

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE.
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PESQUISA.**

**BRBOL-LIQ: CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE ATRAVÉS DO
BRAZILIAN BARCODE OF LIFE COM OS FUNGOS LIQUENIZADOS**

PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA - PIBIC.

**CONSERVAÇÃO EX-SITU DE LIQUENS DA CAATINGA ATRAVÉS
DO CÓDIGO DE BARRAS GENÉTICO: GÊNERO PERTUSARIA.**

Botânica

Taxonomia Vegetal

Taxonomia de Criptogamos

Relatório final.

Período da bolsa: 01/09/2021 a 31/08/2022.

Este projeto é desenvolvido com bolsa de iniciação científica PIBIC/CNPq.

Orientadora: Marcela Eugenia da Silva Cáceres

Autora: Lara Melo Andrade

SUMÁRIO

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

1. Introdução.

São conhecidos por líquens, os fungos (micobiontes) que desenvolvem relação simbiótica com algas e/ou cianobactérias (simbiontes) (Webster & Weber, 2007), em um processo denominado de liquenização. Os fungos liquenizados correspondem a cerca de 20% de todos os fungos conhecidos, sendo que, dentre os Ascomycota, esse número corresponde a quase metade das espécies (Kirk et al., 2001), ressaltando o quanto a liquenização é importante para o desenvolvimento de vários organismos do reino Fungi (Hawksworth & Hill, 1984; Marcelli, 1998). Ainda, de acordo com Mark et al., (2020), os fungos liquenizados podem ser considerados como possíveis ecossistemas, uma vez que esta associação conta com a presença de outros organismos, além dos organismos principais (fungo e alga e/ou cianobactérias).

Geograficamente, os líquens são organismos bem distribuídos, podendo ser encontrados em quase todos os habitats terrestres (Nash III, 2008). Isto porque possuem capacidade de se desenvolver em ambientes com condições extremamente desfavoráveis para outros organismos (Ahmadjian, 1993), o que acaba favorecendo uma ampla distribuição das espécies. Dentre os fatores que influenciam a ocorrência dos líquens estão: a disposição de nutrientes e condições ambientais como luminosidade, umidade do ar e temperatura, assim como as características do forófito, como pH e DAP (diâmetro da altura do peito) e rugosidade da casca (Käffer et al., 2007; Topham 1977; Brodo 1973).

Os líquens podem habitar os mais variados tipos de substratos e podem ser classificados em: corticícolas, quando encontrados em troncos de árvores, ramos e arbustos; terrícolas, no solo; saxícolas, em rochas e foliícolas, em folhas (Nash III, 2008; Brodo et al., 2002). Além disso, eles possuem uma grande diversidade morfológica e anatômica, podendo ser classificados quanto ao tipo de hábito em: crostosos, foliosos, fruticosos, filamentosos e dimórficos (Büdel & Scheidegger, 2008).

Os líquens do gênero *Pertusaria* DC. in Lam. & DC. (1805) pertencem ao filo Ascomycota, classe Lecanoromycetes, ordem Pertusariales e família Pertusariaceae. Com cerca de 500 espécies, os fungos liquenizados deste gênero possuem ampla distribuição geográfica em todo o mundo, desde as regiões polares até os trópicos (Dibben, 1980; Nash, 2008). No Brasil, de acordo com o levantamento de André Aptroot (comunicação pessoal), foram registradas a ocorrência de cerca de 100 espécies

pertencentes ao gênero *Pertusaria*, das quais, oito ocorrem em Sergipe. São elas: *Pertusaria carneola*, *P. dehiscens*, *P. flavens*, *P. flavoisidiata*, *P. quassiae*, *P. tetrathalamia*, *P. ventosa* e *P. wulfeniioides*.

Entretanto, os dados que temos sobre o gênero necessitam de revisão taxonômica. Com isso, novos caracteres, como a biologia molecular dos táxons, podem auxiliar na confirmação destes nomes e no descobrimento de novos táxons. Sendo assim, o presente trabalho tem como objetivo iniciar a criação do banco de DNA de líquens de Sergipe com a utilização do DNA Barcode para espécies de fungos liquenizados, neste caso o gênero *Pertusaria*, incluindo coleta de topotipos e análises da filogenia, além da classificação das espécies amostradas.

2. Objetivos

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 o gênero *Pertusaria*, incluindo coleta de topotipos, e análises da filogenia e classificação das espécies amostradas.

Objetivos específicos

- Coletar amostras do gênero a ser estudado, nas áreas de estudo listadas;
- Coletar topotipos brasileiros descritos recentemente, em que não foi possível obter o DNA da amostra, quando for o caso;
- Identificar as espécies por meio de caracteres macro e micro morfológicos, bioquímicos e moleculares;
- 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 trabalho foi desenvolvido com as amostras coletadas em seis localidades: 1) Monumento Natural Grota do Angico, localizado no município de Poço Redondo, Sergipe, em 2013; 2) Vale do Catimbau, localizado no Parque Nacional do Catimbau, situado entre os municípios de Buíque, Ibimirim e Tupanatinga, Pernambuco, em 11/04/2019 e em 13 a 15/08/2017; 3) Povoado Rio dos Negros, localizado no município de Carira, Sergipe, em 14/11/2019 e em 11/03/2022; 4) Serra do Caraça, no Parque Nacional do Caraça, localizada entre os municípios de Catas Altas e Santa Bárbara, Minas Gerais, em 17 a 25/05/2021; 5) ESEC Raso da Catarina, Bahia, em 10 a 12/10/2021; e 6) PARNA Serra de Itabaiana, localizado entre os municípios de Areia Branca e Itabaiana, Sergipe, em 29/10/2021, 16/11/2021 e 09/12/2021.

