



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

JOSÉ ISAIAS PIMENTEL BARROS

**CARACTERIZAÇÃO DA DIVERSIDADE MORFOLÓGICA, ESTRUTURAL E
FUNCIONAL DE LIQUENS DA AMAZÔNIA MARANHENSE**

SÃO LUÍS - MA

2025



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

JOSÉ ISAIAS PIMENTEL BARROS

**CARACTERIZAÇÃO DA DIVERSIDADE
MORFOLÓGICA, ESTRUTURAL E FUNCIONAL
DE LIQUENS DA AMAZÔNIA MARANHENSE**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-graduação em Saúde e Ambiente da Universidade Federal do Maranhão, como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Saúde e Ambiente.

Orientador(a): Prof. Dr. Leonardo Teixeira Dall'Agnol

SÃO LUÍS – MA

2025



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Leonardo Teixeira Dall’Agnol (Orientador)
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

Docente Dra. Tânia Keiko Shishido Joutsen (Coorientador)
University of Helsinki

Prof. Dr. Renato Renison Moreira Oliveira (Examinador I)
Instituto Tecnológico Vale Desenvolvimento Sustentável (ITV-DS)

Prof. Dr. Lucas Cardoso Marinho (Examinador II)
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

Prof. Dr. Hermes Ribeiro Luz (Examinador III)
Universidade Federal do Maranhão - UFMA



FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Barros, José Isaias Pimentel.

CARACTERIZAÇÃO DA DIVERSIDADE MORFOLÓGICA, ESTRUTURAL E FUNCIONAL DE LIQUENS DA AMAZÔNIA MARANHENSE / José Isaias Pimentel Barros. - 2025.

217 f.

Coorientador(a) 1: Tânia Keiko Shishido Joutsen.

Orientador(a): Leonardo Teixeira Dallagnol.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Saúde e Ambiente/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luis, 2025.

1. Agrupamentos Gênicos. 2. Ecossistemas Liqueñicos. 3. Fungos Liqueñizados. 4. Metagenômica. I. Dallagnol, Leonardo Teixeira. II. Joutsen, Tânia Keiko Shishido. III. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

*Dedico este trabalho à minha avó, Angélica Pimentel,
que partiu, mas permanece viva em minha
memória e em cada passo que dou.
Esta conquista é, também, sua.*



AGRADECIMENTOS

É com profundo sentimento de gratidão que inicio estes agradecimentos, dedicadas a todos que participaram e contribuíram para a minha trajetória acadêmica e pessoal. Cada gesto de apoio, incentivo e presença foi essencial para que eu chegasse até aqui.

Agradeço, primeiramente, à minha família e a Deus, base de toda a minha caminhada. À minha mãe, Francisca das Chagas, e aos meus irmãos Yasmin, Isabelle e José de Ribamar, que, mesmo com a distância, sempre me incentivaram a continuar. À minha tia Rosileide Pimentel, por todo apoio ao longo desses anos, sendo meu ponto de equilíbrio nos momentos mais desafiadores. À minha avó Angélica Pimentel, que, apesar de não estar mais presente fisicamente, permanece viva em minhas lembranças e no carinho que sempre me ofereceu. E à minha tia Rosemary Pimentel, que, mesmo enfrentando as dificuldades do tratamento contra o câncer de mama, nunca deixou de me apoiar.

Ao meu orientador, Leonardo Dall'Agnol, que ao longo dos anos de graduação e mestrado foi um grande apoiador do meu crescimento acadêmico e pessoal. Mesmo diante das dificuldades financeiras e emocionais, você sempre me ajudou a superar os obstáculos com compreensão, paciência e incentivo. Você é e sempre será um dos grandes protagonistas da minha trajetória. Sou imensamente grato pela confiança depositada em mim e pelas oportunidades que me foram dadas ao longo desses anos. Como você mesmo me disse uma vez: “somos uma família”, e de fato, você me ajudou como se fôssemos. Muito obrigado por tudo. Não poderia ter encontrado um orientador melhor.

À minha coorientadora Tânia Shishido, pelos ensinamentos e pela dedicação. Seu apoio nas análises desafiadoras de bioinformática foi um diferencial na minha trajetória. Sou grato pela sua paciência e compreensão ao longo de todo esse processo. Sempre que eu pensar em bioinformática, você será uma referência acadêmica.

À Profª Hivana Dall'Agnol, por me conceder a oportunidade de ingressar em seu grupo de pesquisa ainda durante a graduação e por ter contribuído de forma significativa para o meu crescimento acadêmico. Agradeço também aos professores do LabGem, por todo o conhecimento compartilhado e pela dedicação em criar um ambiente colaborativo e enriquecedor para a formação de seus alunos.

À minha querida amiga Anna Letícia, que sempre esteve ao meu lado desde a graduação, nesta longa jornada acadêmica e de vida. Nos momentos mais angustiantes e nos mais felizes, sua presença foi essencial. Sem você, nada disso teria sido possível. Seu apoio e sua confiança foram fundamentais ao longo desses anos. Entramos juntos nessa jornada e vencemos juntos.



Sei que você será uma grande profissional. Admiro profundamente sua dedicação, força e sensibilidade. Muito obrigado por tudo.

Aos meus amigos Jonaina Ferreira, Laís Wolff, Soaria Garcia, Leonam Barreto, Karine Sousa, Vinícios Olegário e Roberth Lindoso, por serem meu apoio quando mais precisei, pelos momentos de alegria e descontração que compartilhamos. Espero que todos nós tenhamos uma vida próspera e feliz.

Aos amigos do laboratório e do grupo de pesquisa do GB³: Emanuelle Ramos, Weneson Sarges, Nathalia Batista, Marcos Davi, Felipe Alberth, Amalia Maria, Yago Viana, Maria Clara, Vinicius, Rayssa, Amanda e tantos outros, meu sincero agradecimento. A convivência com vocês tornou essa jornada mais leve, produtiva e significativa. À Maria Santana, nossa “mãe de laboratório”, por todos os conselhos e pelo carinho constante ao longo dos anos. Seu lugar é especial no coração de todos que passaram pelo laboratório. À Gisele, que, mesmo com pouco tempo conosco, demonstrou atenção e cuidado com cada aluno.

Ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente (PPGSA), pela oportunidade de aprender com professores altamente qualificados e colegas de formações diversas. A convivência com diferentes experiências e áreas de atuação ampliou minha visão e enriqueceu minha formação. À coordenação do programa, pela atenção, flexibilidade e compromisso com os discentes. Ao Laboratório de Genética e Biologia Molecular (LABGEM), por ter me acolhido e proporcionado um ambiente de aprendizagem e crescimento profissional. À Universidade de Helsinque, pela valiosa contribuição por meio do intercâmbio de pesquisadores renomados, como o Prof. Jouko Rikkinen e a pesquisadora Ulla Kaasalainen. À Prof^a Iane Dias, da UEMA Sul, pela colaboração com nosso grupo de pesquisa.

Ao Laboratório de Sequenciamento de DNA e Genômica (apoiado pelo financiamento HiLIFE e Biocenter Finland) e ao Instituto de Biotecnologia da Universidade de Helsinque, pelo sequenciamento das amostras utilizadas neste trabalho.

À FAPEMA e ao CNPq, pelo financiamento dos projetos que viabilizaram o desenvolvimento desta dissertação. Em especial à FAPEMA, pela concessão da bolsa que me permitiu dedicar-me integralmente à pesquisa.

Agradeço a todos os docentes que contribuíram para que este trabalho se concretizasse, seja nos seminários, na qualificação ou na defesa de mestrado. Muito obrigado, minha gratidão é imensa.

E a você, querido(a) leitor(a), que se interessou pelo meu trabalho: muito obrigado por dedicar seu tempo a esta leitura.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

"A felicidade pode ser encontrada mesmo nas horas mais difíceis, se você lembrar de acender a luz"

- Alvo Dumbledore em Harry Potter e o prisioneiro de Azkaban



SUMÁRIO

RESUMO	11
1. REFERENCIAL TEÓRICO	12
1.1. Líquens	12
1.2. Líquens como Bioindicadores Ambientais	16
1.3. Sequenciamento E A Metagenômica	19
1.4. Ferramentas de Bioinformática e a (Meta)Genômica	22
REFERÊNCIAS	27
Hipótese.....	40
OBJETIVOS.....	41
3.1. Geral	41
3.2. Específicos	41
CAPÍTULO 01	42
Artigo 01 - Caracterização Morfológica de ecossistemas líquênicos da Amazônia Maranhense	42
RESUMO	43
1 INTRODUÇÃO	44
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	47
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	80
AGRADECIMENTOS.....	81
CAPÍTULO 02	93
Artigo 02 - Caracterização Metagenômica de um Cianolíquen <i>Leptogium</i> Do Bioma Amazônia no estado do Maranhão.....	93
ANEXOS.....	163



Artigo De Revisão. Exploring The Diversity Of Lichens In The Brazilian Amazon And Cerrado: A Comprehensive Review	163
Figuras Suplementares	180
Tabelas Suplementares.....	182
APÊNDICES	194
Normas de submissão do artigo 01	194
Normas de submissão do artigo 02.....	203



RESUMO

Introdução: Os líquens são organismos perenes amplamente distribuídos em diversos substratos, como rochas, troncos de árvores e solo. Sua morfologia varia conforme o ambiente, apresentando talos crostosos, esquamulosos, dimórficos, gelatinosos e foliosos. Além de sua relevância ecológica, destacam-se como bioindicadores da qualidade ambiental e produtores de diversos metabólitos secundários. **Objetivo:** Este estudo visa analisar a diversidade morfoestrutural e funcional de líquens em municípios da Amazônia maranhense. **Metodologia:** A pesquisa foi realizada nos municípios de Anajatuba e Morros, Maranhão, com coletas em áreas de diferentes níveis de conservação ambiental. Foram coletadas 68 amostras de líquens, sendo 48 no município de Morros e 18 em Anajatuba, provenientes de diferentes substratos. As amostras foram devidamente armazenadas e identificadas com base em uma abordagem de taxonomia integrativa, utilizando avaliação morfológica e química. Um cianolíquen do gênero *Leptogium* (ANA13) teve seu metagenoma sequenciado na plataforma AVITI. A qualidade das sequências foi avaliada com FastQC e Trimmomatic, e a montagem das *reads* foi realizada com metaSPAdes, seguida pela análise de qualidade da montagem. A identificação de agrupamentos gênicos biossintéticos foi conduzida utilizando antiSMASH. O *binning* foi realizado utilizando os programas MetaBAT2, MaxBin2 CONCOCT e analisados pelo DAS Tool. A análise taxonômica foi realizada com Kaiju e GOTTCHA2. Por fim, foi conduzidas análises taxonômicas e funcionais do MAG01 **Resultados:** A análise taxonômica das amostras revelou uma diversidade significativa de líquens nos municípios de Anajatuba e Morros, com predominância de formas crostosas, foliosas e filamentosas. Em Anajatuba, destacaram-se os gêneros *Cryptothecia*, *Coenogonium*, *Leptogium*, *Phyciella* e *Heterodermia*, além de representantes da família Graphidaceae. Em Morros, foi observada uma comunidade liquênica ainda mais diversa, com ocorrência dos gêneros *Cryptothecia*, *Coenogonium*, *Cladonia*, *Coccocarpia*, *Lepraria*, *Leptogium* e *Parmotrema*, bem como representantes das famílias Physciaceae, Parmeliaceae e Caliciaceae. A análise metagenômica da amostra ANA13 revelou uma comunidade microbiana funcionalmente diversa, com abundância de genes relacionados à biossíntese de metabólitos secundários, totalizando 218 agrupamentos de genes biossintéticos, sendo 102 bacterianos e 116 fúngicos, principalmente dos tipos NRPS, T1PKS e terpenos. As análises taxonômicas do metagenoma confirmaram a associação simbiótica entre *Leptogium* e *Nostoc*. O *binning* permitiu recuperar um genoma quase completo (99,56%) e com 3,59% de contaminação, posteriormente identificado pertencente ao gênero *Nostoc*, contendo 8.649 sequências codificantes associadas a múltiplas vias metabólicas. **Conclusão:** Os resultados obtidos demonstram a expressiva diversidade liquênica presente na Amazônia maranhense, reforçando a importância desses ambientes para a conservação da biodiversidade e com enorme potencial biotecnológico. Este estudo representa uma contribuição inédita para o conhecimento dos líquens da região, ao registrar pela primeira vez a ocorrência do gênero *Leptogium* no estado, além da recuperação de um genoma de *Nostoc* simbiótica. A análise metagenômica revelou uma rica diversidade metabólica, evidenciando a relevância desses organismos tanto para o Maranhão quanto para o entendimento da diversidade microbiana da Amazônia brasileira.

Palavras-chave: Agrupamentos gênicos, ecossistemas liquênicos, fungos liquenizados, metagenômica.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

1. REFERENCIAL TEÓRICO

1.1. Líquens

Os líquens representam uma relação simbiótica fascinante e complexa, principalmente entre fungos e parceiros fototróficos. Essa associação única permite que os líquens prosperem em ambientes diversos, contribuindo significativamente para a biodiversidade e o funcionamento do ecossistema. A dinâmica intrincada da simbiose dos líquens é ressaltada por vários estudos que exploram os aspectos ecológicos, evolutivos e fisiológicos desses organismos. A diversidade de fungos formadores de líquens é notável, com a classe Lecanoromycetes abrangendo mais de 80% das espécies de líquens globalmente (Nguyen *et al.*, 2023).

Os líquens constituem um dos exemplos mais notáveis de simbiose na natureza, resultando, em sua maioria, da associação mutualística entre um fungo (micobionte) e um organismo fotossintetizante (fotobionte), que pode ser uma alga verde ou uma cianobactéria. Além desses organismos centrais do líquen, esse ecossistema pode conter outros fungos associados (liquenícolas e endoliquenícolas), bactérias, como as do filo Actinobacteria, fagos (vírus de bactérias) e protozoários, entre outros organismos que podem encontrar abrigo nesses ecossistemas (Liu, Qing *et al.*, 2013; Zhang, Tao *et al.*, 2015; Banchi *et al.*, 2018; Tagirdzhanova; Saary; Cameron; Garber; Díaz Escandón; *et al.*, 2023).

Essa interação simbiótica permite que os líquens colonizem uma ampla diversidade de habitats, inclusive aqueles caracterizados por condições ambientais extremas, como escassez de água, temperaturas elevadas ou baixas e alta exposição à radiação solar. Ao longo de sua evolução, esses organismos desenvolveram interações ecológicas e adaptações morfofisiológicas complexas que favorecem sua sobrevivência e distribuição em ecossistemas variados, desde desertos à florestas tropicais úmidas (Skaer, 1997; Grube; Wedin, 2016; Gagunashvili; Andrénsson, 2018; Grimm *et al.*, 2021).

Esses organismos apresentam uma notável diversidade morfológica. A unidade estrutural fundamental, o talo, varia significativamente entre as espécies, sendo classificada em diferentes tipos morfológicos: crostoso, filamentoso, folioso, fruticoso, esquamuloso, dimórfico e gelatinoso (**Figura 1**). Cada tipo reflete adaptações específicas às condições ambientais e estratégias eficientes de aquisição de recursos, evidenciando processos evolutivos que

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

influenciaram a adaptação desses organismos a diferentes ambientes e substratos (Grube; Wedin, 2016; Kosecka *et al.*, 2024a)

Figura 1. Diferentes morfologias dos líquens. (A) Filamentoso, (B) crostoso, (C) folioso, (D) dimórfico, (E) fruticoso, (F) gelatinoso.



Autor(a): Acervo GB³ (2025)

A seleção de substratos é fundamental para a ecologia dos líquens, influenciando tanto sua distribuição quanto sua diversidade. Os líquens são frequentemente classificados com base em suas preferências de substrato - líquens corticícolos prosperam na casca das árvores, líquens saxícolas preferem rochas e líquens terrícolas crescem no solo (Rosa; Warke; Smith, 2012; Bhagarathi *et al.*, 2023). As propriedades químicas e físicas específicas desses substratos, como textura, retenção de umidade e disponibilidade de nutrientes, afetam o crescimento do líquen e a estrutura do ecossistema líquênico (Favero-Longo; Piervittori, 2010; Thakur; Shrikhandia; Kumar, 2022). Por exemplo, as árvores vivas geralmente fornecem microhabitats benéficos com condições adequadas para líquens epífitos, enquanto a madeira morta pode suportar diversos líquens epixílicos (Spribille *et al.*, 2008; Sinichkin; Dimitriev, 2019).

Os líquens crostosos, que crescem firmemente aderidos ao substrato, exibem adaptações que lhes permitem resistir à dessecação e a condições extremas, retendo com eficiência a



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

umidade e os nutrientes em seus talos. Adaptações morfológicas, como a espessura do talo e a estrutura da superfície, têm sido diretamente associadas à capacidade de retenção hídrica, crucial para a sobrevivência em ambientes áridos (Matos *et al.*, 2015). Os líquens foliosos, caracterizados por suas estruturas semelhantes a folhas, são capazes de absorver água do orvalho e da chuva, enquanto os líquens fruticosos, com aparência ramificada e volumosa, geralmente aproveitam a umidade transportada pelo vento (Gauslaa, 2014).

O micobionte, tipicamente pertencente aos filos Ascomycota ou Basidiomycota, assume um papel protetor, oferecendo ao fotobionte um ambiente estável, enquanto fornece nutrientes extraídos do substrato. Essa associação permite que o líquen prospere em nichos ecológicos onde nenhum dos parceiros poderia sobreviver sozinho. As adaptações estruturais que ocorrem como resultado dessa simbiose permitem que os líquens suportem a dessecação e a extrema variabilidade nas condições de temperatura e luz. Por exemplo, as redes de hifas do micobionte podem criar microhabitats que protegem contra condições climáticas adversas e otimizam o acesso do fotobionte à luz e à umidade (Wagner *et al.*, 2009; Sonina; Androsova, 2020).

O fotobionte, que pode ser uma alga verde ou cianobactéria, é o responsável pela fotossíntese, convertendo a luz solar em energia que alimenta o crescimento do líquen. O tipo específico de fotobionte influencia as características ecológicas do líquen e a produção de compostos bioativos. Pesquisas indicam que muitos líquens abrigam membros do gênero *Trebouxia* (Alga verde unicelular) como seus fotobiontes primários, os quais desempenham um papel crucial na eficiência fotossintética e na adaptação a estresses ambientais (Wagner *et al.*, 2009; Smith *et al.*, 2020a). As diversas características fisiológicas exibidas pelo fotobionte também afetam a capacidade do líquen de tolerar estressores ambientais, como radiação UV e poluentes (Hauck *et al.*, 2008; Asplund; Wardle, 2017).

Estudos destacam as intrincadas conexões entre o micobionte e o fotobionte, sugerindo uma interação ecológica complexa, na qual ambos os parceiros contribuem com nutrientes essenciais para a sobrevivência mútua. Essa relação mutualística estende-se a outros microrganismos presentes no talo líquênico, frequentemente referidos como o microbioma do líquen. O microbioma influencia diretamente o metabolismo do líquen e pode aumentar sua resiliência frente a desafios ambientais, evidenciando que os líquens são, em essência, holobiontes compostos por múltiplas espécies interativas (Yang *et al.*, 2023, 2024). Essa complexidade ressalta a importância de uma compreensão mais abrangente da ecologia



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

liquênica e das relações simbióticas envolvidas (Smith *et al.*, 2020a).

A capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico (N₂) contribui significativamente para o enriquecimento de nitrogênio em diversos habitats, incluindo ambientes pobres em nutrientes e regiões extremas. Estudos indicam que os líquens desempenham um papel relevante nesse processo, principalmente por meio da atividade de cianobactérias associadas, como aquelas do gênero *Nostoc*, reconhecidas por sua capacidade de fixação biológica de N₂ (Porada *et al.*, 2013; Chen, Che-Chih *et al.*, 2025). Além disso, são fonte de alimento para diversos organismos, e destacam sua relevância na promoção da biodiversidade e na manutenção da saúde dos ecossistemas (Valdivia; Iannacone, 2022, 2023)

O estabelecimento e a adaptação bem-sucedidos dos cianolíquens são amplamente influenciados pelas interações simbióticas entre micobiontes (fungos) e fotobiontes (cianobactérias), destacando a importância ecológica desses organismos na ciclagem de nutrientes e na formação de habitats (Coca *et al.*, 2012). Pesquisas indicam que cianolíquens, como os do gênero *Peltigera* Willd., podem fixar nitrogênio atmosférico em taxas superiores a briófitas (Gavazov *et al.*, 2010). Os simbiontes cianobacterianos da família Nostocaceae estão frequentemente envolvidos nesses processos, desempenhando um papel crucial na formação e manutenção de diversas comunidades de líquens (Weeraphan *et al.*, 2023).

O gênero *Nostoc* abrange uma grande diversidade de espécies que se destacam por sua morfologia singular, propriedades funcionais, relações bióticas e ampla distribuição em diferentes habitats (Gagunashvili; Andr sson, 2018). Os representantes desse gênero apresentam filamentos compostos por células fotossintéticas normais e heterocistos fixadores de N₂, além de formarem periodicamente acinetos resistentes para sobrevivência e filamentos móveis (hormogônios) para reprodução (Brenes- lvarez *et al.*, 2021; Hata *et al.*, 2022). Esses microrganismos podem formar col nias macroscópicas ou microscópicas, sendo comuns em ambientes terrestres e aquáticos (Potts, 2002). Algumas espécies de *Nostoc* são de vida livre, enquanto muitas outras estabelecem associações simples ou obrigatórias com plantas e fungos terrestres, como nos líquens (Gagunashvili; Andr sson, 2018; Prieto, Maria *et al.*, 2023)

Espécies do gênero *Nostoc* têm sido identificadas como produtoras de metabólitos secundários com potenciais efeitos tóxicos (Nowruzi *et al.*, 2012; Nowruzi; Porzani, 2020). Alguns representantes desse gênero sintetizam compostos semelhantes às microcistinas. Em associação com cianolíquens, já foi identificada a produção de microcistinas, indicando um



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

amplo espectro de riscos associados à sua proliferação em ambientes aquáticos e terrestres (Kaasalainen *et al.*, 2009; Krztoń *et al.*, 2016). A variabilidade na produção de microcistinas entre diferentes cepas de *Nostoc* é influenciada por diversos fatores, como a disponibilidade de nutrientes, flutuações de temperatura e condições de estresse, especialmente a intensidade luminosa (Kurmayer, 2011; Wannicke; Herrmann; Gehringer, 2021). Por exemplo, o estudo conduzido por Kurmayer (2011), evidenciou taxas elevadas de produção de microcistinas sob condições de estresse, demonstrando as respostas adaptativas do gênero *Nostoc* às pressões ambientais (Kurmayer, 2011).

Os líquens demonstram adaptações morfológicas especializadas e mantêm relações ecológicas intrincadas com a flora e a fauna dos ambientes onde ocorrem. A interação entre fatores abióticos, como luz, umidade e temperatura, e as respostas morfológicas dos líquens oferece informações relevantes sobre suas estratégias evolutivas. Por exemplo, mudanças climáticas que afetam a disponibilidade de umidade podem provocar alterações observáveis na composição e na morfologia dos ecossistemas líquênicos (Lalley *et al.*, 2006; Divakar *et al.*, 2013). Essas respostas bióticas evidenciam como os líquens podem atuar como indicadores de mudanças ambientais, tornando-se ferramentas eficazes para o monitoramento ecológico.

1.2. Líquens como bioindicadores ambientais

Para compreender os líquens é fundamental analisar seu papel ecológico, a composição dos ecossistemas líquênicos e sua distribuição em diferentes substratos. Além disso, estudos sobre a diversidade de líquens em distintas regiões fornecem informações relevantes sobre os fatores que influenciam sua distribuição (Bhagarathi *et al.*, 2022; Sigit *et al.*, 2022). A importância dos líquens no biomonitoramento é reforçada por sua ampla distribuição, ocorrência e pela interpretação dos dados de diversidade líquênica para fins de avaliação ambiental (Giordani; Brunialti, 2015; Santos, 2015; Costa, 2018).

Os líquens desempenham um papel crucial na avaliação ambiental devido à sua capacidade de acumular contaminantes e responder a mudanças nas condições ambientais. Estudos demonstram que esses organismos atuam como bioindicadores da qualidade do ar, uma vez que absorvem poluentes diretamente por sua superfície, refletindo assim a saúde do ecossistema local (Hawksworth; Iturriaga; Crespo, 2005; Ochoa-Jiménez *et al.*, 2015). Por exemplo, sua presença e diversidade geralmente indicam baixos níveis de contaminação



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

atmosférica, enquanto sua escassez ou ausência pode sugerir condições ambientais adversas, como altos níveis de poluentes ou degradação do habitat (Silva, 2019).

Além disso, os líquens são especialmente úteis em regiões onde não há equipamentos sofisticados de monitoramento da qualidade do ar, oferecendo uma alternativa econômica e eficaz para a vigilância ambiental (Cohn-Berger; Quezada, 2016). Sua sensibilidade a poluentes atmosféricos, como metais pesados e outros compostos tóxicos, tem ampliado significativamente seu uso em estudos de contaminação em diversas regiões. Pesquisas indicam que a composição das comunidades de líquens sofre variações em resposta à qualidade do ar, permitindo aos cientistas avaliar os impactos da poluição de forma dinâmica e detalhada (Mota Filho *et al.*, 2007; Ramírez; Valencia, 2020).

