



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA VOLUNTÁRIA – PICVOL

**REVISÃO TAXONÔMICA DE FILOGENÉTICA DE QUATRO FAMÍLIAS DE
MICROLIQUENS TROPICAIS NO BRASIL**

Revisão taxonômica e filogenética de espécies de Caliciaceae de Sergipe

Área do Conhecimento: Botânica
Subárea do conhecimento: Taxonomia Vegetal
Especialidade do conhecimento: Taxonomia de Criptogamos

Relatório Final
Período da bolsa: de setembro de 2021 a agosto de 2022

Este projeto é desenvolvido com bolsa de iniciação científica
PICVOL

Orientador(a): Marcela Eugenia da Silva Caceres.

Autor: Janisson Willy dos Santos Dias.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

SUMÁRIO

- 1. Introdução**
- 2. Objetivos**
- 3. Metodologia**
- 4. Resultados e discussões**
- 5. Conclusões**
- 6. Perspectivas de futuros trabalhos**
- 7. Referências bibliográficas**
- 8. Outras atividades**

1. INTRODUÇÃO

Os líquens são junções entre organismos micobiontes (fungos) com organismos fotobiontes (algas verdes e/ou cianobactérias) que estabelecem relações simbióticas que resultam em um talo com uma estrutura característica (Kirk et al., 2001; Ahmadjian, 1993). Os fungos contribuem em maior parte para essa simbiose, uma vez que auxiliam com maior biomassa, enquanto as unidades celulares ou filamentosas dos fotobiontes localizam-se dentro do talo líquênico (Ahmadjian, 1993). Dessa forma, como a morfologia dos líquens é formada em maior parte pelo fungo, a taxonomia do líquen é sinônimo de taxonomia do micobionte (Webster & Weber, 2007).

Os fungos liquenizados podem ser encontrados nos mais diversos habitats terrestres, que muitas vezes não são acessíveis a outros organismos como à maioria das plantas, por exemplo. Isso acontece devido à capacidade desses organismos de suportar altas temperaturas, alta radiação solar e tolerar repetidos ciclos de desidratação e reidratação – por esses motivos são considerados organismos pioneiros clássicos (Webster & Weber, 2007). Ainda segundo Webster & Weber (2007), os talos dos líquens podem ser encontrados em três formas: crostoso (em forma de crosta); fruticoso (em forma de arbusto em miniatura) ou folioso (em forma de folha). Contudo, há outras formas de talo, como: filamentoso (formado por filamentos de algas verdes); esquamuloso (formado por pequenas escamas aderidas) e dimórfico (combinação entre escamoso-fruticoso ou crostoso-fruticoso) (Spielmann, 2006).

Os líquens da família Caliciaceae Chevall, pertencem ao filo Ascomycota, classe Lecanoromycetes e ordem Caliciales. Atualmente, a família é considerada a oitava maior de fungos liquenizados, possuindo cerca de 675 espécies distribuídas em 36 gêneros (Lücking et al., 2016). No Brasil, há registros de 15 gêneros (Marcelli 2003, Cáceres et al. 2014). No estado de Sergipe, há registros da ocorrência de 7 gêneros da família Caliciaceae, com 81 espécies. Os gêneros que ocorrem no estado de Sergipe são: *Amandinea*,

Baculifera, Cratiria, Dirinaria, Gassicurtia, Hafellia e Stigmatochroma.

Durante muito tempo acreditava-se que a família Caliciaceae incluía um grupo de ascomicetos protunicados (de paredes finas e evanescentes) com mazéδιο (um acúmulo de esporos soltos e maduros cobrindo a superfície do ascoma). Características essas que estão intimamente relacionadas com a dispersão passiva dos ascósporos. Com isso, diferentes gêneros que possuíssem essas características eram incluídos na família Caliciaceae, sem que necessariamente tivessem uma relação natural (Prieto & Wedin, 2016).

As famílias Caliciaceae e Physciaceae chegaram a ser unidas em uma única família, após análises moleculares concluírem que elas formavam um grupo monofilético. Um tempo depois, após novas e mais completas análises moleculares, realizadas por Prieto & Wedin (2016), foi possível perceber que a família Caliciaceae abrigava mais gêneros que a família Physciaceae, assim a família Caliciaceae foi reestabelecida (Wedin et al., 2000; Wedin & Grube, 2002; Barbosa, 2019). Atualmente, a família Caliciaceae passou a abrigar dois grandes clados que, anteriormente, correspondiam à família Physciaceae, incluindo a maioria dos táxons com mazéδιο e os gêneros microfoliosos *Dirinaria* e *Pyxine* e o gênero coletivo *Buellia* s.l. (Prieto & Wedin, 2016).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Iniciar a criação do banco de DNA de líquens de Sergipe com a utilização do DNA Barcode para espécies de fungos liquenizados, neste caso espécies de Caliciaceae e análises de filogenia e classificação das espécies amostradas.