Coleta e processamento das amostras:

A coleta do material foi realizada utilizando a técnica oportunista (Cáceres et al. 2008), que consiste em fazer a coleta em árvores no decorrer do caminho tanto nas principais trilhas, quanto adentrando a vegetação, de acordo com a visualização de talos liquênicos (Cáceres et al. 2008). As coletas foram realizadas com auxílio de faca e martelo para remoção do material. As amostras foram depositadas em sacos de papel e devidamente identificadas. Logo após, elas foram encaminhadas ao Laboratório de Lichenologia da Universidade Federal de Sergipe, onde foram prensadas em prensa botânica e, em seguida, coladas em papel cartão de 15×9 cm para confecção da exsicata.



Figura 1. Coleta no povoado Rio dos Negros.



Figura 2. Coleta no PARNA Serra de Itabaiana.

Para a identificação das espécies, foi feita uma análise macroscópica para observação da forma de crescimento, cor, forma e superfície do talo e tipo e forma de estruturas reprodutivas. Foi utilizado o microscópio estereoscópio para a análise morfológica e realização de cortes, fazendo uso de lâminas de aço. Posteriormente, foram montadas lâminas com os cortes das amostras para serem observados em um microscópio óptico. Na análise óptica foram observados os caracteres morfológicos como os ascósporos, himênio e carbonização, tamanho dos esporos (considerando comprimento e largura), assim como foram feitas as reações com solução de hidróxido de potássio (KOH) a 10% e solução de Lugol a 2%. Também foram realizados testes de fluorescência com exposição à luz ultravioleta. A identificação taxonômica foi feita utilizando uma bibliografia especializada (Cáceres, 2007).

Extração de DNA:

Para a extração de DNA foram selecionadas 45 amostras, levando em consideração a qualidade morfológica das mesmas, que foram identificadas, cortadas (pequenos fragmentos dos ascomas) e colocadas em microtubos de 1,5 mL e armazenadas em freezer até a extração. A extração foi realizada utilizando o Wizard® Genomic DNA Purification Kit, desenvolvido em treze etapas: maceração das amostras em eppendorf; adição de 600 ul de Nucleilysis 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 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 3. Amostras submetidas ao processo de extração de DNA e PCR.

Reação de PCR:

A reação de PCR (reação em cadeia de polimerase), foi realizada 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: 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 (figura 4).

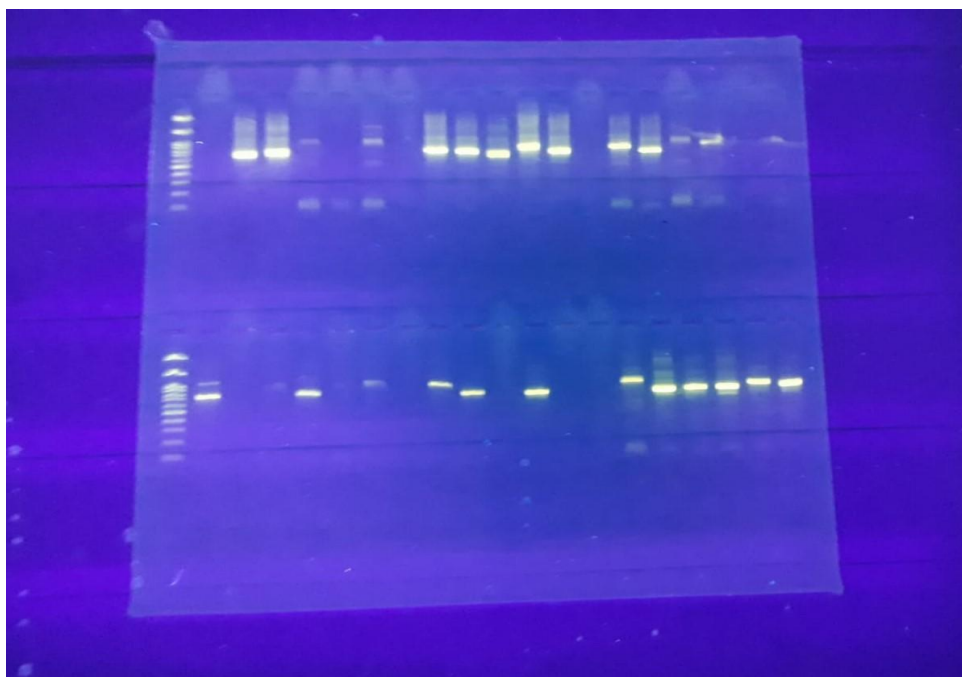


Figura 4. Material genético amplificado no gel de agarose.

Purificação das amostras e envio para sequenciamento.