Os metais pesados constituem um grupo de poluentes ambientais que têm gerado crescente preocupação devido aos seus efeitos adversos sobre a saúde humana, a fauna e a flora. Essa preocupação é reforçada pela incapacidade desses elementos de se degradarem, o que favorece sua bioacumulação tanto em organismos quanto no ambiente (Makara; Kummer; Monego, 2020; Júnior; Pereira, 2021). A contaminação ambiental por metais pesados, como chumbo (Pb), mercúrio (Hg) e cádmio (Cd), geralmente resulta de atividades antrópicas, incluindo processos industriais, práticas agrícolas inadequadas e o descarte irresponsável de resíduos (Celere *et al.*, 2007; Makara; Kummer; Monego, 2020).

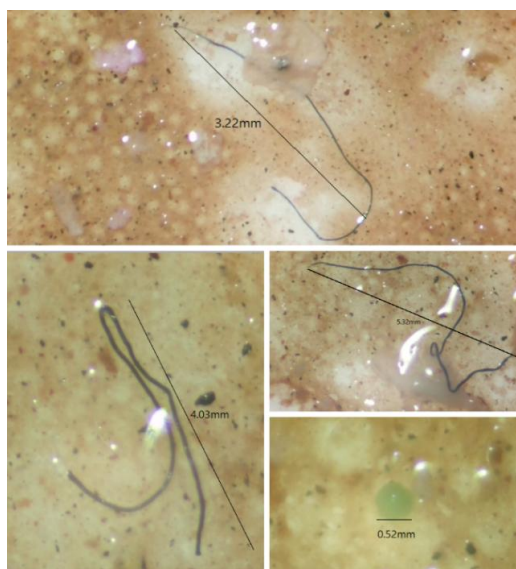
Pesquisas recentes destacam o uso de espécies específicas de líquens como bioindicadores na avaliação da poluição atmosférica. O líquen epífito *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl., por exemplo, é amplamente reconhecido como um indicador confiável da deposição de poluentes atmosféricos, devido à sua alta capacidade de bioacumulação e sensibilidade a contaminantes como metais pesados (Stojanowska *et al.*, 2020). Da mesma forma, estudos apontam que líquens como *Buellia dispersa* A.Massal. também são bioindicadores eficazes, especialmente na detecção da dispersão de metais pesados em ambientes urbanos (Sims *et al.*, 2017). A aplicação de líquens em programas de monitoramento ambiental tem se tornado cada vez mais difundida. Pesquisas realizadas em aterros sanitários municipais demonstraram que a diversidade líquênica tende a diminuir com o aumento da proximidade de fontes de poluição, corroborando a eficácia desses organismos como bioindicadores ambientais (Paoli *et al.*, 2015).

Além da acumulação de metais pesados, pesquisas realizadas nos últimos anos comprovaram o uso de líquens como biomonitores eficazes para identificação de microplásticos

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

transportados pelo ar (**Figura 2**). Devido à sua fisiologia única e à capacidade de acumular partículas diretamente da atmosfera, os líquens têm sido cada vez mais utilizados em estudos de monitoramento ambiental. Diversos trabalhos empregaram o biomonitoramento líquênico para avaliar a deposição de microplásticos em diferentes ambientes, desde áreas urbanas até locais influenciados por emissões provenientes de aterros sanitários (Loppi *et al.*, 2021; Jafarova *et al.*, 2022a; Çobanoğlu; Özen, 2024). Esses estudos demonstraram que os líquens são capazes de capturar uma variedade de formas microplásticas, incluindo fibras e fragmentos, além de identificar composições poliméricas distintas, como polipropileno (PP), polietileno (PE), cloreto de polivinila (PVC), poliestireno (PS) e tereftalato de polietileno (PET) (Loppi *et al.*, 2021; Kocakaya *et al.*, 2024). A identificação desses tipos de polímeros, destaca o papel fundamental dos líquens na identificação da complexidade das fontes de poluição atmosférica de origem antropogênica (Kocakaya *et al.*, 2024).

Figura 2. Identificação de microplásticos em amostras de líquens.



Autor(a): Ramos, E.C (2025)

A capacidade dos líquens de absorver diretamente compostos do ambiente os torna eficientes acumuladores de contaminantes transportados pelo ar, fornecendo informações sobre os níveis de poluição por microplásticos na atmosfera. Por exemplo, estudos indicaram que os líquens podem efetivamente capturar microplásticos, como demonstrado em um líquen folioso *Flavoparmelia caperata* (L.) Hale em ambientes fortemente influenciados por atividades



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

antrópicas, como aterros sanitários (Loppi *et al.*, 2021) e áreas industriais (Jafarova *et al.*, 2022b).

Em ambientes urbanos, onde os poluentes tendem a exercer impactos mais significativos, os líquens continuam a desempenhar um papel essencial como bioindicadores da qualidade do ar. Sua presença e diversidade podem refletir a eficiência das medidas de controle da poluição, servindo como referência para a avaliação da saúde ecológica urbana (Ristić *et al.*, 2017; Ramdani; Adjiri; Lograda, 2019; Correa-Ochoa; Vélez-Monsalve; Saldarriaga-Molina, 2021). Notavelmente, a resposta das comunidades líquênicas aos fatores ambientais urbanos tem motivado iniciativas que buscam utilizar suas capacidades de monitoramento ambiental para apoiar o planejamento urbano e as avaliações de saúde pública (Matos *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2023).

A genômica ambiental desempenha um papel crucial na compreensão de como a variação genética influencia as respostas individuais às influências ambientais. A análise metagenômica é crucial para compreender as características genômicas e específicas das comunidades microbianas em resposta às mudanças ambientais e compreensão de como os fatores genéticos e ambientais interagem para influenciar a saúde e a adaptação desses organismos a diferentes ambientes (Rogel *et al.*, 2020; Singh, 2023).

1.3. Sequenciamento e a Metagenômica

O sequenciamento de DNA passou por uma evolução marcante desde o seu desenvolvimento, culminando em diversas metodologias adaptadas às diferentes necessidades de pesquisa e aplicações clínicas. Inicialmente, o método Sanger, desenvolvido na década de 1970, permitiu o sequenciamento de pequenos fragmentos de DNA e foi crucial para os primeiros estudos genômicos. Apesar de sua precisão, apresentava limitações como alto custo e consumo de tempo, tornando inviável o sequenciamento de genomas inteiros em larga escala. A conclusão do Projeto Genoma Humano em 2003, baseada nesse método, foi um marco na genômica, demonstrando o potencial dessas tecnologias para a compreensão de sistemas biológicos complexos (Behjati; Tarpey, 2013; Rad, 2017).

A introdução das tecnologias de sequenciamento de nova geração (NGS, do inglês *Next Generation Sequencing*), no final dos anos 2000, revolucionou o campo da genômica. Essas tecnologias possibilitaram o sequenciamento de genomas completos em um único dia, com



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

significativa redução de custos e tempo de processamento (Xie; Guan; Zhou, 2015). O NGS introduziu o conceito de sequenciamento de alto rendimento, capaz de gerar milhões de leituras simultaneamente, permitindo a análise de variações genéticas e mutações em populações e espécies (Dolan; Denver, 2008). No contexto clínico, essas tecnologias desempenham um papel fundamental, especialmente na oncologia, ao identificar alterações genéticas em tumores, contribuindo para a definição de estratégias terapêuticas personalizadas (Astolfi *et al.*, 2015; Munchel *et al.*, 2015).

As plataformas de sequenciamento Illumina é uma tecnologia NGS, oferecendo características únicas que atendem a diferentes necessidades e tipos de aplicação. As plataformas Illumina, especialmente das séries HiSeq e MiSeq, são amplamente reconhecidas por sua capacidade de realizar sequenciamentos de alto rendimento (HTS, do inglês *High Throughput Sequencing*), aliada a recursos avançados de multiplexação. Essa abordagem permite o sequenciamento simultâneo de múltiplas amostras, o que contribui para maior eficiência e melhor relação custo-benefício (Mze *et al.*, 2022, 2023).

O Illumina consolidou-se como uma ferramenta poderosa para pesquisas genômicas, enquanto o sequenciamento de células individuais (single-cell) permitiu uma análise detalhada do genoma de células isoladas, ampliando as aplicações da genômica em áreas como microbiologia, agricultura e biomedicina (Wang, Dong; Hong, 2014; Fauzi *et al.*, 2021).

Os avanços mais recentes vieram com o desenvolvimento de tecnologias de sequenciamento de leitura longa e de terceira geração, como o sequenciamento SMRT (Single Molecule Real-Time Sequencing) da Pacific Biosciences e o sequenciamento de nanoporos da Oxford Nanopore Technologies. Essas plataformas oferecem vantagens exclusivas, como leituras mais longas e eliminação da necessidade de amplificação inicial do DNA (Raley *et al.*, 2014; Li, Chenhao *et al.*, 2016; Wang, Yajun *et al.*, 2024). O sequenciamento de nanoporos, por exemplo, permite análise em tempo real, fornecendo informações genômicas instantâneas. Adicionalmente, o sequenciamento PacBio destaca-se pela capacidade de sequenciar regiões genômicas complexas, como sequências repetitivas e modificações de bases, sendo particularmente útil em estudos de isoformas de genes e epigenética (Flusberg *et al.*, 2010; Rhoads; Au, 2015).

As estratégias de sequenciamento e as abordagens metagenômicas desempenham um papel fundamental na compreensão da diversidade e das funções microbianas em diferentes



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

ambientes. A metagenômica possibilita a análise do material genético extraído diretamente de amostras ambientais, permitindo a investigação de comunidades microbianas sem a necessidade de cultivo, o que evita o viés associado à predominância de espécies facilmente cultiváveis (Zhang, 2021). Por ser uma abordagem independente de cultivo, a metagenômica viabiliza a detecção de uma ampla diversidade de genomas microbianos, incluindo aqueles de microrganismos não cultiváveis, que representam uma parcela significativa da microbiota presente em ambientes naturais (Saltykova *et al.*, 2020).

A metagenômica é um campo em rápida evolução que utiliza tecnologias avançadas de sequenciamento para estudar os genomas coletivos de comunidades microbianas em diferentes ambientes. Essa abordagem tem revolucionado a compreensão da diversidade microbiana, de suas funções e das interações nos ecossistemas, incluindo o microbioma humano (Roumpeka *et al.*, 2017; Zhang, Lu *et al.*, 2021). O sequenciamento de alto rendimento, surgiu como uma tecnologia transformadora na genômica, permitindo que pesquisadores sequenciem grandes quantidades de DNA e RNA com velocidade e precisão. Essa tecnologia permite o sequenciamento simultâneo de milhões de fragmentos, aumentando significativamente o rendimento em comparação com métodos tradicionais, como o sequenciamento de Sanger (Reuter; Spacek; Snyder, 2015; Rong; Liu, 2020; Wang, Shun *et al.*, 2020).

As aplicações clínicas da metagenômica têm ganhado destaque, especialmente devido ao seu potencial em fornecer diagnósticos rápidos e precisos em contextos em que os métodos tradicionais de diagnóstico falham. A pesquisa de Miller *et al.* (2019) exemplifica o uso do sequenciamento metagenômico para detectar patógenos no líquido cefalorraquidiano, uma prática que pode melhorar substancialmente o manejo clínico, especialmente em infecções difíceis de diagnosticar com métodos convencionais, como culturas bacterianas ou PCR (Miller *et al.*, 2019). Além disso, a identificação de genes de resistência a antibióticos por meio da análise metagenômica tem implicações cruciais para amenizar a disseminação da resistência em contextos clínicos e ambientais (Noyes *et al.*, 2017).

Essa abordagem fornece dados sobre a diversidade microbiana, o potencial funcional e os papéis ecológicos dos microrganismos em diversos habitats. O desenvolvimento de tecnologias avançadas de sequenciamento aprimorou significativamente nossa capacidade de caracterizar essas comunidades em diferentes ambientes, contribuindo, assim, para a compreensão da saúde dos ecossistemas e para os esforços de biorremediação, quando



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

necessário (Chen, 2024). A análise metagenômica pode revelar as conexões complexas entre as comunidades microbianas ambientais e o ecossistema, destacando seu papel fundamental nos ciclos de nutrientes e na supressão de doenças, como evidenciado em estudos com fitopatógenos e na saúde do solo (Chen, 2024).

Outra aplicação significativa da metagenômica é a identificação e caracterização de genes de resistência microbiana e suas funcionalidades associadas em diferentes contextos ambientais. Pesquisas sobre genes de resistência a antibióticos demonstram que fatores ambientais, como o uso da terra e os níveis de contaminação, afetam significativamente a diversidade e a abundância desses genes em comunidades microbianas (Zulfiqar *et al.*, 2023; Zhu *et al.*, 2024). Essa compreensão é essencial para prever alterações no potencial de resistência microbiana decorrentes de impactos antropogênicos, especialmente em sistemas agrícolas e no gerenciamento de resíduos (Resende *et al.*, 2014).

1.4. Ferramentas de Bioinformática e a (Meta)genômica

A transição do método Sanger para tecnologias de alto rendimento como o NGS e outras inovações reflete um esforço contínuo para aprimorar a eficiência, precisão e acessibilidade da pesquisa genômica. O uso integrado de bioinformática e biologia computacional tornou-se indispensável para interpretar os grandes volumes de dados gerados, permitindo uma análise abrangente e detalhada do material genético sequenciado (Grada; Weinbrecht, 2013; Burian *et al.*, 2021).

A bioinformática e as análises ômicas desempenham um papel crucial na integração de múltiplos dados biológicos, contribuindo para a compreensão de processos biológicos complexos. O avanço das tecnologias de alto rendimento resultou em um aumento expressivo na geração de dados ômicos, abrangendo (meta)genômica, transcriptômica, proteômica e metabolômica, o que tem permitido aos pesquisadores obterem uma visão mais abrangente e sistêmica dos organismos e seus processos biológicos (Saha, 2023; Vitorino, 2024). Diversas estratégias de integração de dados multiômicos vêm sendo aplicadas com o objetivo de superar os desafios relacionados à heterogeneidade dos dados e à complexidade envolvida em sua análise (Saha, 2023).

A análise de dados genômicos complexos e perfis metagenômicos evoluiu de maneira acentuada, com plataformas como Kbase e Galaxy aprimorando significativamente o cenário



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

de pesquisa. Essas ferramentas atuam como interfaces práticas para a execução de diversas análises genômicas, auxiliando pesquisadores no manejo de vastos conjuntos de dados genômicos (Karp *et al.*, 2019; Parrello *et al.*, 2021).

A Kbase (do Inglês, *The Department of Energy Systems Biology Knowledgebase*), destaca-se pela capacidade de integrar dados genômicos com informações ecológicas e funcionais. Essa integração permite que os pesquisadores explorem as relações dentro das comunidades microbianas e seus respectivos genótipos (Parrello *et al.*, 2021). A plataforma também suporta métodos computacionais avançados para análise pan-genômica, como exemplificado por Duan *et al.* (2019), que utilizou um pipeline de análise pan-genômica em genomas humanos, demonstrando sua aplicação na compreensão de variações genéticas (Duan *et al.*, 2019).

O Galaxy é outra plataforma poderosa que facilita análises genômicas e metagenômicas de maneira acessível e intuitiva. Ao oferecer fluxos de trabalho reprodutíveis para análises de bioinformática, o Galaxy democratiza o acesso à análise de dados de sequenciamento de alto rendimento (Karp *et al.*, 2019). A capacidade para realizar análises comparativas genômicas permitem que os pesquisadores explorem a diversidade genética enquanto gerenciam grandes conjuntos de dados com facilidade, o que é crucial em estudos (meta)genômicos, destacando a importância desta ferramentas de análise integradas nesse contexto (Karp *et al.*, 2019; Li, Tang; Yin, 2022).

A escolha de ferramentas de bioinformática para a análise de dados genômicos e metagenômicos é um aspecto crítico no delineamento de estudos microbiológicos (**Tabela 1**). Diversas soluções computacionais foram desenvolvidas, cada uma voltada para aplicações específicas, como a classificação taxonômica, montagem genômica e análise funcional. Ferramentas como MetaPhlAn, MG-RAST e Kraken são amplamente utilizadas para a classificação taxonômica, realizando comparações entre sequências metagenômicas e bancos de dados de referência abrangentes (Klimina *et al.*, 2019; Xu *et al.*, 2023).

Um aspecto fundamental no controle de qualidade genômico é a avaliação de diversas métricas. Ferramentas como QUAST e BUSCO foram desenvolvidas com esse propósito (Studholme, 2016; Li, Ke *et al.*, 2024). O QUAST (Quality Assessment Tool for Genome Assemblies) avalia métricas como tamanho total da montagem, número de contigs e o valor de N50, um indicador da contiguidade da montagem (Studholme, 2016). Este software é muito



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

utilizado em trabalhos de montagem genômica e em estudos metagenômicos, promovendo uma metodologia padronizada para avaliação de qualidade das montagens (MacDonald; Lee, 2021).

A avaliação da qualidade dos MAGs (genomas montados a partir de metagenomas) tem se tornado um aspecto central nas análises metagenômicas. O desenvolvimento de novas abordagens, como o CheckM2, tem se mostrado promissor, permitindo a estimativa rápida da completude e da contaminação dos genomas montados (Chklovski *et al.*, 2022). Essa ferramenta possui ampla aplicabilidade e é ideal para estudos com grandes conjuntos de MAGs.

Outro componente essencial do controle de qualidade é a análise dos dados de sequência bruta. O FastQC é amplamente utilizado para identificar problemas, como leituras de baixa qualidade, contaminação por adaptadores e viés de sequenciamento, fornecendo visualizações úteis para orientar as decisões subsequentes (Orynbayev *et al.*, 2020). Em complemento, o Trimmomatic realiza a remoção automática de regiões de baixa qualidade e adaptadores, aprimorando a qualidade geral dos dados antes da montagem (Orynbayev *et al.*, 2020).

Os avanços da bioinformática aumentaram ainda mais os recursos de ferramentas como o antiSMASH. Esta ferramenta permite inferir previsões mais precisas de estruturas químicas associadas aos clusters de genes biossintéticos (BGCs), simplificando o processo de identificação de produtos naturais a partir de dados genômicos (Skinnider *et al.*, 2017; Walker; Clardy, 2021). Por exemplo, estudos realizados identificaram compostos com atividade biológica derivados de BGCs, facilitando abordagens direcionadas em farmacologia e bioquímica (Andersen *et al.*, 2012; Walker; Clardy, 2021).

A integração do BiG-SCAPE com ferramentas como o antiSMASH aprimora sua funcionalidade, permitindo a rápida identificação e categorização de BGCs com base em dados genômicos, como evidenciado por estudos realizados em vários organismos, incluindo bactérias e fungos (Navarro-Muñoz *et al.*, 2018; Nielsen *et al.*, 2019). A investigação de clusters de genes biossintéticos por meio de ferramentas de bioinformática, como o antiSMASH, tem se mostrado fundamental para a descoberta do vasto cenário de metabólitos secundários microbianos (Weber *et al.*, 2015).

As ferramentas de anotação baseadas em pipelines podem reduzir significativamente a complexidade dos processos de anotação genômica. Um exemplo é o servidor RAST, que oferece uma solução completa para anotação do genoma microbiano, permitindo conexões automatizadas com reconstruções metabólicas, o que otimiza o fluxo de trabalho de anotação.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Esses pipelines são projetados para lidar com diferentes níveis de anotação, desde definições estruturais básicas até descrições funcionais mais complexas, possibilitando a geração de conjuntos de dados abrangentes para análises posteriores (Disz *et al.*, 2010).

Na metagenômica, a análise de comunidades microbianas complexas a partir de amostras ambientais exige estratégias eficazes para montagem e anotação de sequências de DNA. A reconstrução de genomas a partir de dados metagenômicos brutos é um passo crucial para entender a diversidade e o potencial funcional das comunidades microbianas. Nesse contexto, ferramentas computacionais como MetaBAT2 e MaxBin2 desempenham um papel fundamental (Kang *et al.*, 2019; Wu; Simmons; Singer, 2016). Essas ferramentas realizam o *binning* de montagens metagenômicas, permitindo a separação de fragmentos genômicos em grupos que representam genomas individuais, mesmo em populações microbianas altamente complexas. Com isso, contribuindo para a identificação e aprofundamento do entendimento sobre a diversidade e a funcionalidade microbiana nos ecossistemas (Tsukamoto; Kakegawa, 2022; Hauptfeld *et al.*, 2024).

A profundidade e a uniformidade da cobertura de sequenciamento são cruciais para a qualidade final do genoma. Cobertura inadequada pode resultar em lacunas ou erros na montagem, afetando a integridade dos dados (Jenke; Gruenstaeudl, 2022). Ferramentas de avaliação de cobertura ajudam a identificar esses problemas precocemente, permitindo ajustes antes das análises finais (Pedersen *et al.*, 2017). Essa etapa é ainda mais crítica em metagenômica, onde a variabilidade na abundância dos microrganismos pode gerar diferenças significativas na profundidade de sequenciamento entre táxons (Jenke; Gruenstaeudl, 2022).

Tabela 1. Ferramentas de bioinformática para análise (meta)genômica em NGS.

Programas de bioinformática para controle de qualidade de dados em sequenciamento de leitura curta e longa.			
Programa	Tipo de dados	Site/Repositório GitHub	
FastQC	<i>Reads</i> curtas	https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/	
MultiQC	<i>Reads</i> curtas	https://multiqc.info	
Programas de bioinformática para corte de dados em sequenciamento de leitura curta e longa.			
Programa	Tipo de dados	Site/Repositório GitHub	
Trimmomatic	<i>Short Reads</i>	http://www.usadellab.org/cms/?page=trimmomatic	
Ferramentas de bioinformática para montagem de metagenoma para montagens de leitura curta, leitura longa e híbridadas.			
Programa	Comprimento de leitura	Algoritmo	Site/Repositório GitHub
MEGAHIT	<i>Reads</i> curtas	Gráfico de Bruin	https://github.com/voutcn/megahit



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

metaSPADES	Reads curtas	Gráfico de Bruijn	https://github.com/ablab/spades
Ferramentas de bioinformática para controle de qualidade da montagem do metagenoma.			
MetaQuast	Baseado em referência		http://bioinf.spbau.ru/metaquast
CheckM	Sem referência		https://github.com/Ecogenomics/CheckM
BUSCO	Sem referência		https://busco.ezlab.org
Perfiladores taxonômicos bioinformáticos, incluindo algoritmo, uso de bancos de dados personalizados e site ou repositório do GitHub.			
Programa	Tipo de Classificador	Permite bancos de dados personalizados	Site/Repositório GitHub
Kraken2	k-mers	Sim	https://ccb.jhu.edu/software/kraken2/
Kaiju	Codificação de proteínas	Sim	https://kaiju.binf.ku.dk
MetaPhlAn3	Gene marcador	Não	https://huttenhower.sph.harvard.edu/metaphlan
GOTTCHA	Gene marcador	Não	https://lanl-bioinformatics.github.io/GOTTCHA/
BLAST	Baseado em alinhamento	Sim	https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Fonte: Tabela adaptada de Ibañez-Lligoña *et al.* (2023)

Além de sua importância ecológica, os líquens possuem notável potencial biotecnológico. Nesse contexto, abordagens metagenômicas são essenciais para desvendar a diversidade microbiana associada aos líquens, compreender a organização funcional do ecossistema líquênico e identificar genes ou vias metabólicas de interesse. A genômica ambiental se destaca como ferramenta fundamental para entender como a variação genética influencia as respostas dos organismos às condições ambientais. A análise metagenômica investiga as características genômicas e a composição funcional das comunidades microbianas diante das mudanças ambientais, elucidando as interações entre fatores genéticos e ambientais que afetam a saúde e adaptação dos organismos em diferentes habitats (Rogel *et al.*, 2020; Singh, 2023).

O uso de tecnologias de sequenciamento de nova geração, aliado a ferramentas bioinformáticas, tem ampliado as perspectivas sobre a diversidade microbiana nos líquens (Zhang, Lu *et al.*, 2021; Chen, Tao, 2024). A análise de comunidades microbianas não cultiváveis, a identificação de genes de resistência e a caracterização de metabólitos secundários aprofundam o entendimento sobre as interações ecológicas e os potenciais funcionais dos líquens nos ecossistemas (Noyes *et al.*, 2017; Zulfiqar *et al.*, 2023).

Assim, a abordagem metagenômica não só enriquece o conhecimento sobre a diversidade microbiana associada aos líquens, também oferece percepções sobre como essas



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

comunidades se adaptam e respondem às pressões ambientais. Este enfoque está alinhado ao objetivo desta dissertação, que visa explorar a complexa diversidade e implicações ecológicas desses organismos, destacando a importância da análise metagenômica na genômica ambiental.

REFERÊNCIAS

ANDERSEN, M. R.; NIELSEN, J. B.; KLITGAARD, A.; PETERSEN, L. M.; ZACHARIASEN, M.; HANSEN, T. J.; BLICHER, L. H.; GOTFREDSEN, C. H.; LARSEN, T. O.; NIELSEN, K. F.; MORTENSEN, U. H. Accurate prediction of secondary metabolite gene clusters in filamentous fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 110, n. 1, 2012. DOI 10.1073/pnas.1205532110. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1205532110>. Acesso em: 22 abr. 2025.

