas sp.</i>	0-30	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.152	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	1		1	
AM0-36	MW979609	OTU01	Proteobacteria	<i>Pseudomonas sp.</i>	0-30	<0.1	<0.1	<0.1	0.158	<0.1	<0.1	<0.1	0.108	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1			
AM0-39	MW979611	OTU03	Proteobacteria	<i>Pseudomonas sp.</i>	-5-30	0.140	<0.1	0.180	0.141	0.267	0.147	0.157	0.203	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	1			
AM0-44	MW979612	OTU03	Proteobacteria	<i>Pseudomonas sp.</i>	-5-30	<0.1	<0.1	<0.1	0.135	<0.1	0.130	<0.1	0.137	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	1		1	
AM0-51	MW979617	OTU01	Proteobacteria	<i>Pseudomonas sp.</i>	0-30	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.119	<0.1	0.159	0.220	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	1		1	
AM0-55	MW979619	OTU02	Proteobacteria	<i>Collimonas fungivorans</i>	0-30	<0.1	<0.1	0.105	0.138	<0.1	0.101	<0.1	0.130	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	1			
AM0-58	MW979618	OTU05	Proteobacteria	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0-30	<0.1	0.115	0.117	0.184	0.274	0.168	<0.1	0.221	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1				
AM0-61	MW979620	OTU02	Proteobacteria	<i>Collimonas fungivorans</i>	0-30	<0.1	<0.1	0.140	0.128	<0.1	0.108	<0.1	0.201	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.				
AM0-62	MW979691	OTU02	Proteobacteria	<i>Collimonas fungivorans</i>	0-30	<0.1	<0.1	0.119	0.129	<0.1	0.117	<0.1	0.203	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.162	<0.1	0.111	<0.1				
AM0-63	MW979751	OTU14	Proteobacteria	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0-30	<0.1	<0.1	<0.1	0.226	0.356	0.269	0.115	0.100	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.112	<0.1	1			
AM0-64	MW979752	OTU02	Proteobacteria	<i>Collimonas fungivorans</i>	0-30	<0.1	<0.1	0.133	0.130	<0.1	0.113	<0.1	0.218	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.307	<0.1				
AM0-65	MW979753	OTU04	Proteobacteria	<i>Collimonas sp.</i>	0-30	<0.1	<0.1	0.109	0.117	<0.1	0.118	0.103	0.251	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1				
AM0-66	MW979755	OTU15	Proteobacteria	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-5-30	<0.1	<0.1	<0.1	0.148	0.257	0.118	<0.1	0.105	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	1			
AM0-68	MW979754	OTU23	Firmicutes	<i>Paenibacillus sinopodophylli</i>	0-30	<0.1	<0.1	<0.1	0.134	<0.1	0.112	<0.1	0.215	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1			
AM0-69	MW979756	OTU02	Proteobacteria	<i>Collimonas fungivorans</i>	0-30	<0.1	<0.1	<0.1	0.129	&																				

Table S3. Accession numbers of sequenced genes Catechol-1,2-dioxygenase (C1,2D), multicomponent phenol hydroxylase (MPH) and protocatechuate-3,4-dioxygenase (P3,4D) deposited at Genbank NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>).

Strain	C1,2D	MPH	P3,4D
AM0-02			MZ603722
AM0-06	MZ574941	MZ617330	MZ603721
AM0-14			
AM0-19			
AM0-31		MZ617333	
AM0-39	MZ617341		
AM0-58			
AM0-63	MZ617335		
AM0-64			
AM0-66	MZ617336		
AM0-71	MZ617338	MZ617331	MZ603720
AM0-75			MZ617344
AM0-77		MZ617332	MZ617345
AM0-81			
AM0-85			
AM0-90	MZ617339		MZ617347
AM0-92	MZ617340		MZ617348
AM0-97			MZ617346
AM0-98	MZ617342		