2.2 Objetivos Específicos

- Coletar amostras do grupo a ser estudado, nas áreas de estudo listadas;
- Identificar as espécies por meio de caracteres macro e micro morfológicos, bioquímicos e moleculares;



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

- Extrair o DNA das amostras coletadas;
- Revisar posicionamento filogenético dos grupos de líquens estudados dos quais foram obtidas boas sequências;
- Estabelecer um banco de DNA dos Líquens Brasileiros, incluindo Líquens de Sergipe, no herbário ISE;
- Disponibilizar as sequências genéticas de qualidade das espécies nos principais bancos de dados, como o GenBank;
- Contribuir, através dos dados coletados, para a conservação da biodiversidade brasileira.

3. METODOLOGIA

Áreas de estudo

O presente trabalho foi desenvolvido com amostras coletadas em 5 locais. A primeira coleta, realizada no dia 29/10/2021, ocorreu em áreas próximas à entrada do Parque Nacional da Serra de Itabaiana (PARNASI) (10,75448°S 37,34229°W). A segunda, ocorreu no dia 16/11/2021, em áreas próximas ao Riacho dos Negros, também conhecido como Poço das Moças, no PARNASI (10,74764°S 37,33997°W). A terceira, foi realizada no dia 09/12/2021, nas proximidades da Cachoeira Cascata e Rio das Pedras, também no PARNASI (10,75743°S 37,36825°W). O clima no Parque Nacional da Serra de Itabaiana é do tipo tropical úmido e a vegetação de mata atlântica. A quarta, ocorreu no dia 11/03/2022, no povoado Rio dos Negros em Carira/SE, que apresenta clima semiárido e vegetação de caatinga (10°29'40''S 37°48'47''W). Amostras coletadas paralelamente ao projeto por outros membros do LALIQ (Laboratório de Líquenologia), na Serra do Caraça, em Minas Gerais, e no Raso da Catarina, na Bahia, também foram utilizadas neste estudo.



Figura 1 Coleta em Carira/SE



Figura 2 Coleta em Carira/SE

Processamento das amostras

A técnica de coleta oportunista (Cáceres et al., 2008) foi utilizada para realizar a amostragem dos materiais coletados nas 4 áreas visitadas. A técnica consiste na coleta de líquens em cascas de árvores inspecionadas que estão dispostas por toda a extensão do local selecionado para realizar a coleta. A técnica foi aplicada tanto nas principais trilhas, quanto na vegetação mais fechada, de acordo com a visualização de espécimes de líquens (Cáceres et al., 2008).

Para a identificação dos locais de coleta, foram utilizadas coordenadas geográficas. Para a coleta, foram utilizados facas e canivetes para a remoção dos espécimes e de parte do substrato arbóreo. Após a retirada, as amostras foram depositadas em sacolas de papel, que, posteriormente, foram devidamente identificadas. Após a coleta, as amostras foram encaminhadas ao


SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

Laboratório de Liquenologia, da Universidade Federal de Sergipe, Campus Professor Alberto Carvalho, onde foram armazenadas em freezers. Logo após as amostras foram coladas em papel cartão de 15x9cm para confecção da exsicata.



Figura 3 Exsicatas confeccionadas das espécies coletadas em Carira/SE

Para a identificação das espécies coletas em campo, foram realizados testes com luz UV, a fim de perceber se os espécimes reagiam quando expostos à luz, assim como análises macroscópicas observando a cor, forma e superfície do talo, formas de crescimento, além do tipo e forma das estruturas reprodutivas. Posteriormente, utilizando lâminas de aço e lupas binoculares, realizou-se cortes transversais nas amostras. Em seguida, foram montadas lâminas para microscopia a fim de observar caracteres morfológicos dos espécimes no microscópio óptico. Nas análises da microscopia, foi possível observar as estruturas das amostras, como: ascosporo, himênio e carbonização. Além de realizar a medição dos ascosporos, considerando comprimento e largura, e testes histoquímicos com solução de Hidróxido de Potássio (KOH) a 10% e solução de Lugol a 2%. A identificação taxonômica, por sua vez, foi realizada utilizando a bibliografia especializada, que neste caso são chaves de identificação (Cáceres 2007 & Marbach 2000).



Figura 4. Análises de microscopia das amostras coletadas

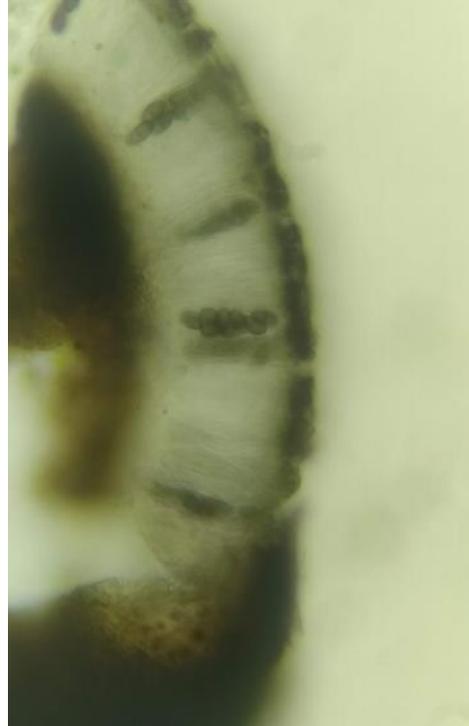


Figura 5. Estruturas morfológicas observadas na microscopia

Extração de DNA

Para a extração de DNA, previamente, foram selecionadas 10 amostras, levando em consideração a qualidade morfológica das mesmas, que foram devidamente identificadas e numeradas, cortadas (pequenos fragmentos dos ascomas) e colocadas em microtubos de 1,5 mL com suas respectivas identificações, e armazenadas em freezer até a extração. A extração foi realizada no dia 17/03/2022, utilizando o Wizard® Genomic DNA Purification Kit, desenvolvido em treze etapas listadas abaixo:

- Maceração das amostras em eppendorf;
- Adição de 600 ul de Nucleiylsis Solution, seguido de vórtex por 1-3 segundos;
- Incubação das amostras à 65°C por 15 minutos, para a desnaturação da enzima;
- Adição de 3ul de Rinase Solution, acompanhado de mistura por inversão de 2-5 vezes;
- Incubação à 37°C por 15 minutos, para a ativação da enzima, seguido de


SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

descanso à temperatura ambiente por 15 minutos;

- Adição de 200ul de Protein Precipitation Solution, acompanhado de vórtex por 20 segundos;
- Centrifugação por 3 minutos à 16.000xg.
- Coleta de sobrenadante por tubo, contendo 600ul de isopropanol, misturado por inversão;
- Centrifugação à 16.000xg por 1 minuto;
- Descarte de isopropanol;
- Adição de etanol 70% e inversão do tubo pra lavagem do DNA, seguido de centrifugação à 16.000xg por 1 minuto.
- Descarte do etanol.
- Adição de ul de DNA Rehydration Solution, seguido de incubação à 65°C por 1 hora, ou deixar overnight no freezer.



Figura 6. Extração de DNA das amostras coletadas no Laboratório de Biologia Molecular



Figura 7 Extração de DNA das amostras coletadas no Laboratório de Biologia Molecular

Reação de PCR

A reação de PCR (reação em cadeia de polimerase), foi realizada em 31/03/2022, utilizando o kit de amplificação REDEExtract-N-Amp Plant PCR. O processo foi desenvolvido em duas etapas, primeiro foi realizado a preparação dos fragmentos de amostras cortadas nos tubos com os reagentes. Além do preparo de um controle negativo com água. Logo após as amostras foram adicionadas ao termociclador para serem submetidas aos seis ciclos da reação de PCR, listados abaixo:

- 3 minutos à 94°C;
- 30 segundos à 94°C (35x);
- 45 segundos à 56° (35x);
- 1 minuto à 72° (35x);
- 10 minutos à 72°;
- Ao infinito à 4°C.

Logo após a reação, as amostras foram submetidas ao processo de eletroforese. Para isto, foi preparado o gel de agarose a 2% que foi adicionado ao aparato de eletroforese. As amostras foram colocadas em poços formados no gel e, em seguida, foram submetidas ao processo, que consiste na migração e separação das partículas de DNA sob influência de campo elétrico aplicado no gel. Após isso, as amostras foram purificadas e enviadas para o Laboratório de Genética da Universidade Federal de Pernambuco para o sequenciamento genético.



Figura 8. Amostras submetidas ao processo de PCR. Seta amarela apontado para a fileira de amostras da família Caliciaceae utilizadas neste trabalho