ASPLUND, J.; WARDLE, D. A. How lichens impact on terrestrial community and ecosystem properties. **Biological Reviews**, [s. l.], v. 92, n. 3, p. 1720–1738, 2017. <https://doi.org/10.1111/brev.12305>.

ASTOLFI, A.; URBINI, M.; INDIO, V.; NANNINI, M.; GENOVESE, C. G.; SANTINI, D.; SAPONARA, M.; MANDRIOLI, A.; ERCOLANI, G.; BRANDI, G.; BIASCO, G.; PANTALEO, M. A. Whole exome sequencing (WES) on formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) tumor tissue in gastrointestinal stromal tumors (GIST). **BMC Genomics**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 892, 3 nov. 2015. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1982-6>.

BANCHI, E.; STANKOVIC, D.; FERNÁNDEZ-MENDOZA, F.; GIONECHETTI, F.; PALLAVICINI, A.; MUGGIA, L. ITS2 metabarcoding analysis complements lichen mycobiome diversity data. **Mycological Progress**, [s. l.], v. 17, n. 9, p. 1049–1066, 1 set. 2018. <https://doi.org/10.1007/s11557-018-1415-4>.

BEHJATI, S.; TARPEY, P. S. What is next generation sequencing? **Archives of Disease in Childhood - Education and Practice**, [s. l.], v. 98, n. 6, seq. Research in practice, p. 236–238, 1 dez. 2013. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2013-304340>.

BHAGARATHI, L. K.; DASILVA, P. N. B.; SUBRAMANIAN, G.; MAHARAJ, G.; KALIKA-SINGH, S.; PESTANO, F.; PHILLIPS-HENRY, Z.; COSSIAH, C. An integrative review of the biology and chemistry of lichens and their ecological, ethnopharmacological, pharmaceutical and therapeutic potential. **GSC Biological and Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 23, n. 3, 2023. DOI 10.30574/gscbps.2023.23.3.0223. Disponível em: <https://doi.org/10.30574/gscbps.2023.23.3.0223>. Acesso em: 21 abr. 2025.

BHAGARATHI, L. K.; MAHARAJ, G.; DASILVA, P. N. B.; SUBRAMANIAN, G.; BHAGARATHI, L. K.; MAHARAJ, G.; DASILVA, P. N. B.; SUBRAMANIAN, G. A review of the diversity of lichens and what factors affect their distribution in the neotropics. **GSC Biological and Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 20, n. 3, p. 027–063, 2022. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2022.20.3.0348>.

BRENES-ÁLVAREZ, M.; OLMEDO-VERD, E.; VIOQUE, A.; MURO-PASTOR, A. M. A nitrogen stress-inducible small RNA regulates CO₂ fixation in Nostoc. **Plant Physiology**, [s. l.], v. 187, n. 2, p. 787–798, 1 out. 2021. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiab309>.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

BURIAN, A. N.; ZHAO, W.; LO, T.-W.; THURTLIE-SCHMIDT, D. M. Genome sequencing guide: An introductory toolbox to whole-genome analysis methods. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, [s. l.], v. 49, n. 5, p. 815–825, 2021. <https://doi.org/10.1002/bmb.21561>.

CELERE, M. S.; OLIVEIRA, A. da S.; TREVILATO, T. M. B.; SEGURA-MUÑOZ, S. I. Metais presentes no chorume coletado no aterro sanitário de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil, e sua relevância para saúde pública. **Cadernos De Saúde Pública**, [s. l.], v. 23, n. 4, 2007. DOI 10.1590/s0102-311x2007000400021. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0102-311x2007000400021>. Acesso em: 17 abr. 2025.

CHEN, C.-C.; XIE, Q.-Y.; CHUANG, P.-S.; DARNAJOUX, R.; CHIEN, Y. C.; WANG, W.; TIAN, X.; TU, C.-H.; CHEN, B.-C.; TANG, S.-L.; CHEN, K.-H. A thallus-forming N-fixing fungus-cyanobacterium symbiosis from subtropical forests. **Science Advances**, [s. l.], v. 11, n. 7, 2025. DOI 10.1126/sciadv.adt4093. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/sciadv.adt4093>. Acesso em: 20 abr. 2025.

CHEN, T. Environmental Microbial Diversity and Ecosystem Health Revealed by Metagenomics. **Molecular Microbiology Research**, [s. l.], 2024. DOI 10.5376/mmr.2024.14.0003. Disponível em: <https://doi.org/10.5376/mmr.2024.14.0003>. Acesso em: 21 abr. 2025.

CHKLOVSKI, A.; PARKS, D. H.; WOODCROFT, B. J.; TYSON, G. W. CheckM2: a rapid, scalable and accurate tool for assessing microbial genome quality using machine learning. [s. l.], , seq. New Results, p. 2022.07.11.499243, 11 jul. 2022. DOI 10.1101/2022.07.11.499243. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2022.07.11.499243v1>. Acesso em: 22 abr. 2025.

ÇOBANOĞLU, G.; ÖZEN, E. Detection of Atmospheric Microplastics Accumulated in Xanthoria parietina: A Lichen Biomonitoring Study on the Asian Side of Istanbul. **International Journal of Environmental Research**, [s. l.], v. 18, n. 4, 2024. DOI 10.1007/s41742-024-00596-4. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s41742-024-00596-4>. Acesso em: 17 abr. 2025.

COCA, L. F.; SANÍN, D.; POSADA-HERRERA, J. M.; SIERRA-GIRALDO, J. A. PELTIGERALES (ASCOMYCETES LIQUENIZADOS) DEL BOSQUE ALTO ANDINO DEL PARQUE NACIONAL NATURAL TATAMÁ, COLOMBIA. **Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 60–72, jun. 2012. .

COHN-BERGER, G.; QUEZADA, M. Líquenes como bioindicadores de contaminación aérea en el corredor metropolitano de la ciudad de Guatemala. **Revista Científica**, [s. l.], v. 26, n. 1, 2016. DOI 10.54495/rev.cientifica.v26i1.79. Disponível em: <https://doi.org/10.54495/rev.cientifica.v26i1.79>. Acesso em: 18 nov. 2024.

CORREA-OCHOA, M. A.; VÉLEZ-MONSALVE, L. C.; SALDARRIAGA-MOLINA, J. C. Spatial distribution of lichen communities and air pollution mapping in a tropical city: Medellín, Colombia. **Revista De Biología Tropical**, [s. l.], v. 69, n. 3, 2021. DOI 10.15517/rbt.v69i3.46934. Disponível em: <https://doi.org/10.15517/rbt.v69i3.46934>. Acesso em: 21 abr. 2025.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

COSTA, W. R. Utilização de líquens no monitoramento ativo e passivo da poluição atmosférica. [s. l.], 24 ago. 2018. Disponível em: <http://bdtd.ufma.edu.br/handle/tede/637>. Acesso em: 26 nov. 2024.

DISZ, T.; AKHTER, S.; CUEVAS, D.; OLSON, R.; OVERBEEK, R.; VONSTEIN, V.; STEVENS, R.; EDWARDS, R. A. Accessing the SEED Genome Databases via Web Services API: Tools for Programmers. **BMC Bioinformatics**, [s. l.], v. 11, n. 1, 2010. DOI 10.1186/1471-2105-11-319. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-319>. Acesso em: 22 abr. 2025.

DIVAKAR, P. K.; KAUFF, F.; CRESPO, A.; LEAVITT, S. D.; LUMBSCH, H. T. Understanding Phenotypical Character Evolution in Parmelioid Lichenized Fungi (Parmeliaceae, Ascomycota). **PLoS ONE**, [s. l.], v. 8, n. 11, 2013. DOI 10.1371/journal.pone.0083115. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083115>. Acesso em: 20 abr. 2025.

DOLAN, P. C.; DENVER, D. R. TileQC: A system for tile-based quality control of Solexa data. **BMC Bioinformatics**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 250, 28 maio 2008. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-9-250>.

DUAN, Z.; QIAO, Y.; LU, J.; LU, H.; ZHANG, W.; YAN, F.; SUN, C.; HU, Z.; ZHANG, Z.; LI, G.; CHEN, H.; XIANG, Z.; ZHU, Z.; ZHAO, H.; YU, Y.; WEI, C. HUPAN: a pan-genome analysis pipeline for human genomes. **Genome Biology**, [s. l.], v. 20, n. 1, 2019. DOI 10.1186/s13059-019-1751-y. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1751-y>. Acesso em: 22 abr. 2025.

FAUZI, M. N. M.; BAKAR, A. A. A.; ADNAN, L. A.; RAHMAN, T. A. F. T. A.; NURDALILA, A. A. Sequencing and Annotated of Goat's Milk using Bioinformatics Tool: ClustalX. **Malaysian Journal of Science Health & Technology**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 28–33, 30 mar. 2021. <https://doi.org/10.33102/mjosht.v7i1.155>.

FAVERO-LONGO, S. E.; PIERVITTORI, R. Lichen-plant interactions. **Journal of Plant Interactions**, [s. l.], v. 5, n. 3, 2010. DOI 10.1080/17429145.2010.492917. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/17429145.2010.492917>. Acesso em: 21 abr. 2025.

FLUSBERG, B. A.; WEBSTER, D. R.; LEE, J. H.; TRAVERS, K. J.; OLIVARES, E. C.; CLARK, T. A.; KORLACH, J.; TURNER, S. W. Direct detection of DNA methylation during single-molecule, real-time sequencing. **Nature Methods**, [s. l.], v. 7, n. 6, p. 461–465, jun. 2010. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1459>.

GAGUNASHVILI, A. N.; ANDRÉSSON, Ó. S. Distinctive characters of Nostoc genomes in cyanolichens. **BMC Genomics**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 434, 5 jun. 2018. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4743-5>.

GAUSLAA, Y. Rain, dew, and humid air as drivers of morphology, function and spatial distribution in epiphytic lichens. **The Lichenologist**, [s. l.], v. 46, n. 1, p. 1–16, jan. 2014. <https://doi.org/10.1017/S0024282913000753>.

GAVAZOV, K.; SOUDZILOVSKAIA, N. A.; LOGTESTIJN, R. S. P. van; BRASTER, M.; CORNELISSEN, J. H. C. Isotopic analysis of cyanobacterial nitrogen fixation associated with



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

subarctic lichen and bryophyte species. **Plant and Soil**, [s. l.], v. 333, n. 1–2, 2010. DOI 10.1007/s11104-010-0374-6. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0374-6>. Acesso em: 17 abr. 2025.

GIORDANI, P.; BRUNIALTI, G. Sampling and Interpreting Lichen Diversity Data for Biomonitoring Purposes. In: UPRETI, D. K.; DIVAKAR, P. K.; SHUKLA, V.; BAJPAI, R. (orgs.). **Recent Advances in Lichenology**. New Delhi: Springer India, 2015. p. 19–46. DOI 10.1007/978-81-322-2181-4_2. Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/978-81-322-2181-4_2. Acesso em: 26 nov. 2024.

GRADA, A.; WEINBRECHT, K. Next-Generation Sequencing: Methodology and Application. **Journal of Investigative Dermatology**, [s. l.], v. 133, n. 8, p. 1–4, 1 ago. 2013. <https://doi.org/10.1038/jid.2013.248>.

GRIMM, M.; GRUBE, M.; SCHIEFELBEIN, U.; ZÜHLKE, D.; BERNHARDT, J.; RIEDEL, K. The Lichens' Microbiota, Still a Mystery? **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 12, p. 623839, 2021. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.623839>.

GRUBE, M.; WEDIN, M. Lichenized Fungi and the Evolution of Symbiotic Organization. **Microbiology Spectrum**, [s. l.], v. 4, n. 6, dez. 2016. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0011-2016>.

HATA, S.; KISHIDA, S.; MINESONO, R.; TAMAI, T. Dried Nostoc commune exhibits nitrogen-fixing activity using glucose under dark conditions after rehydration. **Plant Signaling & Behavior**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 2059251, 31 dez. 2022. <https://doi.org/10.1080/15592324.2022.2059251>.

HAUCK, M.; JÜRGENS, S.-R.; WILLENBRUCH, K.; HUNECK, S.; LEUSCHNER, C. Dissociation and metal-binding characteristics of yellow lichen substances suggest a relationship with site preferences of lichens. **Annals of Botany**, [s. l.], v. 103, n. 1, 2008. DOI 10.1093/aob/mcn202. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/aob/mcn202>. Acesso em: 20 abr. 2025.

HAUPTFELD, E.; PAPPAS, N.; IWAARDEN, S. van; SNOEK, B. L.; ALDAS-VARGAS, A.; DUTILH, B. E.; MEIJENFELDT, F. A. B. von. Integrating taxonomic signals from MAGs and contigs improves read annotation and taxonomic profiling of metagenomes. **Nature Communications**, [s. l.], v. 15, n. 1, 2024. DOI 10.1038/s41467-024-47155-1. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-024-47155-1>. Acesso em: 22 abr. 2025.

HAWKSWORTH, D. L.; ITURRIAGA, T.; CRESPO, A. Líquenes como bioindicadores inmediatos de contaminación y cambios medio-ambientales en los trópicos. **Revista Iberoamericana de Micología**, [s. l.], v. 22, n. 2, p. 71–82, 1 jun. 2005. [https://doi.org/10.1016/S1130-1406\(05\)70013-9](https://doi.org/10.1016/S1130-1406(05)70013-9).

IBAÑEZ-LLIGOÑA, M.; COLOMER-CASTELL, S.; GONZÁLEZ-SÁNCHEZ, A.; GREGORI, J.; CAMPOS, C.; GARCIA-CEHIC, D.; ANDRÉS, C.; PIÑANA, M.; PUMAROLA, T.; RODRÍGUEZ-FRIAS, F.; ANTÓN, A.; QUER, J. Bioinformatic Tools for NGS-Based Metagenomics to Improve the Clinical Diagnosis of Emerging, Re-Emerging and New Viruses. **Viruses**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. 587, 20 fev. 2023. <https://doi.org/10.3390/v15020587>.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

JAFAROVA, M.; CONTARDO, T.; AHERNE, J.; LOPPI, S. Lichen Biomonitoring of Airborne Microplastics in Milan (N Italy). **Biology**, [s. l.], v. 11, n. 12, 2022a. DOI 10.3390/biology11121815. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biology11121815>. Acesso em: 17 abr. 2025.

JAFAROVA, M.; CONTARDO, T.; AHERNE, J.; LOPPI, S. Lichen Biomonitoring of Airborne Microplastics in Milan (N Italy). **Biology**, [s. l.], v. 11, n. 12, 2022b. DOI 10.3390/biology11121815. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biology11121815>. Acesso em: 21 abr. 2025.

JENKE, N.; GRUENSTAEUDL, M. Depth and evenness of sequence coverage are associated with assembly quality, genome structure, and choice of sequencing platform in archived plastid genomes. [s. l.], , seq. New Results, p. 2022.05.06.490930, 6 maio 2022. DOI 10.1101/2022.05.06.490930. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2022.05.06.490930v1>. Acesso em: 22 abr. 2025.

JÚNIOR, J. C. M. de A.; PEREIRA, R. Evolução da contaminação por metais pesados em sedimentos em área estuarina do rio Capibaribe: uma revisão. **Revista De Geografia**, [s. l.], v. 38, n. 1, 2021. DOI 10.51359/2238-6211.2021.248266. Disponível em: <https://doi.org/10.51359/2238-6211.2021.248266>. Acesso em: 17 abr. 2025.

KAASALAINEN, U.; JOKELA, J.; FEWER, D. P.; SIVONEN, K.; RIKKINEN, J. Microcystin production in the tripartite cyanolichen *Peltigera leucophlebia*. **Molecular plant-microbe interactions: MPMI**, [s. l.], v. 22, n. 6, p. 695–702, jun. 2009. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-6-0695>.

KANG, D.; LI, F.; KIRTON, E.; THOMAS, A.; EGAN, R.; AN, H.; ZHONG, W. MetaBAT 2: an adaptive binning algorithm for robust and efficient genome reconstruction from metagenome assemblies. **PeerJ**, [s. l.], v. 7, 2019. DOI 10.7717/peerj.7359. Disponível em: <https://doi.org/10.7717/peerj.7359>. Acesso em: 5 fev. 2025.

KARP, P. D.; IVANOVA, N.; KRUMMENACKER, M.; KYRPIDES, N. C.; LATENDRESSE, M.; MIDFORD, P.; ONG, W. K.; PALEY, S.; SESHADRI, R. A Comparison of Microbial Genome Web Portals. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 10, 2019. DOI 10.3389/fmicb.2019.00208. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00208>. Acesso em: 22 abr. 2025.

KLIMINA, K. M.; KASIANOV, A. S.; POLUEKTOVA, E. U.; EMEL'YANOV, K. V.; VOROSHILOVA, V. N.; ZAKHAREVICH, N. V.; KUDRYAVTSEVA, A. V.; MAKEEV, V. J.; DANILENKO, V. N. Employing toxin-antitoxin genome markers for identification of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* strains in human metagenomes. **PeerJ**, [s. l.], v. 7, p. e6554, 4 mar. 2019. <https://doi.org/10.7717/peerj.6554>.

KOÇAKAYA, Z.; YILMAZ, E.; DUMAN, F.; KOÇAKAYA, M.; PEKDEMİR, S. Biomonitoring of Yozgat Çamlık National Park's Anthropogenic Microfiber Pollution: A Comprehensive Analysis of Lichen-Supported Air Quality Assessment and Microplastic Composition Insights. [s. l.], 13 maio 2024. DOI 10.21203/rs.3.rs-4163112/v1. Disponível em: <https://www.researchsquare.com/article/rs-4163112/v1>. Acesso em: 17 abr. 2025.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

KOSECKA, M.; BOURCERET, A.; PEREZ-LAMARQUE, B.; GUZOW-KRZEMIŃSKA, B.; KUKWA, M.; FLAKUS, A.; RODRIGUEZ-FLAKUS, P.; SELOSSE, M.-A. Factors shaping the assembly of lichen holobionts in a tropical lichen community. [s. l.], , seq. New Results, p. 2024.05.29.596524, 29 maio 2024. DOI 10.1101/2024.05.29.596524. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2024.05.29.596524v1>. Acesso em: 20 abr. 2025.

KRZTOŃ, W.; PUDAŚ, K.; POCIECHA, A.; STRZESAK, M.; KOSIBA, J.; WALUSIAK, E.; SZAREK-GWIAZDA, E.; WILK-WOŹNIAK, E. Microcystins affect zooplankton biodiversity in oxbow lakes. **Environmental Toxicology and Chemistry**, [s. l.], v. 36, n. 1, 2016. DOI 10.1002/etc.3519. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/etc.3519>. Acesso em: 20 abr. 2025.

KURMAYER, R. THE TOXIC CYANOBACTERIUM *NOSTOC* SP. STRAIN 152 PRODUCES HIGHEST AMOUNTS OF MICROCYSTIN AND NOSTOPHYCIN UNDER STRESS CONDITIONS¹. **Journal of Phycology**, [s. l.], v. 47, n. 1, 2011. DOI 10.1111/j.1529-8817.2010.00931.x. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2010.00931.x>. Acesso em: 20 abr. 2025.

LALLEY, J. S.; VILES, H.; COPEMAN, N.; COWLEY, C. The influence of multi-scale environmental variables on the distribution of terricolous lichens in a fog desert. **Journal of Vegetation Science**, [s. l.], v. 17, n. 6, 2006. DOI 10.1658/1100-9233(2006)17[831:tiomev]2.0.co;2. Disponível em: [https://doi.org/10.1658/1100-9233\(2006\)17\[831:tiomev\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1658/1100-9233(2006)17[831:tiomev]2.0.co;2). Acesso em: 20 abr. 2025.

LI, C.; CHNG, K. R.; BOEY, E. J. H.; NG, A. H. Q.; WILM, A.; NAGARAJAN, N. INC-Seq: accurate single molecule reads using nanopore sequencing. **GigaScience**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. s13742-016-0140-7, 1 dez. 2016. <https://doi.org/10.1186/s13742-016-0140-7>.

LI, K.; HAN, X.; SHAO, Y.; ZHANG, Y.; ZHAO, X.; JOHNSON, E. W.; LI, R. ANASFV: a workflow for ASFV whole genome sequencing, assembly, and evaluation. [s. l.], , seq. New Results, p. 2024.07.08.602471, 18 set. 2024. DOI 10.1101/2024.07.08.602471. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2024.07.08.602471v2>. Acesso em: 22 abr. 2025.

LI, T.; YIN, Y. Critical assessment of pan-genomic analysis of metagenome-assembled genomes. **Briefings in Bioinformatics**, [s. l.], v. 23, n. 6, 2022. DOI 10.1093/bib/bbac413. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/bib/bbac413>. Acesso em: 22 abr. 2025.

LIU, Q.; XIN, Y.-H.; LIU, H.-C.; ZHOU, Y.-G.; WEN, Y. *Nocardioides szechwanensis* sp. nov. and *Nocardioides psychrotolerans* sp. nov., isolated from a glacier. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, [s. l.], v. 63, n. Pt_1, 2013. DOI 10.1099/ijs.0.038091-0. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/ijs.0.038091-0>. Acesso em: 5 fev. 2025.

LOPPI, S.; ROBLIN, B.; PAOLI, L.; AHERNE, J. Accumulation of airborne microplastics in lichens from a landfill dumping site (Italy). **Scientific Reports**, [s. l.], v. 11, n. 1, 2021. DOI 10.1038/s41598-021-84251-4. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84251-4>. Acesso em: 17 abr. 2025.

MACDONALD, M. L.; LEE, K. H. EvalDNA: a machine learning-based tool for the comprehensive evaluation of mammalian genome assembly quality. **BMC Bioinformatics**, [s.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

[.], v. 22, n. 1, 2021. DOI 10.1186/s12859-021-04480-2. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12859-021-04480-2>. Acesso em: 22 abr. 2025.

MAKARA, C. N.; KUMMER, L.; MONEGO, M. L. C. D. Estudo do risco ambiental atrelado ao armazenamento de veículos sobre o solo. **Revista Ibero-Americana De Ciências Ambientais**, [s. l.], v. 11, n. 5, 2020. DOI 10.6008/cbpc2179-6858.2020.005.0004. Disponível em: <https://doi.org/10.6008/cbpc2179-6858.2020.005.0004>. Acesso em: 17 abr. 2025.

MATOS, P.; GEISER, L. H.; HARDMAN, A.; GLAVICH, D. A.; PINHO, P.; NUNES, A.; SOARES, A. M. V. M.; BRANQUINHO, C. Tracking global change using lichen diversity: towards a global-scale ecological indicator. **Methods in Ecology and Evolution**, [s. l.], v. 8, n. 7, 2017. DOI 10.1111/2041-210x.12712. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/2041-210x.12712>. Acesso em: 21 abr. 2025.

MATOS, P.; PINHO, P.; ARAGÓN, G.; MARTÍNEZ, I.; NUNES, A.; SOARES, A. M. V. M.; BRANQUINHO, C. Lichen traits responding to aridity. **Journal of Ecology**, [s. l.], v. 103, n. 2, 2015. DOI 10.1111/1365-2745.12364. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12364>. Acesso em: 20 abr. 2025.

MILLER, S.; NACCACHE, S. N.; SAMAYOA, E.; MESSACAR, K.; AREVALO, S.; FEDERMAN, S.; STRYKE, D.; PHAM, E.; FUNG, B.; BOLOSKY, W. J.; INGEBRIGTSEN, D.; LORIZIO, W.; PAFF, S. M.; LEAKE, J. A.; PESANO, R.; DEBIASI, R.; DOMINGUEZ, S.; CHIU, C. Y. Laboratory validation of a clinical metagenomic sequencing assay for pathogen detection in cerebrospinal fluid. **Genome Research**, [s. l.], v. 29, n. 5, p. 831–842, 5 jan. 2019. <https://doi.org/10.1101/gr.238170.118>.

MOTA FILHO, F. de O.; PEREIRA, E. C.; LIMA, E. S. de; SILVA, N. H. da; FIGUEIREDO, R. C. B. Influência de poluentes atmosféricos em Belo Jardim (PE) utilizando *Cladonia verticillaris* (líquen) como biomonitor. **Química Nova**, [s. l.], v. 30, p. 1072–1076, out. 2007. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000500004>.

MUNCHEL, S.; HOANG, Y.; ZHAO, Y.; COTTRELL, J.; KLOTZLE, B.; GODWIN, A. K.; KOESTLER, D.; BEYERLEIN, P.; FAN, J.-B.; BIBIKOVA, M.; CHIEN, J. Targeted or whole genome sequencing of formalin fixed tissue samples: potential applications in cancer genomics. **Oncotarget**, [s. l.], v. 6, n. 28, p. 25943–25961, 31 jul. 2015. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4671>.

MZE, N. P.; BEYE, M.; KACEL, I.; TOLA, R.; BASCO, L. K.; BOGREAUX, H.; COLSON, P.; FOURNIER, P.-E. Simultaneous SARS-CoV-2 Genome Sequencing of 384 Samples on an Illumina MiSeq Instrument through Protocol Optimization. **Genes**, [s. l.], v. 13, n. 9, 2022. DOI 10.3390/genes13091648. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/genes13091648>. Acesso em: 21 abr. 2025.