A purificação das amostras ocorreu utilizando o Kit Wizard sv gel and PCR clean-up system, que consiste nos seguintes passos: adicionar um volume maior ou igual ao produto de PCR da solução Binding Solution; colocar a amostra no filtro e esperar por 1 minuto; centrifugar à 10.000 rpm por 30 segundos; adicionar 400 ul de Wash Solution; centrifugar à 10.000 rpm por 1 minuto e descartar o filtrado; repetir a etapa 4; centrifugar à velocidade máxima por 5 minutos e descartar o filtrado; centrifugar à velocidade máxima por 1 minuto; colocar o filtro no eppendorf de 1,5 marcado; adicionar 30 ul do Nuclease-Free Water; esperar 1 minuto em temperatura ambiente; centrifugar à 10.000 rpm por 1 minuto e armazenar. Após a purificação as amostras foram quantificadas no Nanodrop e, em seguida, foram enviadas para o Laboratório de Genética da Universidade Federal de Pernambuco para o sequenciamento genético.

Alinhamento das sequências.

A análise das sequências foi realizada o Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). Para o alinhamento no Multiple Alignment Program for Amino Acid or

Nucleotide Sequences (MAFFT), foram utilizadas 4 amostras que não apresentaram contaminações (Figura 5). Para a edição das sequências alinhadas, foi utilizado o editor de alinhamento de sequências biológicas (Bioedit). A caracterização molecular foi feita com a avaliação filogenética e construção de filogramas usando máxima verossimilhança (MV) no RAXML-HPC BlackBox na plataforma Cipres Scientific. Para visualização da árvore filogenética obtida, foi utilizado o programa Figtree.



Figura 5. Espécimes submetidos ao alinhamento.

4. Resultados e Discussão:

Em Sergipe, de acordo com o levantamento do herbário ISE, foram identificadas 6 espécies pertencentes ao gênero *Pertusaria* (Tabela 1). Das quais, apenas *Pertusaria flavens* Nyl, ocorre tanto na Caatinga quanto na Mata Atlântica.

TABELA 1. Ocorrência e distribuição das espécies do gênero *Pertusaria* em Sergipe.

Espécie	Caatinga	Mata Atlântica
<i>Pertusaria ventosa</i> Malme	*	-
<i>Pertusaria flavens</i> Nyl	*	*
<i>Pertusaria tetrathalamia</i> (Fée) Nyl	*	-
<i>Pertusaria Dehiscens</i> Müll. Arg	*	-
<i>Pertusaria Quassiae</i> (Fée) Nyl	*	-
<i>Pertusaria wulfenioides</i> B. de Lesd	*	-

Com base em caracteres morfológicos, foram identificadas no povoado Rio dos Negros 11 amostras da espécie *Pertusaria ventosa*. Das amostras coletadas na Grotta do Angico, 71 foram identificadas como *Pertusaria flavens*. Em relação à coleta do Vale do Catimbau, 5 amostras foram identificadas como *Pertusaria flavens* e 1 a nível de gênero. Quanto às amostras coletadas na Serra do Caraça e no Raso da Catarina, foram identificados 2 espécimes de *Pertusaria lichenxanthofarinosa* e 4 a nível de gênero. Das coletas realizadas no PARNA Serra de Itabaiana, não foram encontradas amostras do gênero.

O gênero *Pertusaria* possui talo crostoso, ascomas do tipo apotécios (tuberculados, que podem lembrar peritécios) agregados em verrugas que se formam no talo, himênio com paráfises ramificadas, ascospores grandes, oblongos a ovalados, com paredes grossas, simples, incolores, não-septados e ascos clavados ou cilíndricos, contendo de 1 a 8 esporos. O fotobionte presente em seu processo de liquenização é a alga no gênero *Trebouxia*. (Cáceres, 2007; Benatti e Marcelli, 2007).

A espécie *Pertusaria ventosa* Malme é caracterizada por possuir: **-Talo:** crostoso, verrucoso, corticícola, de cor acinzentada. **-Ascoma:** apotécio. **-Ascosporo:** hialino, simples, 1 por asco. **Química:** KOH+ amarelo, I-, UV+ amarelo (Figura 6). Enquanto a espécie *Pertusaria flavens* Nyl, é caracterizada por possuir: **-Talo:** crostoso, corticícola, de cor esverdeada. **-Ascoma:** apotécio. **-Ascosporo:** hialino, simples, 60-72x22,5-30um de diâmetro, 8 por asco. **-Química:** KOH+ amarelo, I-, UV+ laranja (Figura 7). Já *Pertusaria lichenxanthofarinosa* possui: **-Talo:** crostoso, corticícola, de cor cinza-esverdeada, com sorédios. **-Ascoma:** apotécio. **-Ascospores:** simples, 2 por asco. **Química:** KOH-, I-, UV+ amarelo (Figura 8).



Figura 6. Espécime de *Pertusaria ventosa* Malme.



Figura 7. Espécime de *Pertusaria flavens* Nyl.