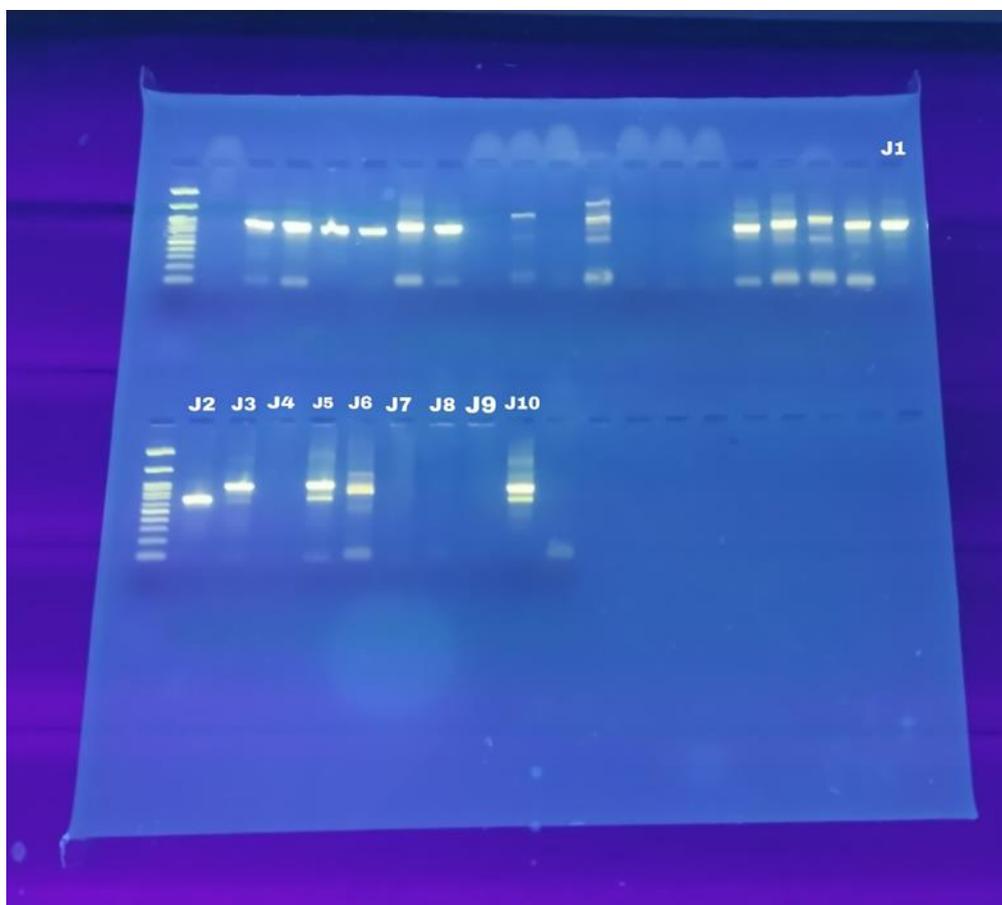


Figura 9. Amostras submetidas ao processo de eletroforese. Identificação de J1 – J10 utilizada para facilitar a identificação das amostras da família Caliciaceae.

Edição das sequências

Após o sequenciamento genético, as amostras foram unidas em um único arquivo no formato FASTA e submetidas ao algoritmo Basic Local Alignment Search Tool (BLAST), a fim de comparar as sequências biológicas de nucleotídeos de sequências de DNA. As informações de sequências geradas, resultado do BLAST, número de acesso o genbank, porcentagem de identidade e E. Value, encontram-se listadas na tabela abaixo (Tabela 1):

Tabela 1 Resultados do BLAST

| Espécies sequenciadas | Sequências geradas | Resultado do blast | Número de acesso do genbank (ITS rDNA) | Porcentagem de identidade | E. Value |
|------------------------------------|---------------------------|--------------------------------|-----------------------------------------------|----------------------------------|-----------------|
| <i>Amandinea incrustans</i> | Sequência forward- J64 | <i>Buellia sublauricassiae</i> | MK499344.1 | 93.05% | 0.0 |
| | Sequência reverse- J64 | <i>Buellia sublauricassiae</i> | MK499344.1 | 92.79% | 0.0 |
| <i>Baculifera xylophila</i> | Sequência forward- J65 | <i>Buellia lauricassiae</i> | AB971692.1 | 90.50% | 0.0 |
| | Sequência reverse- J65 | <i>Buellia sublauricassiae</i> | MK499344.1 | 90.24% | 2e-180 |
| <i>Hafellia parastata</i> | Sequência forward- J66 | <i>Buellia</i> sp. | JQ673471.1 | 92.86% | 0.0 |
| | Sequência reverse- J66 | <i>Buellia</i> sp. | JQ673471.1 | 93.27% | 0.0 |



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

| | | | | | |
|-------------------------------|--------------|--------------------|------------|--------|-----|
| <i>Buellia</i> | Sequência | <i>Amandine</i> | MZ243485.1 | 82.83% | 1e- |
| <i>subdisciformis</i> | forward- J67 | <i>a aff.</i> | | | 105 |
| | | <i>punctata</i> | | | |
| | Sequência | <i>Amandine</i> | OL467351.1 | 78.33% | 3e- |
| | reverse- J67 | <i>a punctata</i> | | | 121 |
| <i>Buellia halonia</i> | Sequência | <i>Buellia</i> sp. | JQ673471.1 | 87.53% | 1e- |
| | forward- J68 | | | | 154 |
| | Sequência | - | - | - | - |
| | reverse- J68 | | | | |
| <i>Amandinea</i> | Sequência | <i>Buellia</i> sp. | JQ673471.1 | 87.53% | 1e- |
| <i>incrustans</i> | forward- J69 | | | | 154 |
| | Sequência | <i>Buellia</i> sp. | JQ673471.1 | 89.24% | 1e- |
| | reverse- J69 | | | | 164 |

Após verificar, no BLAST, se todas as amostras enviadas foram sequenciadas e estavam livres de contaminações que comprometessem o resultado da análise no algoritmo, o arquivo contendo todas as sequências foi alinhado no site MAFFT alignment and NJ / UPGMA phylogeny. Depois de alinhado, o arquivo foi submetido ao programa BioEdit, para a realização da edição das sequências de nucleotídeos. No BioEdit, os nucleotídeos de cada sequência que não foram sequenciados foram substituídos pelos nucleotídeos correspondentes.


SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA



Figura 10. Sequências genéticas das amostras após a edição no programa BioEdit

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

No Brasil, de acordo com o levantamento do herbário ISE, há registros da ocorrência de 16 gêneros da família Caliciaceae, totalizando cerca de 189 espécies distribuídas dentro dos gêneros descritos.