MZE, N. P.; KACEL, I.; BEYE, M.; TOLA, R.; SARR, M.; BASCO, L. K.; BOGREAUX, H.; COLSON, P.; FOURNIER, P.-E. High Throughput SARS-CoV-2 Genome Sequencing from 384 Respiratory Samples Using the Illumina COVIDSeq Protocol. **Genes**, [s. l.], v. 14, n. 3, 2023. DOI 10.3390/genes14030681. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/genes14030681>. Acesso em: 21 abr. 2025.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

NAVARRO-MUÑOZ, J. C.; SELEM-MOJICA, N.; MULLOWNEY, M. W.; KAUTSAR, S.; TRYON, J. H.; PARKINSON, E. I.; SANTOS, E. L. C. D. L.; YEONG, M.; CRUZ-MORALES, P.; ABUBUCKER, S.; ROETERS, A.; LOKHORST, W.; FERNANDEZ-GUERRA, A.; CAPPELINI, L. T. D.; THOMSON, R. J.; METCALF, W. W.; KELLEHER, N. L.; BARONA-GOMEZ, F.; MEDEMA, M. H. A computational framework for systematic exploration of biosynthetic diversity from large-scale genomic data. [s. l.], seq. New Results, p. 445270, 17 out. 2018. DOI 10.1101/445270. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/445270v1>. Acesso em: 22 abr. 2025.

NGUYEN, H. N.; NGUYEN, P.-T.; OTAKE, H.; NAGATA, A.; HIRANO, N.; IMANISHI-SHIMIZU, Y.; SHIMIZU, K. Biodiversity of Basidiomycetous Yeasts Associated with *Cladonia rei* Lichen in Japan, with a Description of *Microsporomyces cladoniophilus* sp. nov. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 9, n. 4, 2023. DOI 10.3390/jof9040473. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof9040473>. Acesso em: 18 nov. 2024.

NIELSEN, J.; PRIGENT, S.; GRIJSELS, S.; WORKMAN, M.; JI, B.; NIELSEN, J. Comparative Transcriptome Analysis Shows Conserved Metabolic Regulation during Production of Secondary Metabolites in Filamentous Fungi. **mSystems**, [s. l.], v. 4, n. 2, 2019. DOI 10.1128/msystems.00012-19. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/msystems.00012-19>. Acesso em: 22 abr. 2025.

NOWRUZI, B.; KHAVARI-NEJAD, R.-A.; SIVONEN, K.; KAZEMI, B.; NAJAFI, F.; NEJADSATTARI, T. Identification and toxigenic potential of a *Nostoc* sp. **Algae**, [s. l.], v. 27, n. 4, 2012. DOI 10.4490/algae.2012.27.4.303. Disponível em: <https://doi.org/10.4490/algae.2012.27.4.303>. Acesso em: 20 abr. 2025.

NOWRUZI, B.; PORZANI, S. J. Toxic compounds produced by cyanobacteria belonging to several species of the order Nostocales: A review. **Journal of Applied Toxicology**, [s. l.], v. 41, n. 4, 2020. DOI 10.1002/jat.4088. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jat.4088>. Acesso em: 20 abr. 2025.

NOYES, N. R.; WEINROTH, M. E.; PARKER, J. K.; DEAN, C. J.; LAKIN, S. M.; RAYMOND, R. A.; ROVIRA, P.; DOSTER, E.; ABDO, Z.; MARTIN, J. N.; JONES, K. L.; RUIZ, J.; BOUCHER, C. A.; BELK, K. E.; MORLEY, P. S. Enrichment allows identification of diverse, rare elements in metagenomic resistome-virulome sequencing. **Microbiome**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 142, 17 out. 2017. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0361-8>.

OCHOA-JIMÉNEZ, D.; CUEVA-AGILA, A.; PRIETO, M.; ARAGÓN, G.; BENÍTEZ, Á. CAMBIOS EN LA COMPOSICIÓN DE LÍQUENES EPÍFITOS RELACIONADOS CON LA CALIDAD DEL AIRE EN LA CIUDAD DE LOJA (Ecuador). **Caldasia**, [s. l.], v. 37, n. 2, 2015. DOI 10.15446/caldasia.v37n2.53867. Disponível em: <https://doi.org/10.15446/caldasia.v37n2.53867>. Acesso em: 18 nov. 2024.

ORYNBAYEV, M.; NISSANOVA, R. K.; ARGIMBAYEVA, T. U.; ZAKARYA, K.; MYRZAKHMETOVA, B.; MELISBEK, A.; BARMAK, S. M.; ISSABEK, A.; NAKHANOV, A.; SHEVTSOV, A.; KOZHABERGENOV, N.; SULTANKULOVA, K. Genomic Sequence of the New Attenuated Vaccine Strain Neethling-RIBSP of the Lumpy Skin Disease Virus. **Microbiology Resource Announcements**, [s. l.], v. 9, n. 26, 2020. DOI 10.1128/mra.00318-20. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/mra.00318-20>. Acesso em: 22 abr. 2025.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

PAOLI, L.; GRASSI, A.; VANNINI, A.; MASLAŇÁKOVÁ, I.; BILIOVÁ, I.; BAČKOR, M.; CORSINI, A.; LOPPI, S. Epiphytic lichens as indicators of environmental quality around a municipal solid waste landfill (C Italy). **Waste Management**, [s. l.], v. 42, 2015. DOI 10.1016/j.wasman.2015.04.033. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.04.033>. Acesso em: 21 abr. 2025.

PARRELLO, B.; BUTLER, R.; CHLENSKI, P.; PUSCH, G. D.; OVERBEEK, R. Supervised extraction of near-complete genomes from metagenomic samples: A new service in PATRIC. **Plos One**, [s. l.], v. 16, n. 4, 2021. DOI 10.1371/journal.pone.0250092. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0250092>. Acesso em: 22 abr. 2025.

PEDERSEN, B. S.; COLLINS, R. L.; TALKOWSKI, M. E.; QUINLAN, A. R. Indexcov: fast coverage quality control for whole-genome sequencing. [s. l.], , seq. New Results, p. 148296, 9 jun. 2017. DOI 10.1101/148296. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/148296v1>. Acesso em: 22 abr. 2025.

PORADA, P.; WEBER, B.; ELBERT, W.; PÖSCHL, U.; KLEIDON, A. Estimating global carbon uptake by lichens and bryophytes with a process-based model. **Biogeosciences**, [s. l.], v. 10, n. 11, 2013. DOI 10.5194/bg-10-6989-2013. Disponível em: <https://doi.org/10.5194/bg-10-6989-2013>. Acesso em: 20 abr. 2025.

POTTS, M. Nostoc. In: WHITTON, B. A.; POTTS, M. (orgs.). **The Ecology of Cyanobacteria: Their Diversity in Time and Space**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2002. p. 465–504. DOI 10.1007/0-306-46855-7_17. Disponível em: https://doi.org/10.1007/0-306-46855-7_17. Acesso em: 26 nov. 2024.

PRIETO, M.; MONTANÉ, N.; ARAGÓN, G.; MARTÍNEZ, I.; RODRÍGUEZ-ARRIBAS, C. Cyanobacterial Variability in Lichen Cephalodia. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 9, n. 8, p. 826, 5 ago. 2023. <https://doi.org/10.3390/jof9080826>.

RAD, I. A. New Era in Diagnosis of Kidney Disorders via NGS. **Journal of Clinical Nephrology and Therapeutics**, [s. l.], v. 1, n. 1, 2017. DOI 10.35841/clinical-nephrology.1.1.1-2. Disponível em: <https://www.alliedacademies.org/abstract/>. Acesso em: 7 jan. 2025.

RALEY, C.; MUNROE, D.; JONES, K.; TSAI, Y.-C.; GUO, Y.; TRAN, B.; GOWDA, S.; TROYER, J. L.; SOPPET, D. R.; STEWART, C.; STEPHENS, R.; CHEN, J.; SKELLY, T. F.; HEINER, C.; KORLACH, J.; NISSLEY, D. Preparation of next-generation DNA sequencing libraries from ultra-low amounts of input DNA: Application to single-molecule, real-time (SMRT) sequencing on the Pacific Biosciences RS II. [s. l.], , seq. New Results, p. 003566, 25 mar. 2014. DOI 10.1101/003566. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/003566v1>. Acesso em: 7 jan. 2025.

RAMDANI, M.; ADJIRI, F.; LOGRADA, T. Relationship between lichen diversity and air quality in urban region in Bourdj Bou Arriridj, Algeria. **Biodiversitas Journal of Biological Diversity**, [s. l.], v. 20, n. 8, 2019. DOI 10.13057/biodiv/d200831. Disponível em: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200831>. Acesso em: 21 abr. 2025.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

RAMÍREZ, Á.; VALENCIA, N. Liqueenobiota saxícola del nevado Pastoruri (Áncash, Perú). **Revista Peruana de Biología**, [s. l.], v. 27, n. 4, p. 543–552, 30 nov. 2020. <https://doi.org/10.15381/rpb.v27i4.19205>.

RESENDE, J. A.; DINIZ, C. G.; SILVA, V. L. da; OTÊNIO, M. H.; BONNAFOUS, A.; ARCURI, P. B.; GODON, J. J. Dynamics of antibiotic resistance genes and presence of putative pathogens during ambient temperature anaerobic digestion. **Journal of Applied Microbiology**, [s. l.], v. 117, n. 6, 2014. DOI 10.1111/jam.12653. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jam.12653>. Acesso em: 22 abr. 2025.

REUTER, J.; SPACEK, D. V.; SNYDER, M. High-Throughput Sequencing Technologies. **Molecular Cell**, [s. l.], v. 58, n. 4, 2015. DOI 10.1016/j.molcel.2015.05.004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.05.004>. Acesso em: 6 fev. 2025.

RHOADS, A.; AU, K. F. PacBio Sequencing and its Applications. **Genomics, Proteomics & Bioinformatics**, [s. l.], v. 13, n. 5, p. 278–289, 1 out. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2015.08.002>.

RISTIĆ, S.; KOSANIĆ, M.; RANKOVIĆ, B.; STAMENKOVIĆ, S. Lichens as biological indicators of air quality in the urban area of Kursumlija (Southern Serbia). **Kragujevac Journal of Science**, [s. l.], n. 39, 2017. DOI 10.5937/kgjsci1739165r. Disponível em: <https://doi.org/10.5937/kgjsci1739165r>. Acesso em: 21 abr. 2025.

ROGEL, R. T. C.; CALERO, F. J. M.; TORRE, M. C. L.; PONCE, J. N. F.; MATONNIER, E. L.-M. Aislamiento de bacterias con potencial biorremediador y análisis de comunidades bacterianas de zona impactada por derrame de petróleo en Condorcanqui (Amazonas, Perú). **Revista de Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research**, [s. l.], v. 22, n. 3, p. 215–225, 4 set. 2020. <https://doi.org/10.18271/ria.2020.656>.

RONG, H.-T.; LIU, D. Identification of differentially expressed miRNAs associated with thermal injury in epidermal stem cells based on RNA-sequencing. **Experimental and Therapeutic Medicine**, [s. l.], 2020. DOI 10.3892/etm.2020.8448. Disponível em: <https://doi.org/10.3892/etm.2020.8448>. Acesso em: 6 fev. 2025.

ROSA, J. P. M. de la; WARKE, P.; SMITH, B. Lichen-induced biomodification of calcareous surfaces: Bioprotection versus biodeterioration. **Progress in Physical Geography: Earth and Environment**, [s. l.], v. 37, n. 3, 2012. DOI 10.1177/0309133312467660. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0309133312467660>. Acesso em: 21 abr. 2025.

ROUMPEKA, D. D.; WALLACE, R. J.; ESCALETES, F.; FOTHERINGHAM, I.; WATSON, M. A Review of Bioinformatics Tools for Bio-Prospecting from Metagenomic Sequence Data. **Frontiers in Genetics**, [s. l.], v. 8, 6 mar. 2017. DOI 10.3389/fgene.2017.00023. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/genetics/articles/10.3389/fgene.2017.00023/full>. Acesso em: 7 jan. 2025.

SAHA, G. C. Integrative Analysis of Multi-Omics Data with Deep Learning: Challenges and Opportunities in Bioinformatics. **Tuijin Jishu/Journal of Propulsion Technology**, [s. l.], v. 44, n. 3, 2023. DOI 10.52783/tjjpt.v44.i3.488. Disponível em: <https://doi.org/10.52783/tjjpt.v44.i3.488>. Acesso em: 22 abr. 2025.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

SALTYKOVA, A.; BUYTAERS, F. E.; DENAYER, S.; VERHAEGEN, B.; PIÉRARD, D.; ROOSENS, N. H. C.; MARCHAL, K.; KEERSMAECKER, S. C. J. D. Strain-Level Metagenomic Data Analysis of Enriched In Vitro and In Silico Spiked Food Samples: Paving the Way towards a Culture-Free Foodborne Outbreak Investigation Using STEC as a Case Study. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 21, n. 16, 2020. DOI 10.3390/ijms21165688. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms21165688>. Acesso em: 21 abr. 2025.

SANTOS, V. M. dos. Origem biogeográfica da liquenobiota foliícola dos brejos de altitude do Nordeste do Brasil. 15 dez. 2015. [masterThesis]. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/24292>. Acesso em: 26 nov. 2024. (Accepted: 2018-04-13T20:22:05Z).

SIGIT, D. V.; ZAIN, A.; MURISA, H.; KAMILA, K. S.; RAMADHANTY, N. A.; MAHAQI, R. A.; RISTANTO, R. H. Biodiversity of epiphytic lichen at the bodogol nature conservation education center, sukabumi, west java. **JPBIO (Jurnal Pendidikan Biologi)**, [s. l.], v. 7, n. 2, p. 137–145, 29 nov. 2022. <https://doi.org/10.31932/jpbio.v7i2.1669>.

SILVA, A. S. da. Líquens como bioindicadores de poluição atmosférica na cidade de Caravelas – Ba, Brasil. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**, [s. l.], v. 14, n. 07, p. 75–86, 8 fev. 2019. .

SIMS, D. B.; HUDSON, A. C.; PARK, J. Y.; HODGE, V. F.; PORTER, H.; SPAULDING, W. G. Buellia dispersa (Lichens) Used as Bio-Indicators for Air Pollution Transport: A Case Study within the Las Vegas Valley, Nevada (USA). **Environments**, [s. l.], v. 4, n. 4, 2017. DOI 10.3390/environments4040094. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/environments4040094>. Acesso em: 21 abr. 2025.

SINGH, G. Linking Lichen Metabolites to Genes: Emerging Concepts and Lessons from Molecular Biology and Metagenomics. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 160, fev. 2023. <https://doi.org/10.3390/jof9020160>.

SINICHKIN, E. A.; DIMITRIEV, A. V. Ecological and substrate characteristics of lichenoflora of the State Nature Reserve «Zavolzhsy» (Chuvash Republic). **Samara Journal of Science**, [s. l.], v. 8, n. 4, 2019. DOI 10.17816/snv201984114. Disponível em: <https://doi.org/10.17816/snv201984114>. Acesso em: 21 abr. 2025.

SKAER, H. Morphogenesis: FGF branches out. **Current biology: CB**, [s. l.], v. 7, n. 4, p. R238-241, 1 abr. 1997. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(06\)00110-2](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(06)00110-2).

SKINNIDER, M. A.; MERWIN, N. J.; JOHNSTON, C. W.; MAGARVEY, N. A. PRISM 3: expanded prediction of natural product chemical structures from microbial genomes. **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 45, n. W1, 2017. DOI 10.1093/nar/gkx320. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gkx320>. Acesso em: 22 abr. 2025.

SMITH, H.; GRANDE, F. D.; MUGGIA, L.; KEULER, R.; DIVAKAR, P. K.; GREWE, F.; SCHMITT, I.; LUMBSCH, H. T.; LEAVITT, S. D. Metagenomic data reveal diverse fungal and algal communities associated with the lichen symbiosis. [s. l.], , seq. New Results, p. 2020.03.04.966853, 5 mar. 2020. DOI 10.1101/2020.03.04.966853. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.03.04.966853v1>. Acesso em: 20 abr. 2025.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

SONINA, A. V.; ANDROSOVA, V. I. Coastal Lichens. **Handbook of Halophytes**, [s. l.], 2020. DOI 10.1007/978-3-030-17854-3_34-1. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-030-17854-3_34-1. Acesso em: 20 abr. 2025.

SPRIBILLE, T.; THOR, G.; BUNNELL, F. L.; GOWARD, T.; BJÖRK, C. R. Lichens on dead wood: species-substrate relationships in the epiphytic lichen floras of the Pacific Northwest and Fennoscandia. **Ecography**, [s. l.], v. 31, n. 6, 2008. DOI 10.1111/j.1600-0587.2008.05503.x. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2008.05503.x>. Acesso em: 21 abr. 2025.

STOJANOWSKA, A.; RYBAK, J.; BOŻYM, M.; OLSZOWSKI, T.; BIHAŁOWICZ, J. S. Spider Webs and Lichens as Bioindicators of Heavy Metals: A Comparison Study in the Vicinity of a Copper Smelter (Poland). **Sustainability**, [s. l.], v. 12, n. 19, 2020. DOI 10.3390/su12198066. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/su12198066>. Acesso em: 21 abr. 2025.

STUDHOLME, D. J. Genome Update. Let the consumer beware: *Streptomyces* genome sequence quality. **Microbial Biotechnology**, [s. l.], v. 9, n. 1, 2016. DOI 10.1111/1751-7915.12344. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12344>. Acesso em: 22 abr. 2025.

TAGIRDZHANOVA, G.; SAARY, P.; CAMERON, E.; GARBER, A.; DÍAZ ESCANDÓN, D.; GOYETTE, S.; NOGERIUS, V. T.; PASSO, A.; MAYRHOFER, H.; HOLIEN, H.; TØNSBERG, T.; STEIN, L.; FINN, R.; SPRIBILLE, T. Evidence for a core set of microbial lichen symbionts from a global survey of metagenome. [s. l.], 2023. DOI 10.1101/2023.02.02.524463. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/2023.02.02.524463>. Acesso em: 22 maio 2024.

THAKUR, M.; SHRIKHANDIA, S. P.; KUMAR, V. A Lichens-Mediated Mechanism for Environmental Biodeterioration. **Air, Soil and Water Research**, [s. l.], v. 15, 2022. DOI 10.1177/11786221221131004. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/11786221221131004>. Acesso em: 21 abr. 2025.

TSUKAMOTO, Y.; KAKEGAWA, T. Mineralogical and Genomic Constraints on the Origin of Microbial Mn Oxide Formation in Complexed Microbial Community at the Terrestrial Hot Spring. **Life**, [s. l.], v. 12, n. 6, 2022. DOI 10.3390/life12060816. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/life12060816>. Acesso em: 22 abr. 2025.

VALDIVIA, D. APPLICATION OF LICHENS IN MINING IN HIGH ANDEAN AREAS OF PERU. [s. l.], 2023. .

VALDIVIA, D.; IANNAcone, J. LÍQUENES COMO MEDIO DE EVALUACIÓN AMBIENTAL – APLICACIONES DEL INDICE DE PUREZA ATMOSFERICA (IPA). **Biotempo**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 101–108, 8 mar. 2022. <https://doi.org/10.31381/biotempo.v19i1.4797>.

VITORINO, R. Transforming Clinical Research: The Power of High-Throughput Omics Integration. **Proteomes**, [s. l.], v. 12, n. 3, 2024. DOI 10.3390/proteomes12030025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/proteomes12030025>. Acesso em: 22 abr. 2025.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

WAGNER, S. C.; MCDONALD, D.; WATSON, T. C.; TAYLOR, J.; SOWARDS, A. B. The Lichen-GIS Project, Teaching Students How to Use Bioindicator Species to Assess Environmental Quality. **Journal of Microbiology & Biology Education**, [s. l.], v. 10, n. 1, 2009. DOI 10.1128/jmbe.v10.94. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/jmbe.v10.94>. Acesso em: 20 abr. 2025.

WALKER, A. S.; CLARDY, J. A Machine Learning Bioinformatics Method to Predict Biological Activity from Biosynthetic Gene Clusters. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [s. l.], v. 61, n. 6, 2021. DOI 10.1021/acs.jcim.0c01304. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.0c01304>. Acesso em: 22 abr. 2025.

WANG, D.; HONG, S.-K. Genetic Variation of Rice Populations Estimated Using nrDNA ITS Region Sequence. **Korean Journal of Plant Resources**, [s. l.], v. 27, n. 3, p. 249–255, 2014. <https://doi.org/10.7732/kjpr.2014.27.3.249>.

WANG, S.; XU, Z.; ZHANG, C.; YU, R.; JIANG, J.; WANG, C.; QU, C. High-Throughput Sequencing-Based Identification of Serum Exosomal Differential miRNAs in High-Grade Glioma and Intracranial Lymphoma. **BioMed Research International**, [s. l.], v. 2020, n. 1, 2020. DOI 10.1155/2020/2102645. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2020/2102645>. Acesso em: 6 fev. 2025.

WANG, Y.; LIU, J.; WANG, Z.; ZHANG, M.; ZHANG, Y. The Research Progress of Single-Molecule Sequencing and Its Significance in Nucleic Acid Metrology. **Biosensors**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 4, 25 dez. 2024. <https://doi.org/10.3390/bios15010004>.

WANNICKE, N.; HERRMANN, A. J.; GEHRINGER, M. M. Atmospheric CO₂ availability induces varying responses in net photosynthesis, toxin production and N₂ fixation rates in heterocystous filamentous Cyanobacteria (Nostoc and Nodularia). **Aquatic Sciences**, [s. l.], v. 83, n. 2, 2021. DOI 10.1007/s00027-021-00788-6. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00027-021-00788-6>. Acesso em: 20 abr. 2025.

WEBER, T.; BLIN, K.; DUDELA, S.; KRUG, D.; KIM, H. U.; BRUCCOLERI, R. E.; LEE, S. Y.; FISCHBACH, M. A.; MÜLLER, R.; WOHLLEBEN, W.; BREITLING, R.; TAKANO, E.; MEDEMA, M. H. antiSMASH 3.0—a comprehensive resource for the genome mining of biosynthetic gene clusters. **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 43, n. W1, 2015. DOI 10.1093/nar/gkv437. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gkv437>. Acesso em: 5 fev. 2025.

WEERAPHAN, T.; SOMPHONG, A.; POENGUNGNOEN, V.; BUARUANG, K.; HARUNARI, E.; IGARASHI, Y.; TANASUPAWAT, S.; PHONGSOPITANUN, W. Bacterial microbiome in tropical lichens and the effect of the isolation method on culturable lichen-derived actinobacteria. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 5483, 4 abr. 2023. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-32759-2>.

WU, Y.-W.; SIMMONS, B. A.; SINGER, S. W. MaxBin 2.0: an automated binning algorithm to recover genomes from multiple metagenomic datasets. **Bioinformatics**, [s. l.], v. 32, n. 4, p. 605–607, 1 fev. 2016. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv638>.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

XIE, X.; GUAN, J.; ZHOU, S. Similarity evaluation of DNA sequences based on frequent patterns and entropy. **BMC Genomics**, [s. l.], v. 16, n. 3, p. S5, 29 jan. 2015. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-16-S3-S5>.

XU, M.; LIU, Y.; MÖLLER, E.; LAGRECA, S.; MOYA, P.; WANG, X.; TIMDAL, E.; DE BOER, H.; BARRENO, E.; WANG, L.; THÜS, H.; ANDRÉSSON, Ó.; MAGNÚSSON, K. P.; ÓLAFSDÓTTIR, E. S.; HEIÐMARSSON, S. Mycobiont-specific primers facilitate the amplification of mitochondrial small subunit ribosomal DNA: a focus on the lichenized fungal genus *Melanelia* (Ascomycota, Parmeliaceae) in Iceland. **MycoKeys**, [s. l.], v. 96, p. 57–75, 21 mar. 2023. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.96.100037>.

YANG, J.; WOO, J.-J.; SESAL, C.; GÖKALSIN, B.; AÇIKGÖZ, B.; BAŞARAN, T. I.; KURTULUŞ, G.; HUR, J.-S. Cross-border comparison of mycobiomes in *Parmelia* and *Peltigera* lichens from Turkey and South Korea. [s. l.], 9 nov. 2023. DOI 10.21203/rs.3.rs-3566204/v1. Disponível em: <https://www.researchsquare.com/article/rs-3566204/v1>. Acesso em: 2 abr. 2025.

YANG, J.; WOO, J.-J.; SESAL, C.; GÖKALSIN, B.; ELDEM, V.; AÇIKGÖZ, B.; BAŞARAN, T. I.; KURTULUŞ, G.; HUR, J.-S. Continental scale comparison of mycobiomes in *Parmelia* and *Peltigera* lichens from Turkey and South Korea. **BMC Microbiology**, [s. l.], v. 24, n. 1, p. 243, 4 jul. 2024. <https://doi.org/10.1186/s12866-024-03388-0>.

ZHANG, L.; CHEN, F.; ZENG, Z.; XU, M.; SUN, F.; YANG, L.; BI, X.; LIN, Y.; GAO, Y.; HAO, H.; YI, W.; LI, M.; XIE, Y. Advances in Metagenomics and Its Application in Environmental Microorganisms. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 12, 17 dez. 2021. DOI 10.3389/fmicb.2021.766364. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2021.766364/full>. Acesso em: 7 jan. 2025.

ZHANG, T.; WEI, X.-L.; ZHANG, Y.-Q.; LIU, H.-Y.; YU, L.-Y. Diversity and distribution of lichen-associated fungi in the Ny-Ålesund Region (Svalbard, High Arctic) as revealed by 454 pyrosequencing. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 5, p. 14850, 14 out. 2015. <https://doi.org/10.1038/srep14850>.