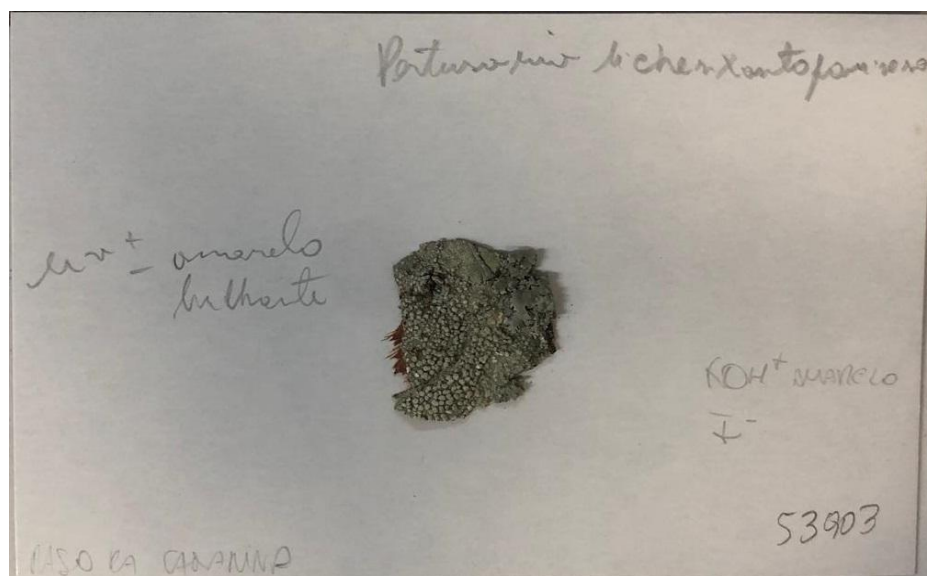


Figura 8. Espécime de *Pertusaria lichenxanthofarinoso*,

Filogenia.

Das amostras enviadas para o sequenciamento, apenas quatro não apresentaram contaminação, de acordo com a tabela abaixo.

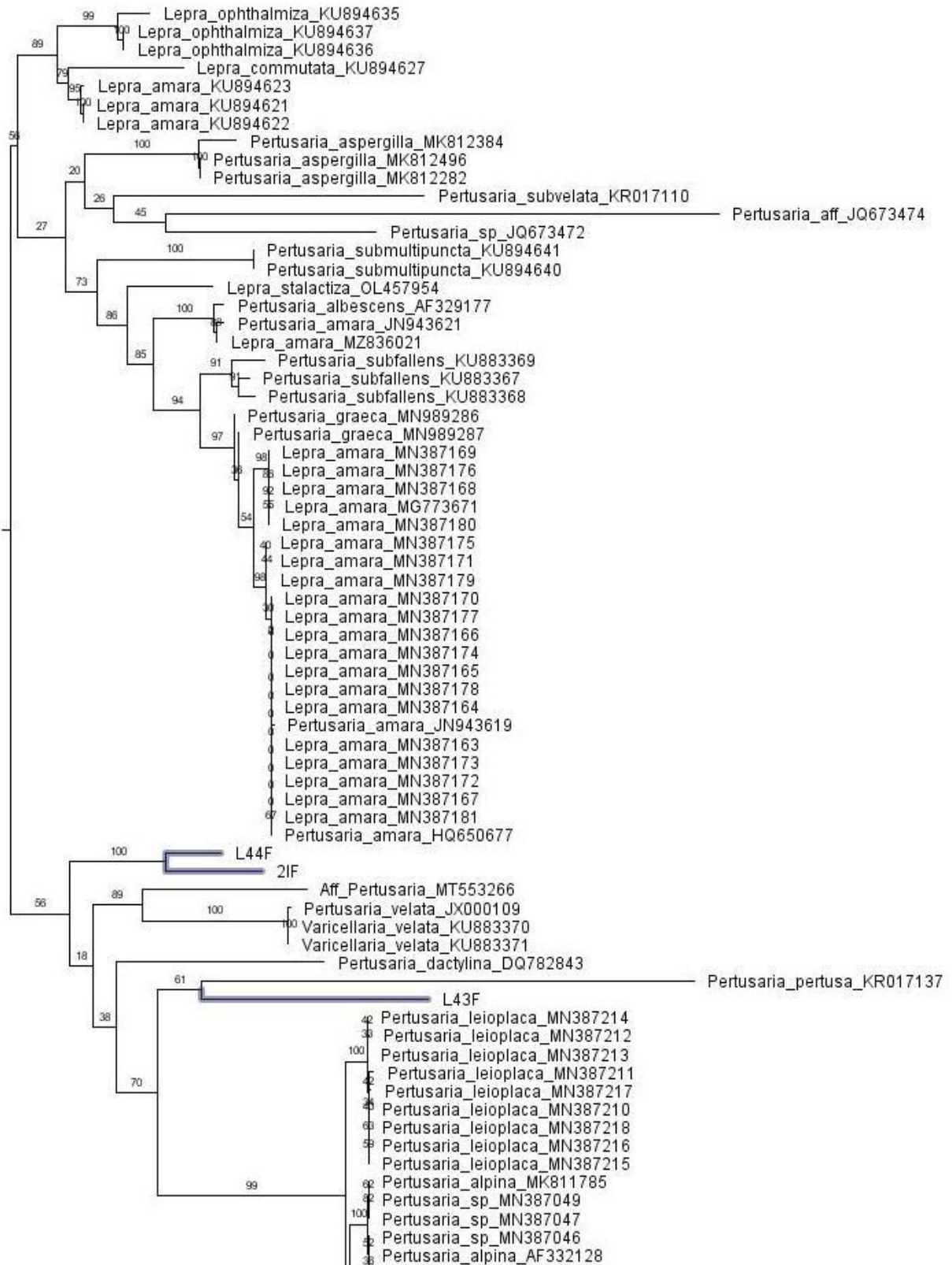
TABELA2. Resultado do BLAST das amostras sequenciadas.