Segundo o levantamento feito por André Aptroot, dos 16 gêneros que ocorrem no país, 7 possuem ocorrência registrada no estado de Sergipe, sendo eles: *Amandinea*, *Baculifera*, *Cratiria*, *Dirinaria*, *Gassicurtia*, *Hafellia* e *Stigmatochroma*. Dos gêneros citados, *Hafellia*, *Stigmatochroma* e *Dirinaria* possuem 47, 14, 10 ocorrências registradas no estado, respectivamente.

O tipo de vegetação em que as espécies dos gêneros da família Caliciaceae ocorrem com maior frequência no estado de Sergipe, está descrito na tabela abaixo (Tabela 2).



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

Tabela 2. Ocorrência e distribuição das espécies da família Caliciaceae em Sergipe.

| Espécies em Sergipe | Mata Atlântica | Caatinga |
|--------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------|
| <i>Amandinea extenuata</i> (Müll. Arg.) Marbach | | x |
| <i>Baculifera remensa</i> (Stirt.) Marbach | X | |
| <i>Baculifera imshaugiana</i> (R.C. Harris) Marbach | X | |
| <i>Baculifera longispora</i> (Marbach) | X | |
| <i>Cratiria megaobscurior</i> (Marbach) | X | |
| <i>Cratiria obscurior</i> (Stirt.) Marbach & Kalb | X | |
| <i>Dirinaria picta</i> (Sw.) Schaer. ex Clem. | X | x |
| <i>Dirinaria leopoldii</i> (Stein) D.D. Awasthi | | x |
| <i>Dirinaria</i> sp. | | x |
| <i>Dirinaria confluens</i> (Fr.) D.D. Awasthi | | x |
| <i>Dirinaria picta</i> (Sw.) Clem. & Shear | X | |
| <i>Gassicurtia</i> sp. | X | |
| <i>Hafellia parastata</i> (Nyl.) Kalb | X | |
| <i>Hafellia demutans</i> (Stirt.) Pusswald | X | |
| <i>Hafellia curatellae</i> (Malme) Marbach | X | |
| <i>Hafellia pruinosa</i> (Marbach & Kalb) | X | |
| <i>Hafellia bahiana</i> (Malme) Sheard | | x |
| <i>Hafellia</i> sp. | | x |
| <i>Stigmatochroma metaleptodes</i> (Nyl.) Marbach | X | |
| <i>Stigmatochroma</i> sp. | X | |
| <i>Stigmatochroma gerontoides</i> (Stirt.) Marbach | X | x |
| <i>Stigmatochroma epimartum</i> (Nyl.) Marbach | | x |



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

Nos primeiros três campos realizados para o PARNASI, para coletar exemplares da família Caliciaceae, foram coletados vinte e um exemplares, destes, três reagiram quando expostos à luz ultravioleta em laboratório. Após analisar as amostras em lupas binoculares, constatou-se que nenhum dos exemplares coletados pertenciam à família Caliciaceae. Isso pode ser explicado porque as espécies dessa família são encontradas com mais frequência em regiões abertas com vegetação de Caatinga e até Restinga (Cáceres et al., 2008). Como as áreas visitadas no PARNASI, para coleta dos exemplares, foram áreas de mata mais fechada, isso provavelmente interferiu na localização dos espécimes da família.

No quarto e último local visitado, no povoado Rio dos Negros em Carira/SE, que possui o clima semiárido e vegetação de Caatinga, foi possível coletar vinte e três exemplares, e ao analisar as amostras em laboratório, com o auxílio da lupa binocular, foi possível identificar quatro dos exemplares coletados como pertencentes da família Caliciaceae.

Após análises macro e microscópicas das amostras disponíveis no Laboratório de Liquenologia, da Universidade Federal de Sergipe, que haviam sido coletadas na Serra do Caraça, em Minas Gerais, e no Raso da Catarina, na Bahia, foi possível identificar seis espécies da família Caliciaceae. Duas espécies da coleta na Serra do Caraça e quatro do Raso da Catarina.

As espécies coletadas no povoado Rio dos Negros, Serra do Caraça e no Raso da Catarina foram identificadas e estão descritas na tabela abaixo (Tabela 3).



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

Tabela 3. Espécies identificadas após coleta

| N° de Herbário | Espécie | Local de Coleta |
|-----------------------|----------------------------------------------------------------|------------------------|
| 1.500 | <i>Amandinea incrustans</i> (J. Steiner in Zahlbr.) Marbach | Rio dos Negros (SE) |
| 1.501 | <i>Baculifera xylophila</i> (Malme) Marbach | Rio dos Negros (SE) |
| 1.502 | <i>Hafellia parastata</i> (Nyl.) Kalb | Rio dos Negros (SE) |
| 1.503 | <i>Baculifera micromera</i> (Vain.) Marbach | Rio dos Negros (SE) |
| 51.946 | : <i>Buellia subdisciformis</i> (Leight.) Jatta | Serra do Caraça (MG) |
| 51.984 | <i>Buellia halonia</i> (Ach.) Tuck | Serra do Caraça (MG) |
| 54.032 | <i>Hafellia demutans</i> (Stirton) Pußwald | Raso da Catarina (BA) |
| 53.868 | <i>Buellia</i> sp. | Raso da Catarina (BA) |
| 53.880 | <i>Cratiria vioxanthina</i> (Elix) Kalb & Elix | Raso da Catarina (BA) |
| 53.978 | <i>Amandinea incrustans</i> (J. Steiner in Zahlbr.) Marbach | Raso da Catarina (BA) |