ZHU, X.; ANGELIDAKI, I.; ZHANG, T.; JU, F. Metagenomics Disentangles Differential Resistome Traits and Risks in Full-Scale Anaerobic Digestion Plants under Ambient, Mesophilic, and Thermophilic Conditions. **ACS Environmental Au**, [s. l.], v. 5, n. 2, 2024. DOI 10.1021/acsenvironau.4c00071. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsenvironau.4c00071>. Acesso em: 22 abr. 2025.

ZULFIQAR, U.; HAIDER, F. U.; MAQSOOD, M. F.; MOHY-UD-DIN, W.; SHABAAN, M.; AHMAD, M.; KALEEM, M.; ISHFAQ, M.; ASLAM, Z.; SHAHZAD, B. Recent Advances in Microbial-Assisted Remediation of Cadmium-Contaminated Soil. **Plants**, [s. l.], v. 12, n. 17, 2023. DOI 10.3390/plants12173147. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants12173147>. Acesso em: 22 abr. 2025.

HIPÓTESE



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

A Amazônia maranhense abriga uma diversidade ainda pouco explorada de microrganismos liquênicos cujas comunidades simbióticas que refletem a qualidade ambiental dos ecossistemas onde estão inseridas.

OBJETIVOS

3.1. Geral

Analisar a diversidade morfoestrutural e funcional de líquens em municípios da Amazônia maranhense

3.2. Específicos

- 3.2.1. Identificar morfologicamente as espécies de líquens coletadas (Artigo 01);
- 3.2.2. Caracterizar taxonomicamente a comunidade liquênica base em uma abordagem de taxonomia integrativa (Artigo 01)
- 3.2.3. Caracterizar um metagenoma de líquen amazônico (Artigo 02).
- 3.2.4. Analisar o genoma de um fotobionte associado a um cianolíquen da Amazônia maranhense (Artigo 02)



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

➤ CAPÍTULO 01

ARTIGO 01 - Caracterização morfológica de ecossistemas liquênicos da Amazônia maranhense

- **Situação:** a ser submetido
- **Revista:** Ciência e Natura ISSN 2179-460X
- **Qualis (2017-2020):** A3
- DOI: 10.5902/2179460X
- **Interdisciplinary Journal**



Caracterização Morfológica de Ecossistemas Liquênicos da Amazônia Maranhense

Morphological Characterization of Lichenic Ecosystems in the Maranhão Amazon

José Isaias Pimentel Barros^I, Anna Letícia Silva da Costa^I, Emanuelle Costa Ramos^I, Weneson Victor Diniz Sarges^I, Nathália Silva Batista^I, Amalia Maria Pimentel Santos^I, Marcos Davi de Sousa Campos^I, Hivana Patricia Melo Barbosa Dall'Agnol^I, Iane Paula do Rego Dias^{II}, Tânia Keiko Shishido Joutsen^{III}, Jouko Rikkinen^{III}, Leonardo Teixeira Dall'Agnol^{II}

^I Universidade Federal do Maranhão

^{II} Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão

^{III} University of Helsinki

RESUMO

Líquens são organismos perenes amplamente distribuídos, encontrados em diversos habitats como rochas, troncos e solo. Apresentam talos variados, como crostosos, esquamulosos, gelatinosos, dimórficos e foliosos, adaptados a diferentes ambientes. Devido à sua sensibilidade a poluentes, são considerados bioindicadores da qualidade ambiental. Este estudo analisou a diversidade morfológica dos líquens na Amazônia maranhense, com coletas realizadas nos municípios de Morros e Anajatuba. Foi obtido 66 amostras georreferenciadas, representando diferentes níveis de impacto ambiental. A identificação foi feita no laboratório da UFMA, com uso de estereomicroscópio, testes químicos (K e C) e chaves dicotômicas, com apoio de especialistas da Universidade de Helsinque e UEMASul. Foi identificado nove gêneros e 11 famílias, com predominância das formas crostosas e foliosas. Gêneros como *Coenogonium*, *Leptogium*, *Cladonia*, *Coccocarpia* e *Cryptothecia* destacaram-se por sua abundância e variação morfológica. A família *Parmeliaceae* apresentou reações positivas aos reagentes K, C e KC. A diversidade registrada representa novas ocorrências para o estado do Maranhão e contribui para o conhecimento dos da Amazônia maranhense. A elaboração de uma chave taxonômica até os níveis de família e gênero fornece subsídios importantes para futuros estudos ecológicos e de conservação na região.

Palavras-chave: Amazônia; Cianolíquens; Ecossistemas liquênicos.



ABSTRACT

Lichens are widely distributed perennial organisms, found in different habitats such as rocks, logs, and soil. They have a variety of thalli, such as crustose, squamulose, gelatinous, dimorphic, and foliose, adapted to different environments. Due to their sensitivity to pollutants, they are considered bioindicators of environmental quality. This study analyzed the morphological diversity of lichens in the Maranhão Amazon, with samples collected in the municipalities of Morros and Anajatuba. A total of 66 georeferenced samples were obtained, representing different levels of environmental impact. Identification was carried out in the UFMA laboratory using a stereomicroscope, chemical tests (K and C), and dichotomous keys, with the support of specialists from the University of Helsinki and UEMASul. Nine genera and 11 families were identified, with crustose and foliose forms predominating. Genera such as *Coenogonium*, *Leptogium*, *Cladonia*, *Coccocarpia*, and *Cryptothecia* stood out for their abundance and morphological variation. The *Parmeliaceae* family showed positive reactions to the K, C, and KC reagents. The recorded diversity represents new occurrences for the state of Maranhão and contributes to knowledge of the Amazonian lichenobiota. The development of a taxonomic key down to family and genus level provides important input for future ecological and conservation studies in the region.

Keywords Amazonia; Cyanoliquens; Lichen ecosystems.

1 INTRODUÇÃO

Os líquens são organismos simbióticos formados pela interação entre fungos e algas ou cianobactérias, com uma morfologia distinta que os torna altamente adaptáveis a uma variedade de ambientes. A principal característica morfológica dos líquens é o talo, que pode apresentar diferentes formas, como crostosos, foliosos, fruticosos, dimórficos e gelatinosos, dependendo da disposição e da estrutura das camadas celulares e organismos que o compõem (Raposo Junior; Ré-Poppi; Honda, 2007; Almeida; Almeida; Aguiar, 2017; Lucheta *et al.*, 2018). Essa diversidade morfológica reflete adaptações específicas às condições ambientais, como umidade, luz e temperatura, fatores que influenciam a capacidade de absorção de água e nutrientes (Almeida; Almeida; Aguiar, 2017).



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

No Brasil, os líquens são um componente essencial da biodiversidade, especialmente nos ecossistemas da Amazônia, Mata Atlântica e Cerrado. O país apresenta uma flora de líquens notavelmente rica e endêmica, com cerca de 2.874 espécies registradas, tendo uma abundância significativa composta por líquens crostosos (Käffer, Márcia *et al.*, 2015). A Mata Atlântica, por exemplo, abriga mais de 800 espécies de líquens, incluindo táxons exclusivos que não ocorrem em outras regiões (Cáceres; Aptroot; Lücking, 2017).

A morfologia dos líquens está intimamente ligada à sua ecologia, além de ser essencial para o seu papel como bioindicadores de qualidade ambiental. Estudos demonstram que a cobertura e a diversidade de espécies de líquens podem ser utilizadas para monitorar o estresse ambiental, uma vez que esses organismos são sensíveis a poluentes atmosféricos e a alterações microclimáticas (Käffer, Márcia Isabel, 2011; Leonardo *et al.*, 2014; Galhardi *et al.*, 2017; Lucheta *et al.*, 2018). A presença de líquens em áreas urbanas, por exemplo, pode indicar a qualidade do ar, já que esses organismos acumulam metais pesados e outros poluentes (Filho, Fernando de Oliveira Mota *et al.*, 2007; Soares *et al.*, 2014; Barbosa, Renan do Nascimento *et al.*, 2022).

A morfologia do talo é fundamental para a retenção de água e a absorção de nutrientes, fatores essenciais para a sobrevivência dos líquens em diversos habitats. Em ambientes áridos, líquens com talos mais espessos tendem a ser mais comuns, pois são mais eficientes na retenção de umidade (Raposo Junior; Ré-Poppi; Honda, 2007). Substâncias químicas como xantonas e fenóis presentes em algumas espécies não apenas ajudam na defesa contra herbívoros, mas também possuem propriedades antimicrobianas e antioxidantes, favorecendo a sobrevivência em ambientes competitivos (Carlos *et al.*, 2009; Micheletti *et al.*, 2009).



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

De Vries; Watling (2008) destacam que a morfologia da superfície de líquens foliosos pode aumentar a retenção de água, permitindo que esses organismos prosperem em condições semiáridas. Essa adaptação morfológica é crucial para garantir a hidratação e viabilizar a fotossíntese, processos vitais para o crescimento dos líquens. Além disso, as características estruturais do talo influenciam a associação com parceiros algais específicos (De Vries; Watling, 2008). Moya *et al.*, (2020) sugerem que os traços morfológicos podem determinar os nichos ecológicos ocupados pelos líquens, destacando a importância evolutiva da estrutura do talo (Moya *et al.*, 2020).

No entanto, atividades humanas como a destruição de habitats, a expansão agrícola e as mudanças climáticas têm representado sérias ameaças à diversidade de líquens no Brasil. Estudos indicam que distúrbios ambientais, como incêndios e a conversão de terras, podem causar uma redução significativa nas populações de líquens, especialmente em ecossistemas sensíveis como a Amazônia e a Mata Atlântica (Mistry; Berardi, 2005; Belguidoum; Lograda; Ramdani, 2021). Além disso, Osyczka *et al.*, (2018) demonstraram que a estrutura do líquen *Cladonia* P.Browne, 1756. pode ser alterada pela contaminação por metais pesados, evidenciando a capacidade desse gênero de acumular tais poluentes (Osyczka *et al.*, 2018). Assim, torna-se cada vez mais urgente a formulação de estratégias de conservação que considerem a proteção da biodiversidade líquênica, uma vez que muitas espécies ainda são pouco estudadas e sub-representadas em avaliações de conservação (Andrade, Bianca O. *et al.*, 2023).

Os líquens desempenham um papel essencial na biodiversidade brasileira, exercendo funções ecológicas fundamentais e apresentando um potencial significativo para o monitoramento ambiental e aplicações



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

biotecnológicas. No entanto, essas associações simbióticas enfrentam diversas ameaças, o que reforça a necessidade de pesquisas e estratégias de conservação. A morfologia dos líquens, moldada por adaptações evolutivas e pela interação com fatores ambientais, contribui para sua ampla distribuição geográfica e sua eficácia como indicadores da saúde dos ecossistemas. Diante disso, o presente estudo tem como objetivo analisar a diversidade morfológica dos líquens na região amazônica do Maranhão.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

A área de estudo compreendeu os municípios de Anajatuba (Lat/Lon: -3.26500, -44.62038) e Morros (Lat/Lon: -2.90236, -44.02365), situados na Amazônia maranhense. Os locais de coleta foram selecionados de forma a representar diferentes graus de impacto ambiental.

O município de Anajatuba situa-se na região norte do Estado do Maranhão, integrando a baixada ocidental maranhense, uma microrregião pertencente à Amazônia brasileira (Ferreira et al., 2018). Sua área territorial é de 940,489 km² (IBGE, 2023), e o clima predominante é tropical semiúmido, com temperaturas médias anuais entre 26°C e 28°C. A média anual de precipitação varia de 1.200 a 1.500 mm, concentrando-se principalmente no período chuvoso, que vai de dezembro a maio (Mendes *et al.*, 2001; Ferreira *et al.*, 2018) (Figura 1).

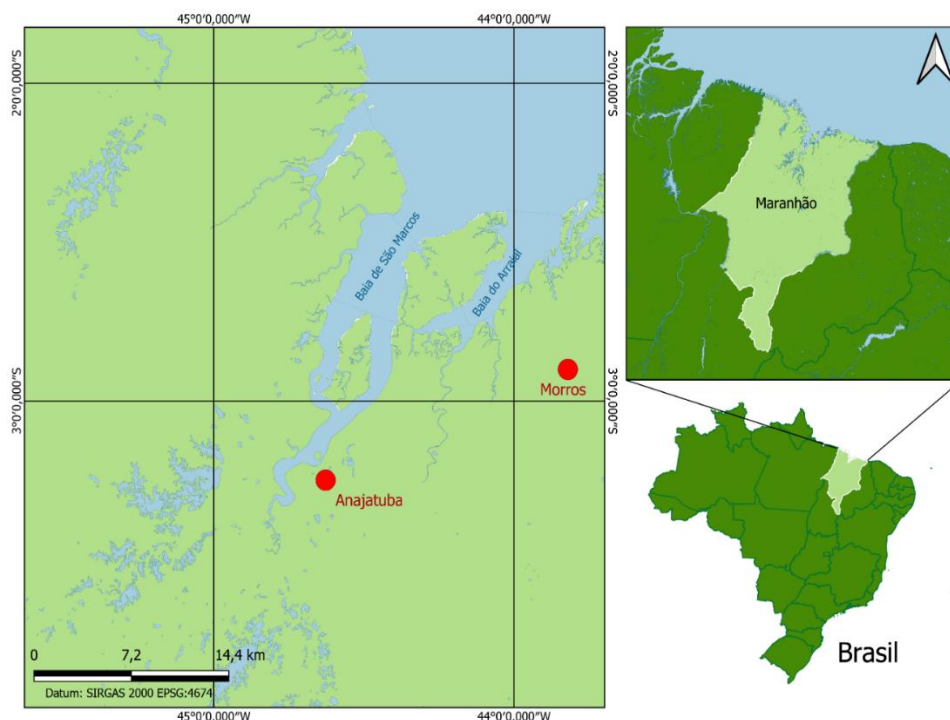
O município de Morros, localizado no estado do Maranhão, Brasil, situa-se em uma zona de transição entre Amazônia, Cerrado e a Mata de Cocais (Gaspar et al., 2023; Françoso et al., 2019). Com um total de 1.712,121 km² de extensão territorial (IBGE, 2024). A ecologia da região é de grande relevância, especialmente em relação à sua flora e fauna. O município de Morros integra

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

majoritariamente o bioma Cerrado, considerado um hotspot de biodiversidade, abrigando uma ampla variedade de espécies e ecossistemas, com destaque para a ocorrência de espécies endêmicas exclusivas do Brasil (Vieira; Oliveira, 2020; Sousa *et al.*, 2022).

O clima da região é tropical úmido (AW'), caracterizado por duas estações bem definidas: uma chuvosa, que se estende de janeiro a junho, com médias mensais superiores a 272 mm, e outra seca, compreendendo os meses de julho a dezembro. Durante o período seco, a precipitação pluviométrica varia entre 4,9 mm e 90,2 mm, enquanto na estação chuvosa os valores oscilaram de 131,5 mm a 402,9 mm, resultando em uma média anual de aproximadamente 1.837 mm (Filho, Francisco Lages Correia, 2011) (Figura 1).

Figura 1 – Mapa do Brasil destacando o Maranhão e a localização dos municípios de Anajatuba e Morros.



Fonte: Source: Google maps.Platform: QGIS (2024)



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

A coleta das amostras foi realizada em pontos georreferenciados, utilizando GPS para garantir a precisão da localização. A metodologia variou conforme o substrato e o tipo de talo dos líquens. Para líquens corticícolos e aqueles encontrados no solo, foi utilizado ferramentas como faca, estilete e espátulas; já para os fixados em rochas, empregaram-se martelo e espátula de metal (Fink, 1905; Helms, 2003). Nos casos de baixa aderência ao substrato, como em alguns líquens foliosos e na maioria dos fruticulosos, a coleta foi feita manualmente. Em campo, colocou-se as amostras em sacos de papel estéreis ou sacos plásticos herméticos, devidamente etiquetados com informações da coleta. Posteriormente, transportadas para o Laboratório de Genética e Biologia Molecular (LabGeM) do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Maranhão (DeBio - UFMA). No laboratório, uma alíquota de cada amostra foi transferida para tubos de Eppendorf de 1,5 mL e congelada a - 20°C.

A identificação dos líquens foi realizada com base na metodologia clássica da taxonomia liquenológica, empregando chaves dicotômicas específicas e literatura especializada (Fink, 1905; Dirig, 1980). O processo contou com a colaboração de pesquisadores da Universidade de Helsinque, na Finlândia, e da Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão (UEMASul), garantindo maior precisão na identificação taxonômica.

As amostras coletadas passaram por análise em microscópio estereoscópico (40×), o que permitiu a observação detalhada das estruturas morfológicas. Em seguida, foi realizado testes químicos com hidróxido de potássio (teste K) e hipoclorito de sódio (teste C), com o objetivo de distinguir entre espécimes com base nas reações químicas observadas (Orange; White; James, 2010a).



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

A identificação dos líquens foi realizada utilizando chaves de identificação, com base em referências da literatura especializada, conforme descrito por (Barreno; Ortega, 2003) e (Rikkinen, 2019). Ao final, foi elaborada uma chave de identificação para os espécimes coletados, classificados até os níveis de família e gênero.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a coleta realizada nos municípios da Amazônia Maranhense, foram coletadas 66 amostras em dois municípios da região: 48 no município de Morros e 18 em Anajatuba, em diferentes pontos de cada local.

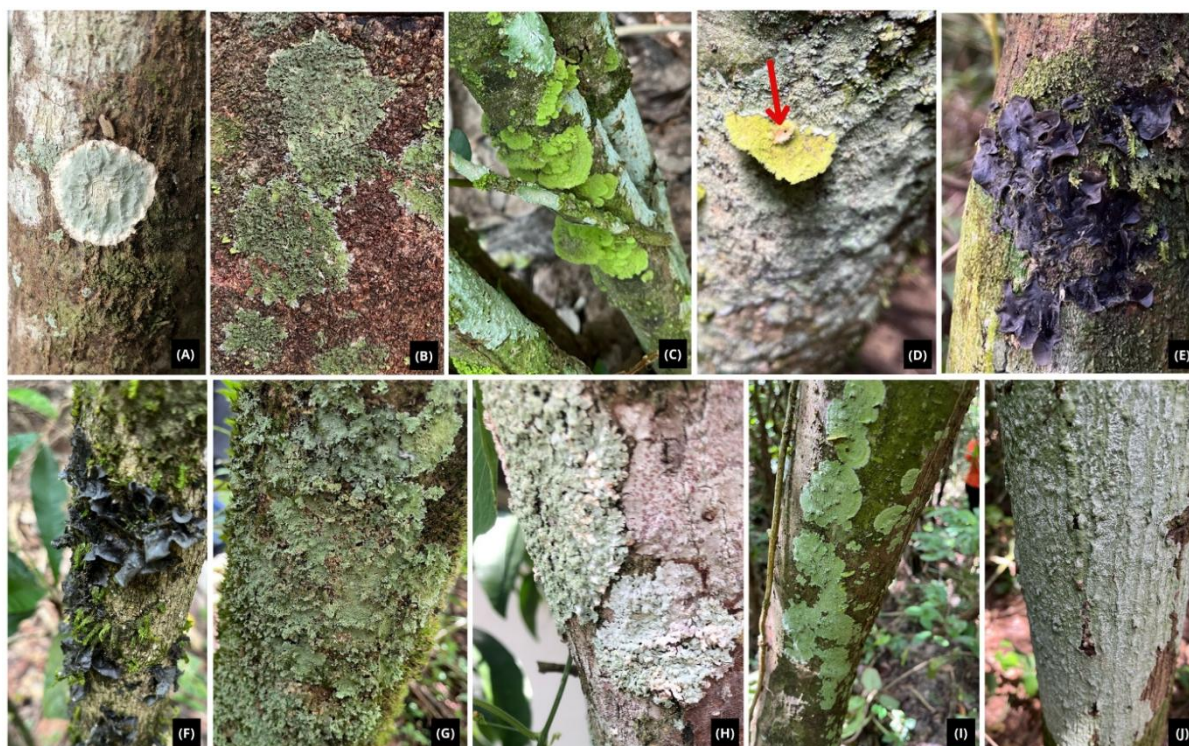
A análise morfológica dos líquens coletados revelou uma notável diversidade nas áreas estudadas. Durante o levantamento, foi possível identificar diversas formas e estruturas, refletindo a adaptabilidade e a complexidade desses organismos em diferentes ambientes. Foram encontrados em variados substratos, como rochas, cascas de árvores e madeira. Com maior evidência em locais com condições favoráveis ao seu desenvolvimento, como aqueles com maior incidência de luz e umidade. A morfologia variou de acordo com os espécimes e o ambiente em que foram observados, com predominância das formas crostosas, foliosas e filamentosas.

A região de coleta em Anajatuba apresentava um clima quente e bastante úmido. A maioria dos líquens coletados foi encontrada no interior da mata, uma área que se destaca por seu relevo rochoso e vegetação preservada. Essa combinação de fatores ambientais contribui significativamente para a diversidade dos líquens, pois fornece um habitat propício para o seu crescimento e desenvolvimento.

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Os espécimes coletados foram identificados morfologicamente como pertencentes aos gêneros *Cryptothecia* Stirt. 1876, *Coenogonium* Ehrenberg, 1820, *Leptogium* (Ach.) Gray 1821, *Physciella* Essl, *Heterodermia* Trevis. 1868 e *Phyllopsora* Müll. Arg. 1894., além da coleta de um líquen da Família Graphidaceae. No entanto, algumas amostras não puderam ser identificadas apenas pela morfologia, sendo necessárias análises mais detalhadas de suas estruturas. Além disso, observou-se a presença de espécimes liquenicas crescendo em associação com outros líquens, conforme ilustrado na figura 2d (seta). Todas as imagens macroscópicas dos espécimes identificados coletadas no município de Anajatuba estão presentes na figura 2.

Figura 2 - Diversidade de líquens coletados durante a primeira coleta no município de Anajatuba.



Fonte: Autores, Acervo GB3 (2025)

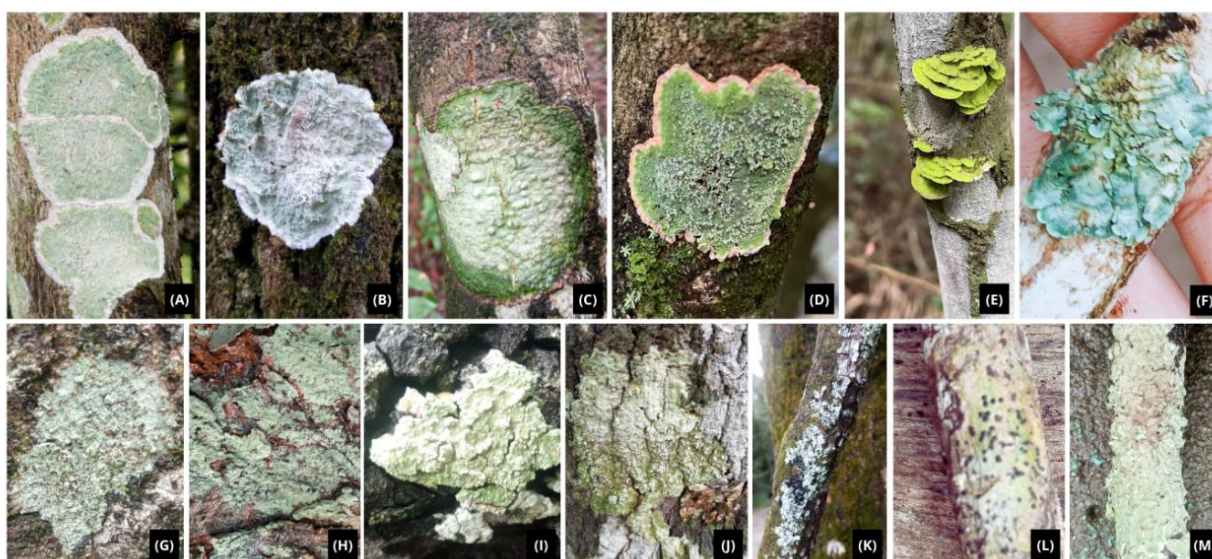
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Legenda: A e B: *Cryptothecia* Stirt. 1876; C-D: *Coenogonium* Ehrenberg, 1820; E e F: *Leptogium* (Ach.) Gray 1821; G: *Physciella* Essl; H: *Heterodermia* Trevis., 1868 I: *Phyllopsora* Müll. Arg. 1894. J: Graphidaceae.

A primeira coleta realizada no município de Morros resultou na obtenção de 15 amostras de líquens de diferentes substratos, com predominância de líquens crostosos e foliosos. Durante o levantamento, foi observado diversas formas e estruturas, refletindo a adaptabilidade e complexidade desses organismos em diferentes ambientes. Os líquens foram coletados de rochas, cascas de árvores e madeira. O terreno de coleta era predominantemente arenoso, com vegetação densa e bem preservada.

Foi possível identificar a presença dos gêneros *Cryptothecia* Stirt. 1876, *Coenogonium* Ehrenberg, 1820, *Coccocarpia* Pers. 1827 e *Lepraria* Ach. 1803. Além disso, e líquens pertencentes à família Caliciaceae e Parmeliaceae. Todas as imagens macroscópicas dos espécimes identificados oriundos da primeira coleta no município de Morros estão apresentadas na figura 3.

Figura 3 - Diversidade de líquens observados durante a primeira coleta no município de Morros.





PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Fonte: Autores, Acervo GB3 (2025)

Legenda: A-D: *Cryptothecia* Stirt. 1876; E: *Coenogonium* Ehrenberg, 1820; F: *Coccocarpia* Pers. 1827; G - J: *Lepraria* Ach. 1803; K: Physciaceae; L: Caliciaceae; M: Parmeliaceae.

Na segunda coleta realizada no município de Morros, foi obtido 33 amostras de líquens de diferentes substratos. Essas amostras foram coletadas tanto em regiões abertas quanto em áreas de mata densa. As regiões abertas apresentavam temperaturas elevadas e baixa umidade, enquanto as áreas de mata fechada possuíam umidade relativa mais alta.

As principais amostras coletadas pertencem aos gêneros *Coenogonium* Ehrenberg, 1820, *Cladonia* P.Browne, 1756, *Leptogium* (Ach.) Gray 1821 e *Coccocarpia* Pers. 1827. Além disso, foi identificado espécimes da família Parmeliaceae. Durante a coleta, também foi registrada uma amostra contendo líquens distintos, incluindo um espécime do gênero *Leptogium* (Ach.) Gray 1821 (seta vermelha) associado a outra a um espécime da família Physciaceae (seta preta); (Figura 4n).

O gênero *Coenogonium* Ehrenberg, 1820 apresentou grande abundância na região, com um número significativo de amostras coletadas, exibindo diferentes morfologias e coloração. Já o gênero *Cladonia* P.Browne, 1756 também mostrou uma distribuição expressiva, sendo encontrado tanto em áreas com alta incidência solar quanto em matas fechadas. As amostras desse gênero apresentaram variações morfológicas com espécimes fruticosas e dismórficas, incluindo diferentes padrões de ramificação, e foram coletadas em troncos de árvores e solo arenoso.

O gênero *Leptogium* (Ach.) Gray 1821 também foi amplamente coletado, com espécies apresentando crescimento considerável, sendo um importante indicador de preservação ambiental na região. O gênero *Coccocarpia* Pers. 1827 e as espécies das famílias Physciaceae e Parmeliaceae também

mostraram uma abundância significativa, sendo coletadas em diferentes áreas e frequentemente observadas. Todas as imagens macroscópicas das amostras coletadas na segunda coleta no município de Morros estão apresentadas na figura 4.

Figura 4 - Diversidade de líquens identificados durante a segunda coleta no município de Morros.



Fonte: Autores, Acervo GB3 (2025)

Legenda A-E: líquens dos gêneros *Coenogonium* Ehrenberg, 1820; F-G: *Cladonia* P.Browne, 1756 (Fruticoso); H-J: *Cladonia* P.Browne, 1756 (Dimórfica); K-M: *Leptogium* (Ach.) Gray 1821; N: *Leptogium* (Ach.) Gray 1821 (seta vermelha) e Phyciaceae (seta preta); O e P: *Coccocarpia* Pers. 1827; Q e R: *Parmotrema* A. Massal. 1860; S: Parmeliaceae.

A análise morfológica das amostras revelou uma notável diversidade de líquens nas áreas estudadas. As observações indicaram a presença de diferentes formas e estruturas, refletindo a adaptabilidade e a complexidade



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

desses organismos em variados ambientes. Os líquens foram encontrados sobre distintos substratos, como rochas, cascas de árvores e madeira, sendo mais abundantes em locais com maior incidência de luz, fator que favorece seu desenvolvimento.

Foi registrada a ocorrência de representantes de 11 famílias e nove gêneros nos municípios de Anajatuba e Morros. A diversidade morfológica e ecológica dos espécimes coletados, que variou entre talos crustosos, foliosos, gelatinosos, fruticosos, difórmicos e filamentosos, com predomínio do hábito corticícola. A ocorrência de certos táxons em ambos os locais ou exclusivamente em um deles também permite inferências sobre a distribuição geográfica e preferências ecológicas desses grupos (Tabela 2)..

Tabela 2 - Distribuição taxonômica, morfológica e ecológica de líquens em Anajatuba e Morros

Táxon	Local de coleta		Tipo	Hábito
	Anajatuba	Morros		
Arthoniaceae	X	X		
<i>Cryptothecia</i> Stirt. (1876)	X	X	Crostoso	Corticícola
Cladoniaceae				
<i>Cladonia</i> Browne, 1756		X	Fruticoso	Terrícola
<i>Cladonia</i> Browne, 1756		X	Dimórfico	Terrícola e corticícola
Coccocarpiaceae		X		
<i>Coccocarpia</i> Pers. (1827)		X	Folioso	Corticícola
Coenogoniaceae	X	X		
<i>Coenogonium</i> Ehrenb. (1820)	X	X	Filamentoso	Corticícola
Collemataceae	X	X		
<i>Leptogium</i> (Ach.) Gray. 1821	X	X	Folioso	Corticícola
<i>Leptogium</i> (Ach.) Gray. 1821		X	Gelatinoso	Corticícola
Parmeliaceae Zenker	X	X		Corticícola
<i>Parmotrema</i> A.Massal. (1860)		X	Folioso	Corticícola
Physciaceae	X	X		



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

<i>Heterodermia</i> Trevis. (1868)	X		Folioso	Corticícola
Stereocaulaceae		X		
<i>Lepraria</i> Acharius (1803)		X	Crostoso	Corticícola
Ramalinaceae	X			
<i>Phyllopsora</i> Müll.Arg., 1894	X		Folioso	Corticícola
Graphidaceae	X		Crostoso	Corticícola
Caliciaceae		X	Crostoso	Corticícola

Fonte: Barros, J.I.P (2025)

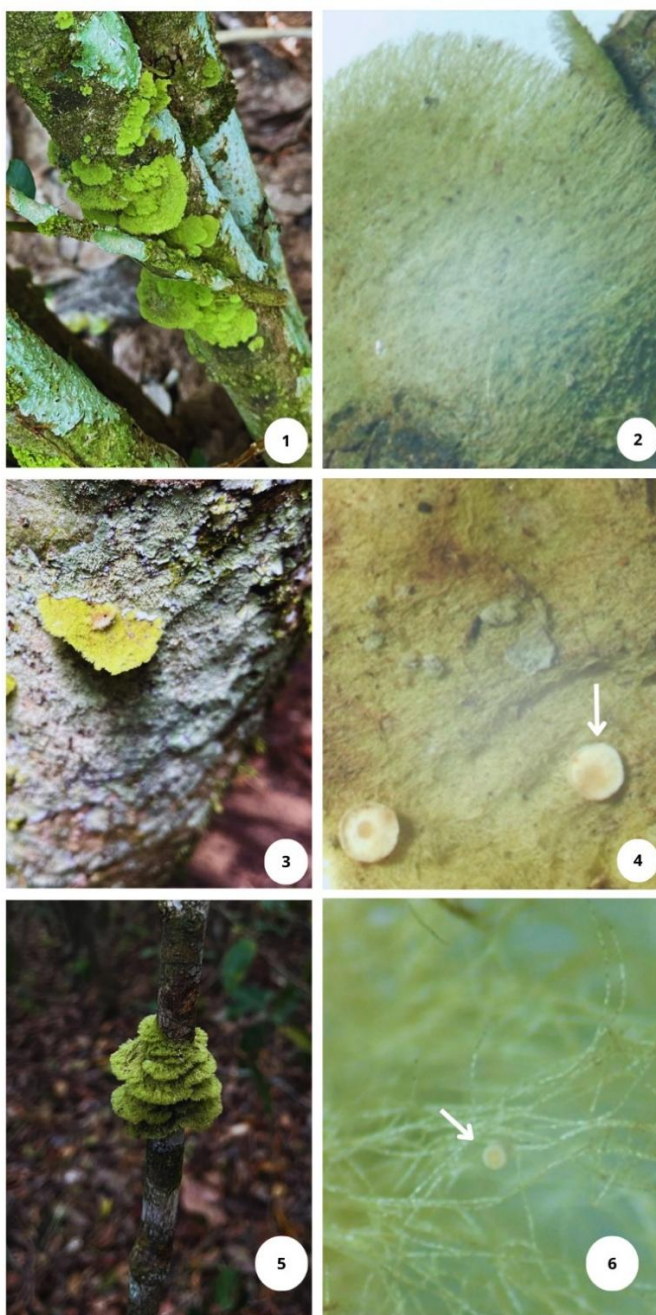
Complementarmente, a análise microscópica constitui uma etapa fundamental para a caracterização e identificação dos líquens, permitindo a observação de estruturas morfológicas e anatômicas não visíveis a olho nu. Características como a organização das camadas do talo, os tipos de hifas e as estruturas reprodutivas são essenciais para a correta classificação taxonômica dos espécimes. Nesta seção, serão discutidos os resultados obtidos a partir da análise microscópica das amostras coletadas, realizada com auxílio de microscópio estereoscópico (40×), com ênfase nas principais características relevantes para a identificação em nível de família e gênero.

Para melhor visualização e compreensão das estruturas morfológicas, considerando a quantidade de amostras coletadas, optou-se por numerar as figuras dos espécimes de forma contínua, de 1 a 46, apresentando imagens macroscópicas e microscópicas correspondentes. Essas imagens são descritas e interpretadas a seguir.

As de figuras 1 a 6 ilustram exemplares do gênero *Coenogonium* Ehrenberg, 1820. Os talos apresentaram morfologia filamentosos a escamosa, com coloração verde a amarelada, aderidos ao substrato (Figuras 1 e 2). Na figura 4 observou-se a formação de apotécios (seta) bem desenvolvidos, estruturas reprodutivas do gênero, que se apresentam como discos claros ou levemente pigmentados sobre o talo.

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Na figura 6, é possível observar a disposição dos filamentos do espécime, que se apresenta de forma mais espaçada em comparação com os demais descritos anteriormente. Nota-se também a presença de pequenos apotécios (seta) distribuídos ao longo de alguns desses filamentos, indicando atividade reprodutiva localizada.



Fonte: Autores, Acervo GB3 (2025)



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Legenda Figuras 1–6. Exemplares do gênero *Coenogonium* Ehrenberg, 1820. 1–2. Talos escamosos a filamentosos, verdes a amarelados, aderidos ao substrato. 3. Crescimento amarelado sobre o tronco. 4. Apotécios bem desenvolvidos sobre o talo (seta). 5. Formação densa de talos ao redor do tronco. 6. Filamentos mais espaçados com pequenos apotécios distribuídos ao longo da estrutura (seta).

O gênero *Coenogonium* Ehrenberg, 1820 apresenta características morfológicas distintas que desempenham um papel fundamental em sua classificação taxonômica, interações ecológicas e estratégias de conservação. A morfologia desses líquens pode ser compreendida a partir de aspectos como a estrutura do talo, forma de crescimento, estratégias reprodutivas e interações com o ambiente (Aptroot; Cáceres, 2018; Hurtado *et al.*, 2020).

O talo de *Coenogonium* Ehrenberg, 1820 é tipicamente filamentoso, apresentando forte aderência ao substrato e frequentemente aparência estratificada. Essa configuração estrutural favorece a retenção de água e a absorção eficiente de nutrientes, fatores cruciais para a sobrevivência da espécie em diversos tipos de habitat. Conforme demonstrado por (Hurtado *et al.*, 2020), a capacidade de retenção hídrica do gênero *Coenogonium* Ehrenberg, 1820, influencia diretamente suas respostas fisiológicas. A morfologia do talo, portanto, afeta significativamente as taxas de hidratação e o desempenho fisiológico, sendo essencial para a sobrevivência desses organismos em ambientes sujeitos a variações microclimáticas (Hurtado *et al.*, 2020).

Na figura 7, observa-se um talo firmemente aderido ao substrato, com coloração esverdeada e borda esbranquiçada, com talo crustoso, compatíveis com o gênero *Cryptothecia* Stirt. 1876. Em maior aumento (Figura 8), nota-se uma superfície homogênea, com fissuras sutis e textura contínua.

A figura 9 também ilustra um líquen do gênero *Cryptothecia* Stirt. 1876, com formação mais extensa de talos esverdeados, com margens irregulares e

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

transição gradual sub o substrato. A ampliação (Figura 10) revela leve ondulação e pequenas depressões, possivelmente associadas à adaptação ao microambiente do tronco.

Já a figura 11 destaca um talo crustoso do mesmo gênero anterior, predominantemente branco, com áreas esverdeadas ao centro e bordas brancas bem definidas. A imagem ampliada (Figura 12) evidencia uma textura mais lisa branca-amarelada, com ausência de apotécios, isídios ou sorédios.





PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Fonte: Autores, Acervo GB3 (2025)

Legenda: Figuras 7–12. Exemplares do gênero *Cryptothecia* Stirt. 1876. 7–8. Talo firmemente aderido ao substrato, esverdeado com borda esbranquiçada e superfície homogênea com fissuras sutis. 9–10. Formação extensa de talos esverdeados com margens irregulares e transição gradual ao substrato; superfície levemente ondulada com pequenas depressões. 11–12. Talo crustoso branco com centro esverdeado e bordas bem definidas; textura lisa branco-amarelada, sem presença de apotécios, isídios ou sorédios.

A morfologia de *Cryptothecia* Stirt. 1876, um gênero de líquen da família Arthoniaceae, é caracterizada principalmente por seu talo crostoso. Essa morfologia é tipicamente descrita como semelhante a uma crosta, formando uma camada densa e firmemente aderida ao substrato. Estudos observacionais destacam que as espécies de *Cryptothecia* Stirt. 1876 exibem uma variedade de colorações, muitas vezes em tons de verde ou branco, o que é consistente com suas adaptações ecológicas e seu papel ambiental como bioindicadores de poluição e qualidade do habitat (Sampe *et al.*, 2020; Ramadhani; Salsabila; Mumpuni, 2022).

Um dos aspectos notáveis de *Cryptothecia* Stirt. 1876 é sua capacidade de prosperar em diversas condições ambientais, indicando sua robustez em comunidades de líquens crustosos, especialmente em florestas tropicais e subtropicais (Xue; Cai; Zhang, 2024). Estudos morfológicos documentaram várias espécies, como *Cryptothecia striata* G.Thor, que demonstram diversidade morfológica significativa; por exemplo, *Cryptothecia austrocoreana* J.J.Woo, Lőkös, Farkas & Hur é caracterizada por seu talo heterômero e estruturas ascomatais distintas (Woo *et al.*, 2017).

Nas figuras 13 a 18, observa-se formações liquênicas distintas, indicando elevada diversidade morfológica dos cianolíquens do gênero *Leptogium* (Ach.) Gray 1821. Na figura 13, destaca-se um talo folioso, com lóbulos bem desenvolvidos e coloração escura, aderido ao tronco de uma



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

árvore e associado a musgos epífitos. A análise em detalhe (Figura 14) revela a presença de lóbulos arredondados e margens enroladas, características que podem ser associadas a líquens da família Collemataceae, como *Leptogium* (Ach.) Gray 1821 (Kitaura, 2012).

A figura 15 também ilustra um cianolíquen do gênero *Leptogium* (Ach.) Gray 1821 com uma cobertura densa do tronco por líquens de coloração predominantemente marrom-escuro, exibindo isídios e lóbulos desenvolvidos. A ampliação mostrada na figura 16 evidencia estruturas discóides alaranjadas, compatíveis com apotécios (seta), indicando atividade reprodutiva sexual do fungo liquenizado.

Na figura 17, observa-se um talo de aspecto mais rugoso e escurecido, recobrendo parcialmente o tronco de uma árvore, sugerindo a ocorrência de líquens do tipo folioso gelatinoso, encontrado em um ambiente com alta umidade. A figura 18, correspondente à ampliação do talo da figura 17, revela uma superfície isídios granulares e irregular, reforçando a hipótese de que se trata de um líquen gelatinoso do gênero *Leptogium* (Ach.) Gray 1821 (Kitaura, 2012).



Fonte: Autores, Acervo GB3 (2025)

Legenda: Figuras 13–18. Cianoliquens do gênero *Leptogium* (Ach.) Gray 1821. 13–14. Talo folioso escuro com lóbulos bem desenvolvidos, associados a musgos epífitos; detalhe mostra lóbulos arredondados e margens enroladas. 15–16. Talo marrom-escuro cobrindo densamente o tronco, com presença de isídios; apotécios discóides alaranjados (seta) evidenciam reprodução sexual. 17–18. Talo rugoso e escurecido, típico de líquens gelatinosos; detalhe revela superfície com isídios granulares e textura irregular.

Leptogium (Ach.) Gray 1821, pertencente à família Collemataceae dentro do Ascomycota, exibe uma morfologia distinta caracterizada principalmente por sua estrutura de talo e características reprodutivas. O talo das espécies de *Leptogium* (Ach.) Gray 1821 é tipicamente folioso ou gelatinoso, muitas vezes exibindo variabilidade na textura e espessura. Muitas espécies

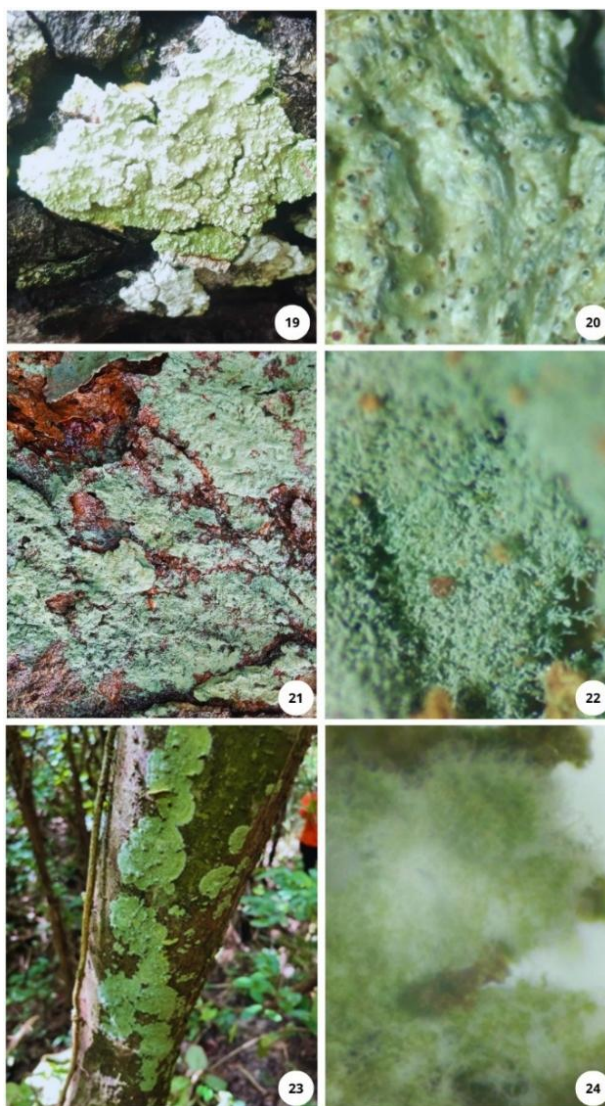


PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

apresentam uma aparência lobada ou folhoso, que pode variar significativamente entre diferentes contextos ambientais ou espécies, indicando notável plasticidade morfológica. Por exemplo, espécies de *Leptogium* (Ach.) Gray 1821 como *Leptogium cochleatum* (Dicks.) P.M.Jørg. & P.James e *Leptogium sessile* Vainio foram relatadas como possuindo talos estriados relativamente finos, características adaptativas a habitats específicos, como florestas montanhosas na África Oriental (Kaasalainen *et al.*, 2021, 2023). As espécies que formam talos gelatinosos que podem variar significativamente em textura e cor, geralmente exibindo tons de verde a marrom-escuro, o que pode ser atribuído à sua clorofila e simbiontes cianobacterianos associados (Grzesiak *et al.*, 2021).

As figuras 19 e 20 mostram um líquen do gênero *Lepraria* Ach. 1803,, com talo crustoso, encontrados em cascas de árvores. Apresentam coloração esbranquiçada a esverdeada, ausência de córtex e de estruturas reprodutivas visíveis. As figuras 21 e 22 também representam um líquen do mesmo gênero, observados em cascas secas. Os talos possuem coloração esverdeada, aspecto pulverulento, abundância de sorédios e ausência de estruturas diferenciadas visíveis.

Já as figuras 23 e 24 retratam um líquen do gênero *Phyllopsora* Müll. Arg. 1894, coletados em troncos de árvores. Apresentam talos foliosos de pequeno porte, com lóbulos arredondados, coloração verde-clara e aderência direta ao substrato, além da presença de sorédios

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Fonte: Autores, Acervo GB3 (2025)

Legenda: Figuras 19–24. 19–20. Líquens do gênero *Lepraria* Ach. 1803, com talo crustoso esbranquiçado a esverdeado, sem córtex ou estruturas reprodutivas visíveis. 21–22. *Lepraria* Ach. 1803 com talo pulverulento, esverdeado, abundante em sorédios, sem estruturas diferenciadas. 23–24. *Phyllopsora* Müll. Arg. 1894, com talo folioso pequeno, lóbulos arredondados, sorédios e coloração verde-clara.

Os líquens do gênero *Lepraria* Ach. 1803, conhecidos como líquens leprosos, apresentam morfologia distintiva, caracterizada por talos estéreis, de aparência granular ou em forma de crosta, compostos predominantemente por sorédios. Essas características refletem sua adaptação a diversos ambientes e condições ecológicas (Matwiejuk, 2017;



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Pfeffer *et al.*, 2023). As espécies de *Lepraria* Ach. 1803 não desenvolvem estruturas reprodutivas sexuais e se reproduzem exclusivamente de forma clonal, o que constitui um aspecto relevante para o estudo de sua diversidade e ecologia (Pfeffer *et al.*, 2023; Doellman *et al.*, 2024).

O gênero *Physciella* Essl. 1986 é caracterizado por características morfológicas distintas, como estruturas esquamulosas, que desempenham um papel fundamental na diferenciação entre espécies. Um exemplo notável é *Phyllopsora magna* Kaasalainen, Rikkinen & A.R.Schmidt, reconhecida por suas escamas de grande porte que conferem ao líquen uma aparência foliosa, sendo essa uma característica importante em estudos taxonômicos e ecológicos (Timdal, 2008; Kaasalainen *et al.*, 2016).

As figuras 25 e 26 ilustram o líquen *Cladonia* P.Browne, 1756, um espécime de morfologia fruticosa, com ramificações tridimensionais evidentes. Observa-se na figura 26, em detalhe, a estrutura ramificada do talo. As figuras 27 e 28 correspondem à espécie *Cladonia* P.Browne, 1756, um espécime de morfologia dimórfica, apresentando talo primário pouco desenvolvido e estruturas reprodutivas mais destacadas. A figura 28, em microscopia, evidencia a textura e morfologia diferenciada da superfície do talo secundário, com indícios de dimorfismo estrutural.

As figuras 29 e 30 retratam um cianolíquen do gênero *Coccocarpia* Pers. 1827, com talo folioso e coloração cinza-claro. A figura 29 mostra a disposição do talo sobre o substrato, com lóbulos organizados de forma concêntrica e margem bem definida. Já a figura 30, sob aumento, permite visualizar a textura lisa e contínua da superfície do líquen.

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE



Fonte: Autores, Acervo GB3 (2025)

Legenda: Figuras 25–30. 25–26. *Cladonia* P.Browne, 1756 com morfologia fruticosa e ramificações tridimensionais. 27–28. *Cladonia* P.Browne, 1756 dimórfica, com talo primário reduzido e estruturas reprodutivas proeminentes. 29–30. *Coccocarpia* Pers. 1827, cianolíquen de talo folioso cinza-claro, com lóbulos organizados e superfície lisa.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

O talo das espécies de *Cladonia stellaris* (Opiz) Pouzar & Vězda podem ser classificados em diferentes formas morfológicas, como folhosas e fruticosas, com base em sua configuração e estrutura interna. A camada medular atua como componente essencial para as trocas gasosas, graças à sua organização de hifas frouxamente compactadas, facilitando a absorção de água e nutrientes (Vijayakumar *et al.*, 2021). Em *Cladonia stellaris* (Opiz) Pouzar & Vězda e outros líquens que formam esteiras, essa estrutura densa, não apenas oferece habitat, mas também influencia a dinâmica do nitrogênio no ecossistema, impactando diretamente o crescimento das plantas ao redor (Kytöviita; Crittenden, 2007; Nystuen *et al.*, 2019).

As espécies do gênero *Cladonia* P.Browne, 1756 também exibem dimorfismo morfológico, iniciando com um talo primário, geralmente em forma de escamas, que evolui para talos secundários mais eretos, conhecidos como podetium (Osyczka *et al.*, 2017; Alonso *et al.*, 2021). A complexidade estrutural do talo em *Cladonia* P.Browne, 1756, incluindo variações na superfície e nas propriedades hidrofílicas, influencia sua interação com a água e, por consequência, afeta a dinâmica das comunidades microbianas (Wedin *et al.*, 2015; Vijayakumar *et al.*, 2021).