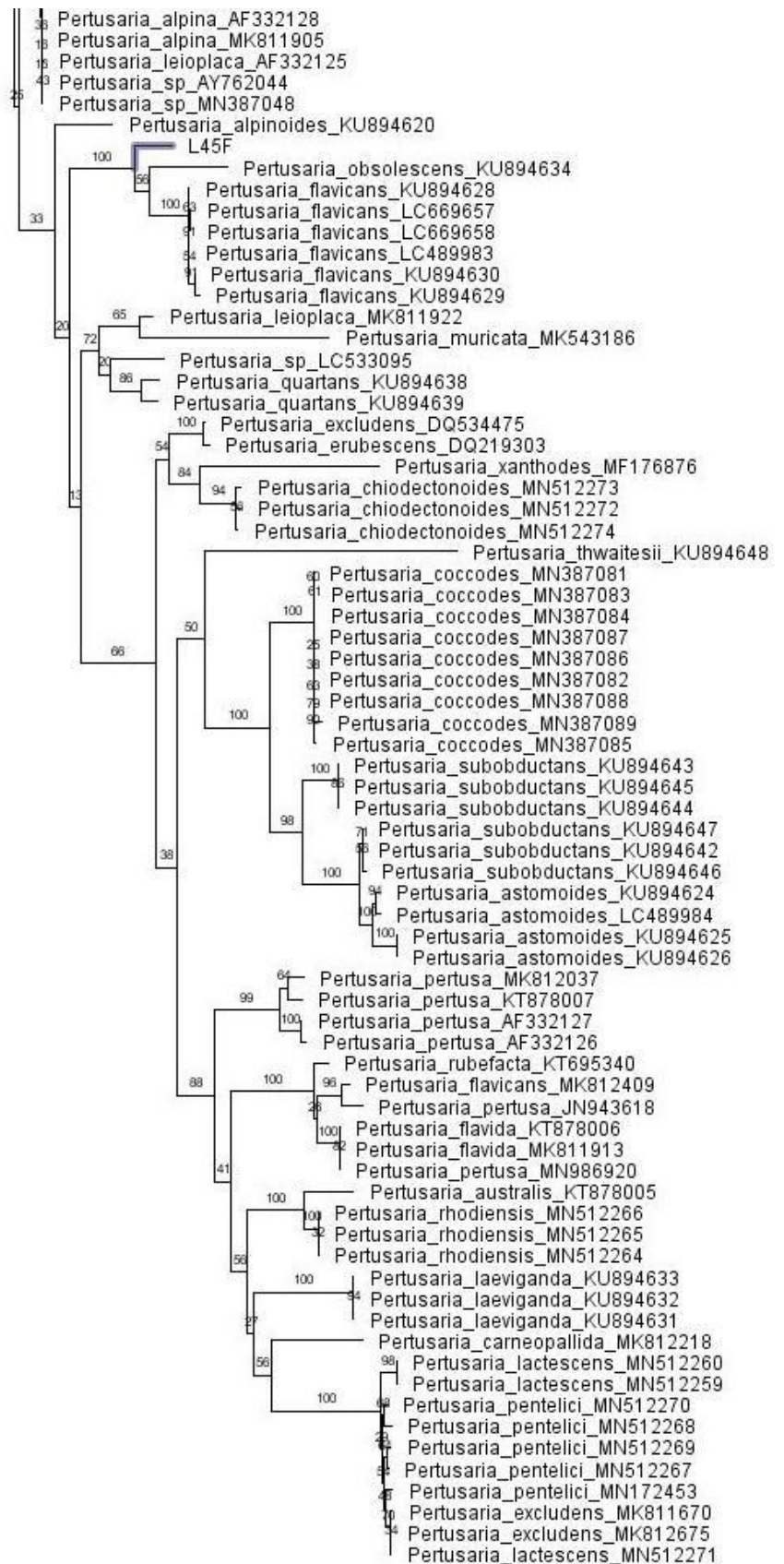
Espécie sequenciadas	Sequências geradas	Resultado do blast	Número de acesso do genbank (ITS rDNA)	Porcentagem de identidade	E Value
<i>Syncesia farinaceae</i>	Sequência forward -L43	<i>Syncesia farinaceae</i>	AF138837.1	91.28%	0.0
	Sequência reverse - L43	<i>Syncesia farinaceae</i>	AF138837.1	90.52%	0.0
<i>Pertusaria</i>	Sequência forward -L44	<i>Lepra amaroides</i>	MK543178.1	93.85%	3e-139
	Sequência reverse - L44	<i>Lepra amaroides</i>	MK543178.1	93.82%	3e-139
<i>Pertusaria</i>	Sequência forward -L45	<i>P. flavicans</i>	LC669657.1	90.82%	0.0
	Sequência reverse - L45	<i>P. flavicans</i>	KU894628.1	90.98%	0.0
<i>Pertusaria</i>	Sequência forward -2IF	<i>Lepra amaroides</i>	MK543178.1	91.84%	1e-123
	Sequência reverse - 2IR	<i>Lepra amaroides</i>	MK543180.1	83.73%	1e-94
<i>Pertusaria</i>	Sequência forward -L25	<i>Uncultured fungus</i>	KT758121.1	89.51%	1e-141
	Sequência reverse - L25	<i>Aspergillus</i>	KF255863.1	90.03%	0.0
<i>Pertusaria</i>	Sequência forward -L27	<i>Uncultured fungus</i>	KM067407.1	88.17%	0.0
	Sequência reverse - L27	<i>Uncultured fungus</i>	KM067407.1	97.67%	0.0
<i>Pertusaria</i>	Sequência forward - L28	<i>Ganoderma lucidum</i>	MN636778.1	93.77%	0.0