Após identificação, as dez amostras foram submetidas ao processo de extração de DNA e PCR. Das dez espécies submetidas ao processo de eletroforese, apenas seis foram amplificadas e enviadas para o sequenciamento genético no Laboratório de Genética da Universidade Federal de Pernambuco. As amostras utilizadas foram registradas com códigos moleculares (J64 – J69) para facilitar a identificação de cada espécie e estão descritas na tabela abaixo (tabela 4):



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

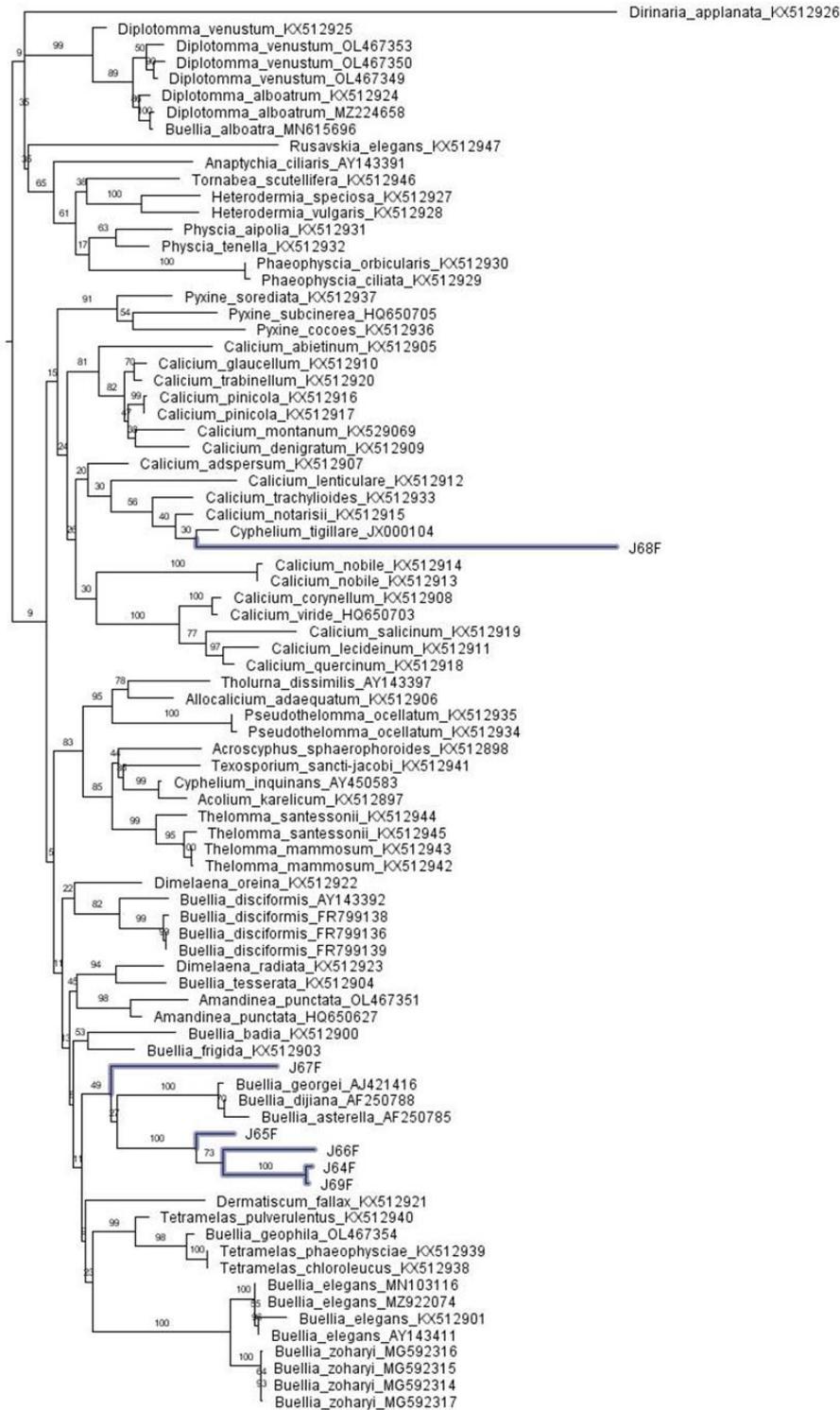
Tabela 4. Código molecular, N° de herbário e identificação das amostras amplificadas

| Código Molecular | N° do Herbário | Espécie |
|-------------------------|-----------------------|-------------------------------|
| J64 | 1.500 | <i>Amandinea incrustans</i> |
| J65 | 1.501 | <i>Baculifera xylophila</i> |
| J66 | 1.502 | <i>Hafellia parastata</i> |
| J67 | 51.946 | <i>Buellia subdisciformis</i> |
| J68 | 51.984 | <i>Buellia halonia</i> |
| J69 | 53.978 | <i>Amandinea incrustans</i> |

Após a edição dos nucleotídeos das sequências genéticas, as espécies identificadas e sequenciadas com o primer Internal Transcribed Spacer (ITS), serviram de base para a construção da árvore filogenética.


SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

Figura 11. Árvore filogenética de espécies de Caliciaceae, sequenciadas com primer ITS





SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

Na árvore filogenética, é possível observar que na parte superior, estão localizadas as espécies do gênero *Diplotomma*. As espécies desse gênero possuem **talo** crostoso, superficial, delimitado, raramente efuso, cinza pálido a escuro. **Ascomata** aphotecia, emergente. **Margem** tallina às vezes presente, pálida, fina. **Disco** preto, às vezes pruinose branco-acinzentado. **Epitécio** marrom. **Hymenium** incolor, I+ azul. **Hipotécio** castanho-claro a castanho-escuro, semi-opaco. **Asci** com 8 esporos. **Ascósporos** septados a submuriformes, distoseptados, ascósporos marrons com lúmen arredondado (Cannon et al, 2021).

Ainda na parte superior da árvore, é possível notar que a amostra J68F(Forward), mesmo pertencendo ao gênero *Buellia*, sendo identificada como *B. halonia*, foi posicionada em um clado divergente. Isso ocorreu, muito provavelmente, por se tratar de uma sequência de baixa qualidade que acabou refletindo na posição da espécie na árvore filogenética, situando a amostra distante das demais espécies do gênero e a posicionando em um clado diferente do qual ela normalmente se encaixaria, caso a sequência possuísse uma qualidade melhor. Resultados como estes servem de alerta para a importância da preservação de sequências de alta qualidade.

Na porção mais inferior da árvore filogenética, é possível observar a localização das espécies do gênero *Buellia*, que eram o alvo do trabalho. As espécies pertencentes a esse gênero possuem **talo** crostoso, liso, rimoso, areolado, granular ou levemente placodioide, às vezes imerso, branco a cinza, amarelo ou marrom, muitas vezes delimitado por um protalo escuro e formador de mosaico, corticado ou não, camada epinecra presente, muitas vezes pronunciada. **Ascomata** apothecia, imerso, emergente ou superficial desde o início, preto, às vezes branco-pruinose. **Margem** tallina ausente, ou em apotécios imersos não distinguíveis do talo. **Epitécio** marrom a verde-oliva, K–, N± vermelho. **Hymenium** incolor ou verde na parte superior, I+ azul, com ou sem numerosas gotículas de óleo que não se dissolvem em K. **Hypothecium** pálido ou mais geralmente marrom escuro, às vezes verde-oliva em parte. **Asci**

com 4 a 8 esporos. **Ascósporos** marrons, 1(-3)-septados ou raramente submuriformes, elipsoidais, cilíndricos ou fusiformes, retos ou levemente curvos; parede de espessura uniforme, ou espessada no septo (raramente também subapicalmente), às vezes mais fina e pálida nos ápices, superfície lisa ou finamente ornamentada (Cannon et al, 2021).

Ainda na parte inferior, é possível observar que este é o local onde grande parte das espécies do gênero *Buellia* estão posicionadas. À exemplo da amostra J67F(*B. subdisciformis*), que se posiciona no clado próximo as outras espécies do gênero. No entanto, o mesmo acontece com as amostras J64F, J65F, J66F e J69F que, seguindo a bibliografia especializada de Marbach (2000) para identificação das espécies, foram identificadas como *Amandinea incrustans*, *Baculifera xylophila*, *Hafellia parastata* e *Amandinea incrustans*, respectivamente, e mesmo sendo de gêneros diferentes estão posicionadas juntamente com as outras espécies do gênero *Buellia*. Com isso, não foi possível observar a formação de clados formados por gêneros como *Baculifera* e *Hafellia*, na árvore filogenética, não podendo afirmar que esses gêneros se separaram geneticamente do grande gênero *Buellia*.

Dessa forma, é importante destacar que, apesar de poucas espécies da família Caliciaceae terem sido sequenciadas (seis espécies), o resultado obtido corroborou com a morfologia das espécies, pois é possível notar que elas estão localizadas, na árvore filogenética, juntamente com as demais espécies do gênero *Buellia*.

5. CONCLUSÕES

Os gêneros que foram alvo do trabalho localizaram-se na parte inferior da árvore filogenética elaborada, onde é possível notar um grande número de espécies do gênero *Buellia*. Ademais, apesar de poucas espécies da família Caliciaceae terem sido coletadas e sequenciadas, a filogenia das amostras corroborou com a morfologia das espécies presentes na árvore, podendo observar que elas posicionaram-se juntamente com as demais espécies do

gênero *Buellia* na árvore filogenética.

6. PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS

Para trabalhos futuros, espera-se dar continuidade a criação do banco de DNA de espécies da família Caliciaceae de Sergipe, a partir da coleta de mais espécies da família de diferentes gêneros e em diferentes áreas do estado para realizar o sequenciamento genético. Além da realização de coleta de exemplares nas demais áreas destacadas no plano do trabalho que, devido ao tempo, não foi possível realizar.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmadjian V. 1993. The Lichen Symbiosis. New York: John Wiley & Sons. p. 250.
- Andrade, D. S. et al. Crustose *Caliciaceae* in restinga vegetation in Brazil with a new species of *Gassicurtia* and two identification keys. The Bryologist. 2020.
- Barbosa, T. D. Caliciaceae foliosas em Mato Grosso do Sul, Bahia. Tese (Mestrado em Biologia) – Universidade Federal do Mato Grosso do Sul. Campo Grande, p. 209. 2019.
- Cáceres, M. E. S. et al. 2008. Corticolous Microlichens in Northeastern Brazil: Habitat
- Cáceres, M.S., Aptroot, A. & Ertz, D. (2014) New species and interesting records of Arthoniales from the Amazon, Rondônia, Brazil. British Lichen Society, The Lichenologist 46: 573–588.
- Caliciales in GBIF Secretariat (2021). GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei> accessed via GBIF.org on 2022-06-07.
- Cannon, P. et al. Revisions of British and Irish Lichens vol. 15. British Lichen Society, 30 June 2021.
- Differentiation Between Coastal Mata Atlântica, Caatinga and Brejos de Altitude. The Bryologist, 111(1) p. 98-117.
- ICMBIO. 2016. Plano de Manejo – Parque Nacional Serra de Itabaiana.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

Disponível em: <https://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/plano-de-manejo/dcom_plano_de_manejo_Parna_Serra_de_Itabaiana.pdf>. Acesso em: 09 jun 2022.

Kirk PM, Cannon PF, David JC. 2001. Dictionary of fungi. 9th ed. CABI Bioscience, Egham, UK.

Lücking, R., Hodkinson, B. P. & Leavitt, S. D. 2016. The 2016 classification of lichenized fungi in the Ascomycota and Basidiomycota – Approaching one thousand genera. The American Bryological and Lichenological Society, Inc. The Bryologist 119(4), pp. 361–416.

Marcelli, M.P. (2003) Checklist of lichens and lichenicolous fungi of Brazil. Versão 3.

Prieto, M. & Wedin, M. 2016. Phylogeny, taxonomy and diversification events in the Caliciaceae. Fungal Diversity.

Webster, J. & Weber, R.W.S. 2007. Introduction to Fungi. 3° ed. Cambridge, Cambridge University Press.

Wedin, M. & Grube, M. (2002) Proposal to conserve the name Physciaceae against Caliciaceae (Lecanorales, Ascomycota). Taxon 51: 802.

Wedin, M., H. Döring, A. Nordin & L. Tibell. 2000. Small subunit rDNA phylogeny shows the lichen families Caliciaceae and Physciaceae (Lecanorales, Ascomycotina) to form a monophyletic group. Canadian Journal of Botany 78: 246–254.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

8. OUTRAS ATIVIDADES

| Atividade | Participação | Título/Instituição | Período |
|----------------------------|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Curso | Participante | Pré-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa da Universidade Federal de Sergipe | 18/07/2021 |
| Ciclo de Discussões | Ouvinte | Ciclo de Discussões Ecológicas: Ecologia das Interações, realizado pela Universidade Federal de Sergipe | 29/11 a 03/12/2021 |
| Simpósio | Ouvinte | IV Simpósio de Zoologia de Vertebrados Neotropicais, realizado pela Universidade Federal da Bahia | 13/12 a 17/12/2021 |
| Simpósio | Ouvinte | Semana Micológica realizada pela Universidade Federal de Pernambuco | 22/01 a 27/01/2022 |
| Simpósio | Ouvinte | IV Science: Simpósio de Ciências Naturais de Sergipe, realizado pelo Departamento de Biociências da Universidade Federal de Sergipe | 01/02 a 04/02/22 |
| Minicurso | Ouvinte | Escrita Científica: Práticas e Ferramentas, no IV Science realizado pelo Departamento de Biociências da Universidade Federal de Sergipe | 01/02/2022 |
| Minicurso | Ouvinte | Bases Teóricas para a | 02/02/2022 |



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

Construção de Modelos de
Distribuição de Espécies, no IV
Sciense realizado pelo
Departamento de Biociências
da Universidade Federal de
Sergipe

| | | | |
|------------------|---------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Minicurso | Ouvinte | Metodologias para o Ensino de Ecologia e Sustentabilidade, no IV Sciense realizado pelo Departamento de Biociências da Universidade Federal de Sergipe | 03/02/2022 |
| Minicurso | Ouvinte | Experimentação com Sementes Florestais, no IV Sciense realizado pelo Departamento de Biociências da Universidade Federal de Sergipe | 04/02/2022 |
| Seminário | Ouvinte | Webinário Comemorativo: Dia Mundial da Ecologia - Perspectivas Ecológicas Pós-Pandemia, realizado pela Universidade Federal da Paraíba | 02/06 a 03/06/2022 |
| Encontro | | Encuentro XV del Grupo Latinoamericano de Liquenología | 25 a 29/07/2022 |