O líquen *Coccocarpia* Pers. 1827 apresenta uma morfologia singular, resultado da complexa interação entre o micobionte fúngico e seus fotobiontes cianobacterianos. Morfologicamente, os membros do gênero *Coccocarpia* Pers. 1827 costumam exibir talos crustosos ou escamulosos, dependendo do nicho ecológico e das adaptações ao ambiente. Essas variações morfológicas são fortemente influenciadas pelos fotobiontes associados, os quais podem se modificar em resposta a diferentes condições ambientais (Lücking *et al.*, 2009, 2014). São geralmente encontrados em



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

ambientes onde suas adaptações levam à retenção de umidade (Ruiz *et al.*, 2023). Os talos dessas espécies tendem a exibir textura predominantemente uniforme e podem apresentar estruturas especializadas para a absorção eficiente de nutrientes a partir do substrato. Além disso, *Coccocarpia* Pers. 1827 associa-se comumente a fotobiontes cianobacterianos, os quais contribuem significativamente para a ciclagem de nutrientes, especialmente nitrogênio (Lücking *et al.*, 2009).

As figuras 31 e 32 correspondem ao gênero *Physciella* Essl. Este líquen apresenta talo folhoso, com coloração variando do esbranquiçado ao verde-claro, lóbulos estreitos e presença de sorédios na superfície. A imagem microscópica (figura 32) revela apotécios (seta) com disco escuro, margem levemente pálida e sorédios associados.

Nas figuras 33 e 34, observa-se um líquen atribuído ao gênero *Heterodermia* Trevis., 1868. O espécime exibe talo folhoso de coloração verde-clara (Figura 33), com lóbulos finos e alongados, além de sorédios marginais (seta) visíveis na figura 34.

Já nas figuras 35 e 36, o espécime apresenta talo folhoso de coloração cinza-clara, com margens lobadas e superfície lisa e contínua. Os lóbulos são arredondados e sobrepostos, com sorédios evidentes (seta) (Figura 36). Essas características são compatíveis com espécies do gênero *Parmotrema* A. Massal. 1860, especialmente devido à presença de sorédios bem desenvolvidos (Benatti, 2014).



Fonte: Autores, Acervo GB3 (2025)

Legenda: Figuras 31–36. 31–32. *Physciella* Essl. 1986, líquen folioso com coloração esbranquiçada a verde-clara, lóbulos estreitos, sorédios e apotécios com disco escuro (seta). 33–34. *Heterodermia* Trevis., 1868, com lóbulos finos, talo verde-claro e sorédios marginais (seta). 35–36. *Parmotrema* A. Massal. 1860, talo folioso cinza-claro, com lóbulos arredondados e sorédios bem desenvolvidos (seta).

A morfologia estrutural de *Physciella* Essl. 1986 é caracterizada principalmente por seu talo folioso, semelhante a uma folha, típico entre os



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

membros da família. Esse talo pode apresentar diversas formas, como lobadas ou achatadas, que favorecem a fotossíntese e a retenção de umidade, fatores cruciais para a sobrevivência em diferentes habitats (Kosecka *et al.*, 2024b). De acordo com Liu; Hur, (2019), o córtex inferior das espécies do gênero *Physciella* Essl é prosoplectenquimatoso, o que as distingue de *Phaeophyscia*, cujas espécies apresentam córtex inferior paraplectenquimatoso (Liu, Dong; Hur, 2019). Essa diferença anatômica é relevante do ponto de vista taxonômico, tendo contribuído para a reclassificação de determinadas espécies em *Physciella* Essl (Liu, Dong; Hur, 2019).

Heterodermia Trevis., 1868 é um gênero morfologicamente diverso da família Physciaceae, reunindo várias espécies com adaptações estruturais e ecológicas distintas. Sua morfologia é marcada por talos tipicamente foliosos, bem adaptados a ambientes tropicais e subtropicais (Watts; Raynor; Manzitto-Tripp, 2025). Estudos recentes destacam diversas características evolutivas no gênero, como córtex superiores prosoplectenquimatosos e esporos espessos, refletindo sua plasticidade adaptativa (Moberg, 2011; Watts; Raynor; Manzitto-Tripp, 2025). Em regiões como a América do Sul, que abriga alta diversidade de *Heterodermia* Trevis., 1868, observam-se variações marcantes em aspectos morfológicos como coloração, espessura e estrutura anatômica (Lendemer, 2009; Moberg, 2011).

A morfologia do gênero de líquen *Parmotrema* A. Massal. 1860 apresenta considerável variabilidade, sendo caracterizada principalmente por talos foliosos. Esses talos costumam ser largos, com lóbulos que podem ser ciliados ou lisos, dependendo da espécie. *Parmotrema clavuliferum* (Räsänen) Streimann e *Parmotrema reticulatum* (Taylor) M.Choisy, por exemplo,



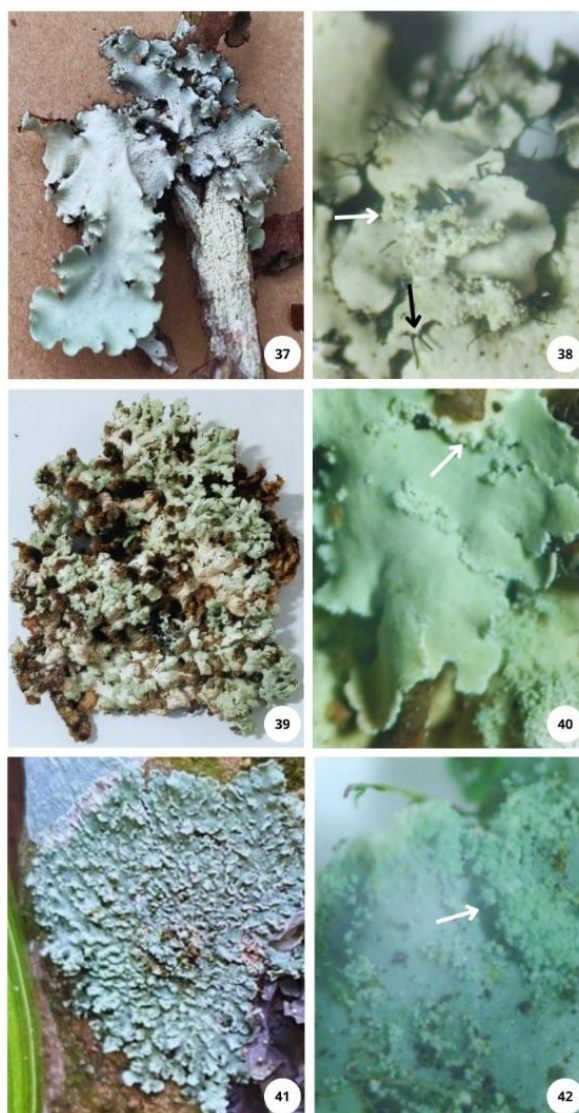
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

compartilham traços morfológicos semelhantes, como lóbulos amplos com sorálias e uma maculação reticulada na superfície superior, o que frequentemente dificulta a identificação das espécies (Ahn; Moon, 2016). Essas características morfológicas, combinadas com aspectos bioquímicos, como a produção de ácido salazínico e atranorina, tornam a delimitação de espécies dentro do gênero ainda mais complexa (Marcelli; Benatti, 2010; Ciecowski *et al.*, 2024).

As figuras 37 e 38 correspondem a líquens do gênero *Parmotrema* A. Massal. 1860, caracterizados por talos foliosos com lóbulos largos e lobados, córtex superior bem desenvolvido, medula branca e córtex inferior preto. Apresentam sorédios (seta branca) granulares e cílios pretos (seta preta) nas margens do córtex (Figura 38). A coloração varia entre verde-claro e cinza-claro.

As figuras 39 e 40 representam um líquen pertencente à família Parmeliaceae. Os lóbulos são mais estreitos e dobrados, com ramificação densa, superfície granular e sorédios marginais (seta). A coloração é verde-acinzentada, com margens irregulares visíveis na figura 40.

Já as figuras 41 e 42 mostram exemplares da família Physciaceae, com talo folioso de menor porte, coloração entre verde-azulada e esverdeada, lóbulos pequenos e fortemente aderidos ao substrato. O córtex superior apresenta textura rugosa, frequentemente associado à presença abundante de sorédios granulares (seta) (Figura 42).



Fonte: Autores, Acervo GB3 (2025)

Legenda: Figuras 37–42. 37–38. *Parmotrema* A. Massal. 1860, com talo folioso, córtex superior desenvolvido, medula branca, córtex inferior preto, sorédios granulares (seta branca) e cílios pretos marginais (seta preta). 39–40. Parmeliaceae, com lóbulos estreitos, superfície granular e sorédios marginais (seta). 41–42. Physciaceae, talo folioso pequeno, coloração verde-azulada, textura rugosa e sorédios granulares abundantes (seta).

A família Parmeliaceae, um grupo significativo entre os fungos formadores de líquen, apresenta notável diversidade morfológica, especialmente na estrutura do talo, que é essencial para sua identificação e adaptação ecológica. As formas de talo podem ser amplamente classificadas



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

como foliosas ou fruticosas. O grupo Parmelioide representa cerca de 75% da diversidade conhecida dentro da família (Crespo *et al.*, 2010). Espécies como *Parmelia sulcata* Taylor, *Flavoparmelia caperata* (L.) Hale e *Punctelia subrudecta* (Nyl.) Krog são exemplos comuns desse grupo, amplamente utilizadas em estudos de biomonitoramento devido à sua ampla distribuição e sensibilidade a mudanças atmosféricas (Crespo *et al.*, 2010)

Uma característica morfológica marcante nas Parmeliaceae é a presença de estruturas reprodutivas distintas. Muitos de seus representantes desenvolvem estruturas assexuadas chamadas picnídios, visíveis como pequenas manchas pretas no talo. Essa característica é especialmente evidente nas espécies foliosas, nas quais tais estruturas desempenham papéis importantes tanto na reprodução quanto na taxonomia (Fang *et al.*, 2020).

A morfologia do líquen é um aspecto crítico de estudo dentro da família Physciaceae, revelando uma diversidade de formas, anatomia e adaptações ecológicas. Um dos principais tipos morfológicos observados nessa família, são o líquens crostosos, frequentemente associado a um arranjo complexo de fotobiontes (Helms *et al.*, 2001; Kosecka *et al.*, 2024b). Os líquens crostosos são reconhecidos por suportar uma gama mais ampla de parceiros algais em comparação com os foliosos e fruticosos (Helms *et al.*, 2001; Lücking; Sérusiaux; Vězda, 2005).

A morfologia do talo é fortemente influenciada por fatores como o tipo de substrato, condições do microhabitat e relações filogenéticas. Estudos mostram que formas crostosas evoluíram recorrentemente a partir de estruturas mais complexas ao longo da linhagem (Watts; Raynor; Manzitto-Tripp, 2025). A análise morfológica, incluindo o tipo de fotobiontes associados, muitas vezes do gênero *Trebouxia*, é essencial para compreender as relações

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

intrafamiliares e as adaptações ecológicas (Helms *et al.*, 2001; Barbosa, Suzana Bissacot; Marcelli, 2010).

As figuras 43 e 44 correspondem a líquens da família Graphidaceae, com talos crostosos bem aderidos ao substrato — neste caso, tronco de árvore (Figura 43). A superfície apresenta textura contínua, coloração esbranquiçada a esverdeada e presença evidente de lirelas brancas (seta) estruturas típicas dessa família (Aido *et al.*, 2024) (Figura 44).

Nas figuras 45 e 46, observa-se um líquen da família Caliciaceae. O talo é crostoso, com coloração pálida a amarelada, destacando-se pela presença de pequenos apotécios pretos (seta), que contrastam fortemente com a superfície. Esses apotécios (seta), pontuais e escuros, são característicos da família (Andrade, Dannyelly Santos *et al.*, 2020).



Fonte: Autores, Acervo GB3 (2025)

Legenda: Figuras 43–46. 43–44. Graphidaceae, com talo crostoso, bem aderido ao substrato, coloração esbranquiçada a esverdeada, e lirelas brancas visíveis (seta). 45–46. Caliciaceae, com talo crostoso pálido a amarelado e apotécios pretos pontuais destacados (seta).



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

A família dos líquens Graphidaceae é uma das maiores e mais diversas entre os fungos liquenizados, com mais de 2000 espécies que exibem uma ampla gama de características morfológicas significativas para sua classificação e papéis ecológicos. Uma característica primária desta família é a presença de talos crostosos, que podem ser planos ou ligeiramente elevados, podendo colonizar diversos substrato, incluindo cascas, madeira e rochas (Fernández-Brime *et al.*, 2013; Poengsungnoen *et al.*, 2014).

A morfologia dos líquens da família Caliciaceae é caracterizada por uma gama diversificada de tipos de talos, estruturas reprodutivas e adaptações ecológicas. Os membros dessa família geralmente apresentam talos crostosos, fortemente aderidos ao substrato. Além disso, esses líquens costumam exibir mazaédios simples ou complexos, estruturas especializadas para reprodução que podem assumir diversas formas, dependendo do gênero (Wedin *et al.*, 2000; Prieto, María; Wedin, 2016). As principais características morfológicas de Caliciaceae incluem a arquitetura do talo, a morfologia dos esporos e a presença ou ausência de estruturas superficiais nos esporos, aspectos importantes para a identificação e classificação das espécies dentro da família (Rikkinen *et al.*, 2018).

A identificação de líquens envolve a análise de características morfológicas e químicas, sendo os testes químicos um recurso importante na delimitação taxonômica. Reações colorimétricas com reagentes como hidróxido de potássio (teste K), hipoclorito de sódio (teste C) e sua combinação (KC) permitem detectar metabólitos secundários presentes no talo do líquen. Esses compostos variam entre os grupos taxonômicos e contribuem para a diferenciação entre gêneros e espécies. Neste estudo, foram aplicados testes



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

químicos para todas as amostras coletadas, visando complementar a identificação morfoanatômica com dados químicos.

As amostras analisadas apresentaram reações positivas majoritariamente com o reagente K, com coloração amarela. Um espécime da família Phyciaceae e *Parmotrema* A. Massal. 1860 reagiram para os testes C e KC, mantendo a coloração amarela. Apenas a família Parmeliaceae apresentou reações com todos os reagentes aplicados (K, C e KC), resultando em coloração amarela com K e laranja com C e KC. O gênero *Leptogium* (Ach.) Gray 1821, respondeu unicamente ao reagente K com coloração amarela, sem reação com os demais (Quadro 1).

Quadro 1- Reações químicas dos líquens coletados.

Taxonomia	Local de coleta	Reagente(s)	Reação Química
<i>Leptogium</i> (Ach.) Gray, 1821	Morros	K	Amarelo
Phyciaceae	Morros	K e KC	Amarelo
<i>Parmotrema</i> A. Massal. 1860	Morros	K e KC	Amarelo
Parmeliaceae	Morros	K, C e KC	K – Amarelo, C e KC – Laranja

Fonte: Autores, Acervo GB3 (2025)

Legenda: Testes químicos realizados com hidróxido de potássio (K), hipoclorito de sódio (C) e a combinação de ambos (KC).

Os líquens são conhecidos por produzir uma ampla variedade de metabólitos secundários, como os ácidos úsnico, girofórico, lecanórico, estíctico, salazínico e diversos ácidos graxos (Benatti, 2014). Certas espécies podem apresentar mudanças de coloração após a aplicação do reagente, o que auxilia na confirmação de sua identidade taxonômica (Stone *et al.*, 2016; Chollet-Krugler *et al.*, 2019). No caso do gênero *Leptogium* (Ach.) Gray 1821, tais reações são particularmente relevantes para a diferenciação de táxons



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

morfologicamente semelhantes, além de fornecerem subsídios importantes para sua classificação sistemática (Stone *et al.*, 2016).

A aplicação de KOH ao talo de espécies do gênero *Parmotrema* A. Massal. 1860 pode resultar em reações colorimétricas distintas, úteis na diferenciação entre espécies do gênero. Em alguns casos, observa-se a formação de coloração amarela após o teste, indicando compostos como os ácidos lecanórico e salazínico, característicos de determinados grupos dentro do gênero. No entanto, a intensidade e tonalidade das reações podem variar entre espécies, exigindo interpretação cuidadosa (Barbosa, S.B.; Marcelli; Machado, 2009; Barbosa, Suzana Bissacot; Marcelli, 2010).

A família *Parmeliaceae*, que inclui diversas espécies de líquens, é frequentemente classificada por meio de análises morfológicas e testes bioquímicos. Espécies do gênero *Parmotrema* A. Massal. 1860, por exemplo, apresentam mudanças de cor quando submetidas a testes pontuais com KOH, indicando a presença de compostos como os ácidos nórtrico e salazínico, marcadores químicos comuns na classificação de líquens (Marcelli; Benatti, 2010). Essas reações geralmente resultam em colorações que variam do amarelo ao vermelho, permitindo a diferenciação entre espécies e contribuindo para os estudos taxonômicos dentro da família (Marcelli; Benatti, 2010).

O uso de KOH na análise de espécimes da família *Phyciaceae* ainda é pouco documentado na literatura. No entanto, sua aplicação segue os mesmos princípios utilizados em outros gêneros de líquens, visando à detecção de metabólitos secundários por meio de reações colorimétricas. Embora não existam referências diretas que descrevam detalhadamente as reações de KOH em *Phyciaceae*, estudos em outras famílias, como



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Parmeliaceae, têm demonstrado a eficácia do reagente na caracterização química e taxonômica de líquens (Marcelli; Benatti, 2010).

Com base nas análises morfoquímicas realizadas nas amostras coletadas, foi elaborada uma chave de identificação que permite a distinção entre os principais grupos de líquens encontrados. A chave baseia-se em características do talo, como tipo, coloração, presença de estruturas reprodutivas (sorédios, isídios, apotécios, lirelas), e reações a testes químicos, possibilitando uma identificação taxonômica preliminar até o nível de gênero.

Quadro 2 - Chave de Identificação dos líquens Coletados

1a. Líquen folioso ou gelatinoso	2
1b. Líquen crostoso	7
1c. Líquen filamentosos	8
1d. Líquen fruticosos ou dimórfico.....	10
2a. Talo folioso gelatinoso.....	3
2b. Talo folioso, heterômero	4
3a. Apotécios com margem talina.....	<i>Leptogium</i>
3b. Apotécios, K+.....	<i>Leptogium</i>
4a. Talo cinza-chumbo arredondado, anéis concêntricos.....	<i>Coccocarpia</i>
4b. Talo verde ou verde claro.....	5
5a. Talo verde, lóbulos curtos e arredondados, K+.....	<i>Physciella</i>
5b. Talo verde claro.....	6
6a. Crescimento ascendente e superfície levemente estriada.....	<i>Heterodermia</i>
6b. Presença de cílios.....	7
7a. Lóbulos curtos e largos, sorédios ao longo dos lobos, K+.....	<i>Parmotrema</i>
7b. Lóbulos alongados e arredondados, sorédios em pó ao centro do talo.....	Parmeliaceae
8a. Presença de lirela.....	Graphidaceae
8b. Ausência de lirela.....	9
9a. Sorédios granulares finos	<i>Lepraria</i>
9b. Isídios ao centro.....	9
10a. Halo de crescimento vermelho, talo verde.....	<i>Cryptothecia</i>
10b. Margens brancas, talo verde.....	<i>Cryptothecia</i>
10c. Talo verde sem margem definida, UV+.....	<i>Cryptothecia</i>
11a. Talo verde, filamentos compactados.....	<i>Coenogonium</i>
11b. Talo verde amarelado.....	11
12a. Filamentos fechados, aspecto aveludado.....	<i>Coenogonium</i>
12b. Filamentos abertos, aspecto felpudo	<i>Coenogonium</i>
13a. Líquen fruticosos e terrícola.....	<i>Cladonia</i>
13b. Líquen dimórfico.....	13
14a. Fruticosos e esqueTerrícola.....	<i>Cladonia</i>



14b. Corticícola..... <i>Cladonia</i>

Fonte: Organização dos autores.

A simbiose nos líquens é um exemplo clássico de organização multicelular, onde fungos e fotobiontes interagem de maneira complexa para formar um organismo funcional (Grube; Wedin, 2016). Essa relação simbiótica não apenas permite que os líquens colonizem diversos ambientes, mas também lhes confere uma vantagem no acesso a recursos e na resistência nas mudanças do ambiente (Grube; Wedin, 2016). A evolução dessa simbiose resultou em uma diversidade morfológica e funcional essencial para a ecologia de muitos ecossistemas, já que os líquens desempenham papéis cruciais na formação do solo e na ciclagem dos nutrientes (Divakar *et al.*, 2015; Spribille *et al.*, 2022).

Os líquens crostosos aderem firmemente ao substrato e são mais resistentes a condições adversas, enquanto os foliosos e fruticosos, que apresentam uma estrutura mais tridimensional, são mais suscetíveis à desidratação, mas possuem maior capacidade de captar umidade do ambiente (Gauslaa, 2014). A morfologia dos líquens também é influenciada por fatores ambientais, como disponibilidade de água, luz e temperatura, afetando sua fisiologia e distribuição (Gauslaa, 2014). Por exemplo, os líquens epifíticos, que crescem sobre outras plantas, frequentemente desenvolvem estruturas que maximizam a captação de umidade através da chuva e do orvalho (fenômeno meteorológico que consiste em pequenas gotas de água que se formam na atmosfera) (Gauslaa, 2014).

Assim, a diversidade morfológica dos líquens, expressa nas variações estruturais dos talos e nas adaptações ecológicas observadas entre diferentes famílias e gêneros, reflete não apenas sua complexa evolução, mas também



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

sua importância funcional nos ecossistemas. A combinação de características anatômicas, tipos de associação simbiótica e capacidade de adaptação a distintos microhabitats torna os líquens organismos-chave para estudos taxonômicos, ecológicos e bioindicadores ambientais. Compreender essas variações é essencial para ampliar o conhecimento sobre biodiversidade líquênica e para orientar estratégias de conservação, especialmente em ambientes ameaçados pela ação antrópica e pelas mudanças climáticas.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nossas descobertas evidenciaram a riqueza e diversidade morfológica dos líquens nas áreas estudadas. A coleta de 66 amostras nos municípios de Morros e Anajatuba revelou uma predominância das formas crostosa, foliosa e filamentosa, refletindo a adaptabilidade desses organismos a diferentes microclimas, níveis de luminosidade e tipos de substrato. A maioria dos táxons apresentou hábito corticícola, reforçando a importância das árvores como suporte essencial para o desenvolvimento líquênico em regiões tropicais.

Foi identificado representantes de 11 famílias e nove gêneros, incluindo *Cryptothecia*, *Coenogonium*, *Leptogium*, *Cladonia* e *Coccocarpia*, sendo todos registros inéditos para o estado do Maranhão. Gêneros como *Leptogium* e *Coccocarpia*, ambos cianolíquens, indicam boa qualidade ambiental, sugerindo que as matas preservadas da região ainda mantêm condições propícias à biodiversidade líquênica.

A elaboração de uma chave de identificação até o nível de gênero representa um avanço metodológico relevante, servindo de referência para estudos futuros em taxonomia, ecologia e conservação. A falta de



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

levantamentos sobre a biodiversidade de líquens na região evidencia a necessidade de mais estudos e do fortalecimento de ações voltadas à conservação da biodiversidade líquênica local.

Assim, este estudo amplia significativamente o conhecimento sobre os líquens da Amazônia maranhense e reforçar a necessidade de estudos desses organismos como bioindicadores ambientais. Os resultados obtidos oferecem subsídios valiosos para o monitoramento da biodiversidade e a formulação de políticas voltadas à conservação dos ecossistemas amazônicos.

AGRADECIMENTOS

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Auxílio nº: 0762/2020 / 88881.510069/2020-01; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Processo 408352/2023-0; Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA), Processo UNIVERSAL-06428/22; Finnish National Agency for Education, TFK Programme Project "Museums, morphology, and molecules: new ways of evolution education".

REFERÊNCIAS

AHN, C.; MOON, K. H. Parmotrema clavuliferum and P. reticulatum are independent species. **Journal of Species Research**, [s. l.], v. 5, n. 2, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.12651/jsr.2016.5.2.254>. Acesso em: 30 abr. 2025.

AIDO, M. M. H. do; APTROOT, A.; KOCH, N. M.; SPIELMANN, A. A. Líquens do Miranda, Pantanal: uma investigação das espécies líquênicas dos capões. **Biodiversidade Brasileira**, [s. l.], v. 14, n. 4, 2024. Disponível em: <https://revistaeletronica.icmbio.gov.br/index.php/BioBR/article/view/2564>. Acesso em: 30 abr. 2025.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

ALMEIDA, Wanessa Rejane de; ALMEIDA, Walkiria Rejane de; AGUIAR, J. J. M. Cobertura de líquens em um gradiente borda-interior na Amazônia Central. **Journal of Environmental Analysis and Progress**, [s. l.], p. 11–15, 2017.

ALONSO, M.; GREWE, F.; PAYETTE, S.; VILLARREAL, J. C. Population genomics of a reindeer lichen species from North American lichen woodlands. **American Journal of Botany**, [s. l.], v. 108, n. 1, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ajb2.1601>. Acesso em: 30 abr. 2025.

ANDRADE, D. S.; APTROOT, A.; LÜCKING, R.; BARBOSA, B. M. C.; CAVALCANTE, J. G.; CÁCERES, M. E. da S. Crustose Caliciaceae in Restinga vegetation in Brazil with a new species of *Gassicurtia* and two identification keys. **The Bryologist**, [s. l.], v. 123, n. 1, p. 75–83, 2020.