<i>Pertusaria</i>	Sequência reverse –L28	<i>Uncultured endophytic fungus</i>	FJ524295.1	95.49%	0.0
	Sequência forward –L29	<i>Uncultured fungus</i>	GU370763.1	95.77%	0.0
	Sequência reverse – L29	<i>Uncultured fungus</i>	MF156131.1	79.64%	4e-118
<i>Pertusaria</i>	Sequência forward –L30	<i>Aspergillus</i>	LC704679.1	87.50%	3e-154
	Sequência reverse – L30	<i>Aspergillus</i>	LC704679.1	87.67%	3e-153
	Sequência forward–L31	<i>Uncultured eurotiales</i>	JF691283.1	78.61%	2e-86
<i>Pertusaria</i>	Sequência reverse – L31	<i>Aspergillus</i>	OU500963.1	75.40%	2e-26
	Sequência forward –L32	<i>Uncultured fungus</i>	JX240404.1	96.47%	0.0
	Sequência reverse – L32	<i>Uncultured fungus</i>	JX240404.1	96.47%	0.0
<i>Pertusaria</i>	Sequência forward –L33	<i>Uncultured fungus</i>	FJ265944.1	99.51%	0.0
	Sequência reverse – L33	<i>Uncultured fungus</i>	FJ265944.1	99.51%	0.0
	Sequência forward –L35	<i>Uncultured fungus</i>	KF800225.1	83.37%	1e-111
<i>Pertusaria</i>	Sequência reverse – L35	<i>Uncultured fungus</i>	JX317212.1	81.27%	7e-141
	Sequência forward –L37	<i>Aspergillus sp.</i>	LC704679.1	97.42%	0.0
	Sequência reverse –L37	<i>Aspergillus</i>	JN829943.1	97.37%	0.0
<i>Pertusaria</i>	Sequência forward –L38	<i>Uncultured fungus</i>	JX240404.1	99.03%	0.0
	Sequência reverse – L38	<i>Uncultured fungus</i>	JX240404.1	98.60%	0.0
	Sequência forward –L40	<i>Uncultured fungus</i>	FJ265944.1	98.04%	0.0
<i>Pertusaria</i>	Sequência reverse –L40	<i>Uncultured fungus</i>	JX240404.1	98.38%	0.0
	Sequência forward –L42	<i>Aspergillus</i>	HQ914939.1	87.30%	0.0
	Sequência reverse –L42	<i>Uncultured fungus</i>	KM067407.1	87.70%	0.0

Obs: as amostras que não funcionaram, não foram incluídas na tabela.

A árvore filogenética resultante apresentou-se organizada em dois grandes clados, o primeiro com o gênero *Lepra* e o segundo com espécies de *Pertusaria*, no qual o gênero alvo do trabalho está localizado, como pode ser visto abaixo.





A amostra **L43** (Figura 9) foi identificada com *Syncesia farinaceae*. Por possuir características morfológicas parecidas com o gênero *Pertusaria*, quando observada em campo, a amostra foi incluída nas análises, entretanto, com os resultados foi possível notar que a amostra pertence a outro grupo.



Figura 9. *Syncesia farinaceae*.

As amostras **L44** (Figura 10) e **2IF** (Figura 11), foram identificadas, de acordo com o BLAST, como *Lepra amaroides*. Porém, a filogenia indica que se tratam de espécies diferentes, por estarem em ramos diferentes, com tamanhos diferentes, além de apresentarem morfologia diferente uma da outra. A amostra **L44** possui talo esverdeado, com apotécios agregados, KOH+ amarelo, I+ azul e UV+ amarelo. Já amostra **2IF** possui talo acinzentado, com apotécios separados e UV+ amarelo. Todavia, os caracteres observados não foram suficientes para identificar as amostras, impossibilitando a confirmação da identificação apontada, mantendo o resultado da árvore, de que são espécies diferentes.

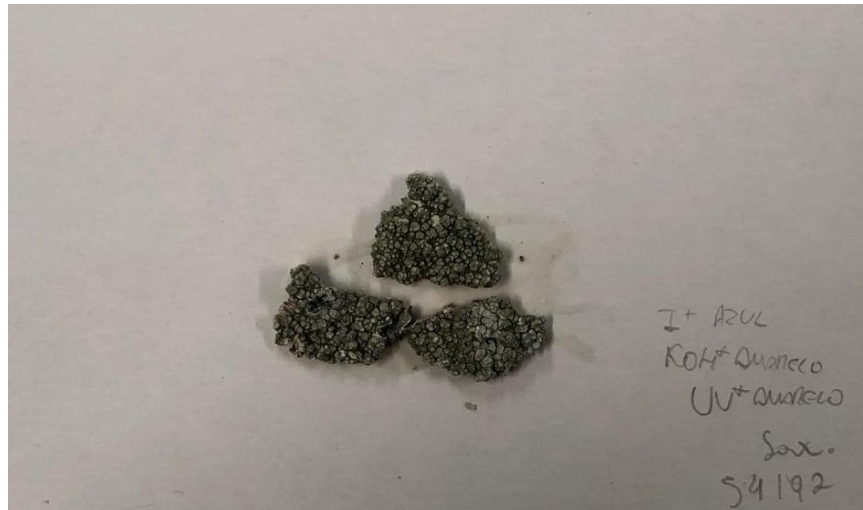


Figura 10. Possível *Lepra amaroides*.

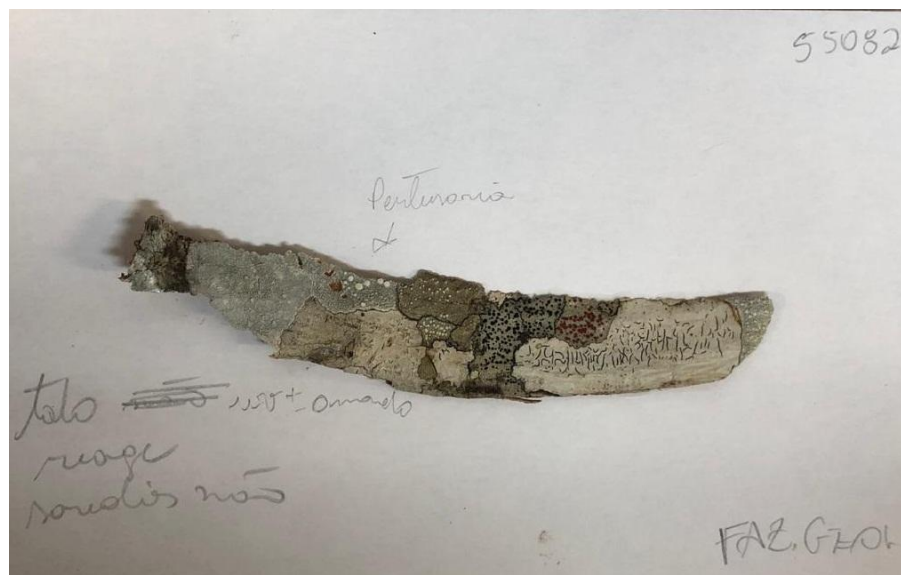


Figura 11. Possível *Lepra amaroides* indicada pela seta.

A amostra **L45** (Figura 12), apresenta morfologia semelhante à *Pertusaria flavens*, com talo crostoso, esverdeado, UV+ amarelo-alaranjado, ascósporos simples, KOH+ amarelo e I-. Entretanto, não foram identificadas sequências de *Pertusaria flavens* no Genbank, não sendo possível a comparação com outras sequências da espécie, fator que pode explicar a posição da amostra na árvore, indicando a possibilidade de ser a espécie apontada.



Figura 12. *Pertusaria flavens*.

5. Conclusões.

Com relação à sua distribuição, o gênero *Pertusaria* tem ocorrência bastante diversa e significativa por todo mundo, incluindo o Brasil e o estado de Sergipe. Entretanto, a maioria dos trabalhos realizam a descrição das espécies focada na morfologia e na química. Por isso, a análise molecular e filogenética são ferramentas fundamentais para confirmar as espécies encontradas.

Muitas amostras utilizadas no trabalho apresentaram contaminações, o que impossibilitou a utilização das mesmas. Uma possível explicação para o alto número de contaminações, pode se dar devido à idade das amostras e ao fato de elas estarem fora do freezer durante um longo período.

Pertusaria flavens é uma espécie de ocorrência bastante comum em Sergipe, todavia, não foram encontrados registros da espécie no Genbank, assim como não foram encontrados trabalhos de análises filogenéticas do gênero *Pertusaria* no Brasil. Sendo assim, é possível que este seja o primeiro trabalho de análise filogenética do gênero *Pertusaria* no Brasil, assim como, o primeiro trabalho a registrar uma sequência da espécie *Pertusaria flavens*. A amostra em questão foi coleta no Vale do Catimbau, em Pernambuco.

Os resultados deste trabalho demonstram a importância dos trabalhos de análises moleculares para a confirmação das espécies do gênero *Pertusaria* que ocorrem em Sergipe e no Brasil, além de descobrir novos caracteres que nos auxiliem a melhor compreender a biologia deste gênero, obtendo mais informações quanto à sua taxonomia e aspectos moleculares.

6. Perspectivas.

Espera-se poder continuar trabalhando na identificação de espécies do gênero *Pertusaria* em Sergipe.

7. Referências bibliográficas.

- Ahmadjian V. 1993. The Lichen Symbiosis. New York: John Wiley & Sons. p. 250.
- Benatti, M. N.; Marcelli, M. P. 2007. Gêneros de fungos liquenizados dos manguezais do Sul-Sudeste do Brasil, com enfoque no manguezal do Rio Itanhaém, Estado de São Paulo. *Acta Botanica Brasilica*, 21 (4): 863-878.
- Brodo IM. 1973 Substrate ecology. In: The Lichens. Hale, M.E. (ed.) Academic Press. New York 401-436.
- Brodo, I. M. Sharnoff, S. D. & Sharnoff, S. 2001. Lichens of North America. Yale University Press, New Haven. p. 795.
- Büdel, B. Scheidegger, C. 2008. Th allus morphology and anatomy. *Lichen Biology*, v. 2, p. 40-68.
- Cáceres, M. E. S. 2007. Corticolous crustose and microfoliose lichens of northeastern Brazil. *Libri Botanici*, v. 22, p. 1-168.
- Cáceres, M. E. S. Lücking, R; Rambold, G. 2008. Corticolous microliches in northeastern Brazil: habitat differentiation between coastal Mata atlântica, Caatinga and Brejos de Altitude. *The Bryologist*, v. 111, n. 1, p. 98-117.
- Dibben, M. J. 1980. The Chemosystematics of the lichen genus *Pertusaria* in North America north of Mexico. *Milwaukee Publications in Biology and Geology*, v. 5, p. 1-162.
- Hawksworth, D. L. & Hill, D. J. 1984. The lichen-forming fungi. Blackie, Glasgow and London: Blackie.
- Käffer, M. I., Ganade, G. Marcelli, M. P. 2007. Interação entre líquens e forófitos em quatro ambientes na FLONA de São Francisco de Paula. *Revista Brasileira de Biociências*, v. 5, n. 2, p. 216-218.
- Kirk PM, Cannon PF, David JC. 2001. Dictionary of fungi. 9th ed. CABI Bioscience, Egham, UK.
- Marcelli, M.P. 1998. Diversidade dos fungos liquenizados no Estado de São Paulo: um diagnóstico. In: C.A. Joly & C.E.M. Bicudo (eds.). Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX. v.2: 25-35. São Paulo, FAPESP.

Mark, K. Laanisto, L. Bueno, C.G. Niinemets, Ü. Keller, C. & Scheidegger, C. 2020. Padrões de co-ocorrência contrastantes de leveduras fotobiontes e cistobasidiomicéticas associadas a espécies comuns de líquen epifítico. *Novo fitologista. Botanik* 28A(9):1-27.

Nash, T. H. 2008. Introduction. *Lichen Biology*. 2 °ed. Cambridge, Cambridge University Press. p. 1-8.

Nash, III T.H. 2008. *Lichen Biology*. Cambridge: Cambridge University Press. 2°ed.496p.

Pertusariales in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB117977>>. Acesso em: 05. 2022.

Topham P. 1977. Colonization, Growth, Succession and Competition. In: Seaward M.R. D. (ed), *Lichen Ecology*. Academic Press, London, pp 32-68.

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

8. Outras atividades.

Atividade	Participação	Título/Instituição.	Período
Atividade de Extensão.	Participante.	“Genética na conservação da biodiversidade. ”, promovido pela Universidade Federal de Sergipe.	27/05/2020.
Minicurso.	Ouvinte.	“Líquens e o status de conservação de áreas urbanas e naturais. ”, realizado pelo Instituto de Ciências Biológicas da universidade Federal de Goiás.	25/08/2020.
Simpósio.	Ouvinte.	I Simpósio Online de Fisiologia Vegetal do Nordeste – SIONFV-NE, realizado pela Universidade Federal de Sergipe.	24 a 28 de agosto de 2020.
Resumo.	Participante.	“Efeito de Fatores Ambientais na Riqueza de Líquens em Área de Caatinga e Brejo de Altitude. ”, no 30º Encontro de Iniciação Científica – EIC, da UFS.	10 a 12 de dezembro de 2020.
Minicurso.	Ouvinte.	“Fungos micorrízicos arbusculares na Mata Atlântica: o que precisamos saber para estudá-los? ”, no I Simpósio Micológico da Mata Atlântica Nordestina.	16 a 18 de dezembro de 2020.
Simpósio.	Ouvinte.	III Simpósio de Ciências Naturais de Sergipe – SCIENCE, realizado Universidade Federal de Sergipe.	29 de março a 02 de abril de 2021.
Simpósio.	Ouvinte.	I Simpósio Brasileiro de Liquenologia – SIMBLIQ.	15 e 16 de junho de 2021.
Simpósio.	Ouvinte.	9º Simpósio da International Association for Lichenology.	1 a 6 de agosto de 2021.
Oficina.	Monitora.	Oficina CABIC “Reino Fungi, os misteriosos agentes do início ao fim”.	26 de julho de 2022.
Congresso	Participante	Encuentro XV del Grupo Latinoamericano de Lichenología. - Observações preliminares sobre o Gênero Pertusaria (Pertusariaceae) no Brasil.	25 a 29 de julho de 2022.