ANDRADE, B. O.; DRÖSE, W.; AGUIAR, C. A. de; AIRES, E. T.; ALVARES, D. J.; BARBIERI, R. L.; CARVALHO, C. J. B. de; BARTZ, M.; BECKER, F. G.; BENCKE, G. A.; BENEDUZI, A.; SILVA, J. B.; BLOCHTEIN, B.; BOLDRINI, I. I.; BOLL, P. K.; BORDIN, J.; SILVEIRA, R. M. B. da; MARTINS, M. B.; BOSENBECKER, C.; BRACCINI, J.; BRAUN, B.; BRITO, R.; BROWN, G. G.; BÜNEKER, H. M.; BUZATTO, C. R.; CAVALLERI, A.; CECHIN, S. Z.; COLOMBO, P.; CONSTANTINO, R.; COSTA, C. F. da; DALZUCHIO, M. S.; OLIVEIRA, M. G. de; DIAS, R. A.; SANTOS, L. A. dos; DUARTE, A. da F.; DUARTE, J. L. P.; DURIGON, J.; DA SILVA, M. E.; FERREIRA, P. P. A.; FERREIRA, T.; FERRER, J.; FERRO, V. G.; FONTANA, C. S.; FREIRE, M. D.; FREITAS, T. R. O.; GALIANO, D.; GARCIA, M.; DOS SANTOS, T. G.; GOMES, L. R. P.; GONZATTI, F.; GOTTSCHALK, M. S.; GRACIOLLI, G.; GRANADA, C. E.; GRINGS, M.; GUIMARÃES, P. S.; HEYDRICH, I.; IOP, S.; JARENKOW, J. A.; JUNGBLUTH, P.; KÄFFER, M. I.; KAMINSKI, L. A.; KENNE, D. C.; KIRST, F. D.; KROLOW, T. K.; KRÜGER, R. F.; KUBIAK, B. B.; LEAL-ZANCHET, A. M.; LOEBMANN, D.; LUCAS, D. B.; LUCAS, E. M.; LUZA, A. L.; MACHADO, I. F.; MADALOZZO, B.; MAESTRI, R.; MALABARBA, L. R.; MANEYRO, R.; MARINHO, M. A. T.; MARQUES, R.; MARTA, K. da S.; MARTINS, D. da S.; MARTINS, G. da S.; MARTINS, T. R.; MELLO, A. S. de; MELLO, R. L.; MENDONÇA JUNIOR, M. de S. 12,500+ and counting: biodiversity of the Brazilian Pampa. **Frontiers of Biogeography**, [s. l.], v. 15, n. 2, 2023. Disponível em: <https://escholarship.org/uc/item/7tp2k884>. Acesso em: 25 nov. 2024.

APTROOT, A.; CÁCERES, M. E. da S. *Coenogonium upretianum* (Ascomycota: Coenogoniaceae), a new corticolous lichen species from Brazil. **Cryptogam Biodiversity and Assessment**, [s. l.], n. 01, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.21756/cab.esp3>. Acesso em: 26 nov. 2024.

BARBOSA, S. B.; MARCELLI, M. P. Cortical diversity in three species groups of *Parmotrema* sensu lato (Parmeliaceae, lichenized Ascomycota). **Micron**, [s. l.], v.



41, n. 7, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micron.2010.04.014>. Acesso em: 30 abr. 2025.

BARBOSA, S. B.; MARCELLI, M. P.; MACHADO, S. R. Evaluation of different protocols for anatomical studies in Parmeliaceae (lichenized Ascomycota). **Micron**, [s. l.], v. 40, n. 2, p. 218–225, 2009.

BARBOSA, R. do N.; SANTOS, J. E. F. dos; BEZERRA, J. D. P.; ISTEEL, Ł.; HOUBRAKEN, J.; OLIVEIRA, N. T.; SOUZA-MOTTA, C. M. de. Brazilian Atlantic Forest and Pampa Biomes in the spotlight: an overview of *Aspergillus*, *Penicillium*, and *Talaromyces* (Eurotiales) species and the description of *Penicillium nordestinense* sp. nov. **Acta Botanica Brasilica**, [s. l.], v. 36, p. e2021abb0390, 2022.

BARRENO, E. R.; ORTEGA, S. P. **Líquenes de la Reserva Integral de Muniellos Asturias**. [S. l.: s. n.], 2003. Disponível em: Acesso em: 30 abr. 2025.

BELGUIDOUM, A.; LOGRADA, T.; RAMDANI, M. Diversity and distribution of epiphytic lichens on *Cedrus atlantica* and *Quercus faginea* in Mount Babor Forest, Algeria. **Biodiversitas Journal of Biological Diversity**, [s. l.], v. 22, n. 2, 2021. Disponível em: <https://smujo.id/biodiv/article/view/7697>. Acesso em: 25 nov. 2024.

BENATTI, M. N. Espécies de *Parmotrema* (Parmeliaceae, Ascomycota) no Parque Estadual da Cantareira, Estado de São Paulo, Brasil, II: as espécies emaculadas ou com máculas irregulares. **Hoehnea**, [s. l.], v. 41, p. 81–102, 2014.

CÁCERES, M. E. da S.; APTROOT, A.; LÜCKING, R. Lichen fungi in the Atlantic rain forest of Northeast Brazil: the relationship of species richness with habitat diversity and conservation status. **Brazilian Journal of Botany**, [s. l.], v. 40, n. 1, p. 145–156, 2017.

CARLOS, I. Z.; CARLI, C. B. A.; MAIA, D. C. G.; BENZATTI, F. P.; LOPES, F. C. M.; ROESE, F. M.; WATANABE, M.; MICHELETTI, A. C.; SANTOS, L. C. dos; VILEGAS, W.; HONDA, N. K. Immunostimulatory effects of the phenolic compounds from lichens on nitric oxide and hydrogen peroxide production. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s. l.], v. 19, p. 847–852, 2009.

CHOLLET-KRUGLER, M.; NGUYEN, T. T. T.; SAUVAGER, A.; THÜS, H.; BOUSTIÉ, J. Mycosporine-Like Amino Acids (MAAs) in Time-Series of Lichen Specimens from Natural History Collections. **Molecules**, [s. l.], v. 24, n. 6, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules24061070>. Acesso em: 30 abr. 2025.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

CIECOSKI, F. A. R.; BARBOSA, F. R.; MARCELLI, M. P.; HORA, B. R. da. Some species of *Parmotrema* (Parmeliaceae) from the Brazilian Amazon with salazinic acid<sup/>. **Hoehnea**, [s. l.], v. 51, p. e062022, 2024.

CRESPO, A.; KAUFF, F.; DIVAKAR, P. K.; DEL-PRADO, R.; PÉREZ-ORTEGA, S.; PAZ, G. A. de; FERENCOVÁ, Z.; BLANCO, Ó.; ROCA-VALIENTE, B.; NÚÑEZ-ZAPATA, J.; CUBAS, P.; ARGÜELLO, A.; ELIX, J. A.; ESSLINGER, T. L.; HAWKSWORTH, D. L.; MILLANES, A. M.; MOLINA, M. C.; WEDIN, M.; AHTI, T.; APTROOT, A.; BARRENO, E.; BUNGARTZ, F.; CALVELO, S.; CANDAN, M.; COLE, M. S.; ERTZ, D.; GOFFINET, B.; LINDBLOM, L.; LÜCKING, R.; LUTZONI, F.; MATTSSON, J.-E.; MESSUTI, M. I.; MIĄDLIKOWSKA, J.; PIERCEY-NORMORE, M. D.; RICO, V. J.; SIPMAN, H. J. M.; SCHMITT, I.; SPRIBILLE, T.; THELL, A.; THOR, G.; UPRETI, D. K.; LUMBSCH, H. T. Phylogenetic generic classification of parmelioid lichens (Parmeliaceae, Ascomycota) based on molecular, morphological and chemical evidence. **Taxon**, [s. l.], v. 59, n. 6, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/tax.596008>. Acesso em: 30 abr. 2025.

DE VRIES, M. C.; WATLING, J. R. Differences in the utilization of water vapour and free water in two co-occurring foliose lichens from semi-arid southern Australia. **Austral Ecology**, [s. l.], v. 33, n. 8, p. 975–985, 2008.

DIRIG, R. Review of How to Know the Lichens. **Mycologia**, [s. l.], v. 72, n. 1, p. 218–220, 1980.

DIVAKAR, P. K.; CRESPO, A.; WEDIN, M.; LEAVITT, S. D.; HAWKSWORTH, D. L.; MYLLYS, L.; MCCUNE, B.; RANDLANE, T.; BJERKE, J. W.; OHMURA, Y.; SCHMITT, I.; BOLUDA, C. G.; ALORS, D.; ROCA-VALIENTE, B.; DEL-PRADO, R.; RUIBAL, C.; BUARUANG, K.; NÚÑEZ-ZAPATA, J.; PAZ, G. A. de; RICO, V. J.; MOLINA, M. C.; ELIX, J. A.; ESSLINGER, T. L.; TRONSTAD, I. K. K.; LINDGREN, H.; ERTZ, D.; GUEIDAN, C.; SAAG, L.; MARK, K.; SINGH, G.; GRANDE, F. D.; PARNMEN, S.; BECK, A.; BENATTI, M. N.; BLANCHON, D.; CANDAN, M.; CLERC, P.; GOWARD, T.; GRUBE, M.; HODKINSON, B. P.; HUR, J.-S.; KANTVILAS, G.; KIRIKA, P. M.; LENDEMER, J. C.; MATTSSON, J.-E.; MESSUTI, M. I.; MIĄDLIKOWSKA, J.; NELSEN, M. P.; OHLSON, J. I.; PÉREZ-ORTEGA, S.; SAAG, A.; SIPMAN, H. J. M.; SOHRABI, M.; THELL, A.; THOR, G.; TRUONG, C.; YAHR, R.; UPRETI, D. K.; CUBAS, P.; LUMBSCH, H. T. Evolution of complex symbiotic relationships in a morphologically derived family of lichen-forming fungi. **New Phytologist**, [s. l.], v. 208, n. 4, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/nph.13553>. Acesso em: 5 fev. 2025.

DOELLMAN, M. M.; SUN, Y.; BÁRCENAS-PEÑA, A.; LUMBSCH, H. T.; GREWE, F. Rethinking asexuality: the enigmatic case of functional sexual genes in *Lepraria*



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

(Stereocaulaceae). **BMC Genomics**, [s. l.], v. 25, n. 1, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12864-024-10898-8>. Acesso em: 30 abr. 2025.

FANG, H.; LABANDEIRA, C. C.; MA, Y.; ZHENG, B.; REN, D.; WEI, X.; LIU, J.; WANG, Y. Lichen mimesis in mid-Mesozoic lacewings. **eLife**, [s. l.], v. 9, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.7554/elife.59007>. Acesso em: 30 abr. 2025.

FERNÁNDEZ-BRIME, S.; LLIMONA, X.; LUTZONI, F.; GAYA, E. Phylogenetic study of *Diploschistes* (lichen-forming Ascomycota: Ostropales: Graphidaceae), based on morphological, chemical, and molecular data. **Taxon**, [s. l.], v. 62, n. 2, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.12705/622.10>. Acesso em: 30 abr. 2025.

FERREIRA, M. D. G. R.; SOUSA, N. R.; FRAZÃO, J. M. F.; PEREIRA, E. D. MAPPING AND CHARACTERIZATION OF CUPUAÇU OCCURRENCE AREAS IN COMMUNITIES OF FAMILIAR FARMERS IN THE MUNICIPALITY OF ANAJATUBA, MARANHÃO STATE, BRAZIL. **Journal of Geospatial Modelling**, [s. l.], p. 26–35, 2018.

FILHO, F. L. C. RELATÓRIO DIAGNÓSTICO DO MUNICÍPIO DE MORROS. [s. l.], 2011.

FILHO, F. de O. M.; PEREIRA, E. C.; LIMA, E. S. de; SILVA, N. H. da; FIGUEIREDO, R. C. B. Q. de. Influência de poluentes atmosféricos em Belo Jardim (PE) utilizando *Cladonia verticillaris* (líquen) como biomonitor. **Química Nova**, [s. l.], v. 30, n. 5, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0100-40422007000500004>. Acesso em: 18 nov. 2024.

FINK, B. How to Collect and Study Lichens. **The Bryologist**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. 22–27, 1905.

GALHARDI, J. A.; GARCÍA-TENORIO, R.; DÍAZ FRANCÉS, I.; BONOTTO, D. M.; MARCELLI, M. P. Natural radionuclides in lichens, mosses and ferns in a thermal power plant and in an adjacent coal mine area in southern Brazil. **Journal of Environmental Radioactivity**, [s. l.], v. 167, p. 43–53, 2017.

GAUSLAA, Y. Rain, dew, and humid air as drivers of morphology, function and spatial distribution in epiphytic lichens. **The Lichenologist**, [s. l.], v. 46, n. 1, p. 1–16, 2014.

GRUBE, M.; WEDIN, M. Lichenized Fungi and the Evolution of Symbiotic Organization. **Microbiology Spectrum**, [s. l.], v. 4, n. 6, 2016.

GRZESIAK, J.; WOLTYŃSKA, A.; ZDANOWSKI, M. K.; GÓRNIK, D.; ŚWIĄTECKI, A.; OLECH, M.; ALEKSANDRZAK-PIEKARCZYK, T. Metabolic fingerprinting of the Antarctic cyanolichen *Leptogium puberulum*–associated bacterial community (Western Shore of Admiralty Bay, King George Island, Maritime Antarctica).



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Microbial Ecology, [s. l.], v. 82, n. 3, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00248-021-01701-2>. Acesso em: 11 abr. 2025.

HELMS, G. Taxonomy and Symbiosis in Associations of Physciaceae and Trebouxia. *Em*: 2003, [s. l.], . **Anais** [...]. [S. l.: s. n.], 2003. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/Taxonomy-and-Symbiosis-in-Associations-of-and-Helms/798326295bfeedf9aaa8f3dc61a943781b5f2bb7>. Acesso em: 1 fev. 2025.

HELMS, G.; FRIEDL, T.; RAMBOLD, G.; MAYRHOFER, H. Identification of Photobionts from the lichen family *Physciaceae* using algal-specific ITS rDNA sequencing. **The Lichenologist**, [s. l.], v. 33, n. 1, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/lich.2000.0298>. Acesso em: 30 abr. 2025.

HURTADO, P.; PRIETO, M.; MARTÍNEZ-VILALTA, J.; GIORDANI, P.; ARAGÓN, G.; LÓPEZ-ANGULO, J.; KOŠUTHOVÁ, A.; MERINERO, S.; DÍAZ-PEÑA, E. M.; ROSAS, T.; BENESPERI, R.; BIANCHI, E.; GRUBE, M.; MAYRHOFER, H.; NASCIMBENE, J.; WEDIN, M.; WESTBERG, M.; MARTÍNEZ, I. Disentangling functional trait variation and covariation in epiphytic lichens along a continent-wide latitudinal gradient. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, [s. l.], v. 287, n. 1922, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.2862>. Acesso em: 30 abr. 2025.

IBGE. **Anajatuba (MA) | Cidades e Estados | IBGE**. [S. l.: s. n.], 2023. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/ma/anajatuba.html>. Acesso em: 4 abr. 2025.

IBGE. **Morros (MA) | Cidades e Estados | IBGE**. [S. l.: s. n.], 2024. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/ma/morros.html>. Acesso em: 30 abr. 2025.

KAASALAINEN, U.; HEINRICHS, J.; RENNER, M. A. M.; HEDENÄS, L.; SCHÄFER-VERWIMP, A.; LEE, G. E.; IGNATOV, M. S.; RIKKINEN, J.; SCHMIDT, A. R. A Caribbean epiphyte community preserved in Miocene Dominican amber. **Earth and Environmental Science Transactions of the Royal Society of Edinburgh**, [s. l.], v. 107, n. 2–3, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/s175569101700010x>. Acesso em: 1 maio 2025.

KAASALAINEN, U.; KIRIKA, P. M.; MOLLEL, N. P.; HEMP, A.; RIKKINEN, J. Two new species of *Leptogium* (Collemataceae) with transversely septate ascospores from East Africa. **Folia Cryptogamica Estonica**, [s. l.], v. 60, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.12697/fce.2023.60.08>. Acesso em: 28 abr. 2025.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

KAASALAINEN, U.; TUOVINEN, V.; KIRIKA, P. M.; MOLLEL, N. P.; HEMP, A.; RIKKINEN, J. Diversity of Leptogium (Collemataceae, Ascomycota) in East African Montane Ecosystems. **Microorganisms**, [s. l.], v. 9, n. 2, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020314>. Acesso em: 28 abr. 2025.

KÄFFER, M. I. Biomonitoramento da qualidade do ar com uso de líquens na cidade de Porto Alegre, RS. [s. l.], 2011. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/30187>. Acesso em: 6 dez. 2024.

KÄFFER, M.; KOCH, N.; APTROOT, A.; MARTINS, S. M. de A. New records of corticolous lichens for South America and Brazil. **Plant Ecology and Evolution**, [s. l.], v. 148, n. 1, p. 111–118, 2015.

KITAURA, M. J. ESTUDO TAXONÔMICO DE LEPTOGIUM (ACH.) S.F. GRAY (COLLEMATACEAE, FUNGOS LIQUENIZADOS). [s. l.], 2012.

KOSECKA, M.; BOURCERET, A.; PEREZ-LAMARQUE, B.; GUZOW-KRZEMIŃSKA, B.; KUKWA, M.; FLAKUS, A.; RODRIGUEZ-FLAKUS, P.; SELOSSE, M.-A. **Factors shaping the assembly of lichen holobionts in a tropical lichen community**. [S. l.]: bioRxiv, 2024. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2024.05.29.596524v1>. Acesso em: 30 abr. 2025.

KYTÖVIITA, M.-M.; CRITTENDEN, P. D. Growth and Nitrogen Relations in the Mat-forming Lichens *Stereocaulon paschale* and *Cladonia stellaris*. **Annals of Botany**, [s. l.], v. 100, n. 7, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/aob/mcm249>. Acesso em: 30 abr. 2025.

LENDEMER, J. C. A synopsis of the lichen genus *Heterodermia* (Physciaceae, lichenized Ascomycota) in eastern North America. **Opuscula Philolichenum**, [s. l.], v. 6, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.5962/p.381963>. Acesso em: 30 abr. 2025.

LEONARDO, L.; DAMATTO, S. R.; GIOS, B. R.; MAZZILLI, B. P. Lichen specie *Canoparmelia texana* as bioindicator of environmental impact from the phosphate fertilizer industry of São Paulo, Brazil. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, [s. l.], v. 299, n. 3, p. 1935–1941, 2014.

LIU, D.; HUR, J.-S. Revision of the Lichen Genus *Phaeophyscia* and Allied *Atranorin* Absent Taxa (Physciaceae) in South Korea. **Microorganisms**, [s. l.], v. 7, n. 8, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms7080242>. Acesso em: 30 abr. 2025.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

LUCHETA, F.; KOCH, N. M.; MARTINS, S. M. de A.; SCHMITT, J. L. Comunidade de líquens corticícolos em um gradiente de urbanização na Bacia Hidrográfica do Rio dos Sinos, no sul do Brasil. **Rodriguésia**, [s. l.], v. 69, p. 323–334, 2018.

LÜCKING, R.; JOHNSTON, M.; APTROOT, A.; KRAICHAK, E.; LENDEMER, J. C.; BOONPRAGOB, K.; CÁCERES, M. E. S.; ERTZ, D.; FERRARO, L. I.; JIA, Z. F.; KALB, K.; MANGOLD, A.; MANOCH, L.; MERCADO-DÍAZ, J. A.; MONCADA, B.; MONGKOLSUK, P.; PAPONG, K.; PARNMEN, S.; PELÁEZ, R. N.; POENG SUNGNOEN, V.; PLATA, E. R.; SAIPUNKA EW, W.; SIPMAN, H. J. M.; SUTJARITTURAKAN, J.; BROECK, D. V. den; KONRAT, M. V.; WEERAKOON, G.; LUMBSCH, H. T. One hundred and seventy-five new species of Graphidaceae: closing the gap or a drop in the bucket?. **Phytotaxa**, [s. l.], v. 189, n. 1, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.189.1.4>. Acesso em: 5 fev. 2025.

LÜCKING, R.; LAWREY, J. D.; SIKAROODI, M.; GILLEVET, P. M.; CHAVES, J. L.; SIPMAN, H. J. M.; BUNGARTZ, F. Do lichens domesticate photobionts like farmers domesticate crops? Evidence from a previously unrecognized lineage of filamentous cyanobacteria. **American Journal of Botany**, [s. l.], v. 96, n. 8, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.3732/ajb.0800258>. Acesso em: 30 abr. 2025.

LÜCKING, R.; SÉRUSIAUX, E.; VĚZDA, A. Phylogeny and systematics of the lichen family **Gomphillaceae (Ostropales)** inferred from cladistic analysis of phenotype data. **The Lichenologist**, [s. l.], v. 37, n. 2, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/s0024282905014660>. Acesso em: 30 abr. 2025.

MARCELLI, M. P.; BENATTI, M. N. Espécies de Parmotrema (Parmeliaceae, Ascomycetes liquenizados) com ácidos graxos ou atranorina medulares do litoral centro-sul do Estado de São Paulo. **Hoehnea**, [s. l.], v. 37, p. 117–129, 2010.

MATWIEJUK, A. Distribution of Lichen Species of the Genus Lepraria in the Knyszyn Forest (Ne Poland) in Different Forest Plant Communities. **Polish Botanical Journal**, [s. l.], v. 62, n. 2, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/pbj-2017-0026>. Acesso em: 30 abr. 2025.

MENDES, W. S.; ARAGÃO, N. J.; SANTOS, H. J.; RAPOSO, L.; VASCONCELOS, P. F.; ROSA, E. S.; ELKHOURY, M. R. Hantavirus pulmonary syndrome in Anajatuba, Maranhão, Brazil. **Revista Do Instituto De Medicina Tropical De Sao Paulo**, [s. l.], v. 43, n. 4, p. 237–240, 2001.

MICHELETTI, A. C.; BEATRIZ, A.; LIMA, D. P. de; HONDA, N. K.; PESSOA, C. do Ó.; MORAES, M. O. de; LOTUFO, L. V.; MAGALHÃES, H. I. F.; CARVALHO, N. C. P. Constituintes químicos de Parmotrema lichexanthonicum Eliasaro & Adler:



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

isolamento, modificações estruturais e avaliação das atividades antibiótica e citotóxica. **Química Nova**, [s. l.], v. 32, p. 12–20, 2009.

MISTRY, J.; BERARDI, A. Effects of phorophyte determinants on lichen abundance in the cerrado of central Brazil. **Plant Ecology**, [s. l.], v. 178, n. 1, p. 61–76, 2005.

MOBERG, R. The lichen genus *Heterodermia* (Physciaceae) in South America – a contribution including five new species. **Nordic Journal of Botany**, [s. l.], v. 29, n. 2, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.2009.00519.x>. Acesso em: 30 abr. 2025.

MOYA, P.; MOLINS, A.; CHIVA, S.; BASTIDA, J.; BARRENO, E. Symbiotic microalgal diversity within lichenicolous lichens and crustose hosts on Iberian Peninsula gypsum biocrusts. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 14060, 2020.

NYSTUEN, K. O.; SUNDSDAL, K.; OPEDAL, Ø. H.; HOLIEN, H.; STRIMBECK, G. R.; GRAAE, B. J. Lichens facilitate seedling recruitment in alpine heath. **Journal of Vegetation Science**, [s. l.], v. 30, n. 5, p. 868–880, 2019.

ORANGE, A.; WHITE, F. J.; JAMES, P. W. **Microchemical methods for the identification of lichens**. 2. korr. und erw. Aufl. Ort nicht ermittelbar: British Lichen Society, 2010. 2010.

OSYCZKA, P.; BORÓN, P.; LENART-BORÓN, A.; ROLA, K. Modifications in the structure of the lichen *Cladonia* thallus in the aftermath of habitat contamination and implications for its heavy-metal accumulation capacity. **Environmental Science and Pollution Research**, [s. l.], v. 25, n. 2, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0639-1>. Acesso em: 30 abr. 2025.

OSYCZKA, P.; BORÓN, P.; LENART-BORÓN, A.; ROLA, K. Modifications in the structure of the lichen *Cladonia* thallus in the aftermath of habitat contamination and implications for its heavy-metal accumulation capacity. **Environmental Science and Pollution Research**, [s. l.], v. 25, n. 2, p. 1950–1961, 2018.

PFEFFER, B.; LYMBERY, C.; BOOTH, B.; ALLEN, J. L. Chromosomal genome sequence assembly and mating-type (*MAT*) locus characterization of the leprose asexual lichenized fungus *Lepraria neglecta* (Nyl.) Erichsen. **The Lichenologist**, [s. l.], v. 55, n. 1, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/s002428292200041x>. Acesso em: 30 abr. 2025.

POENGUNGNOEN, V.; MANOCH, L.; MONGKOLSUK, P.; BOONPRAGOB, K.; PARNMEN, S.; LÜCKING, R.; TEHLER, A.; LUMBSCH, H. T. Phylogenetic analysis reveals two morphologically unique new species in the genera *Astrochapsa* and



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Nitidochapsa (lichenized Ascomycota: Graphidaceae). **Phytotaxa**, [s. l.], v. 189, n. 1, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.189.1.19>. Acesso em: 30 abr. 2025.

PRIETO, M.; WEDIN, M. Phylogeny, taxonomy and diversification events in the Caliciaceae. **Fungal Diversity**, [s. l.], v. 82, n. 1, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13225-016-0372-y>. Acesso em: 30 abr. 2025.

RAMADHANI, R. W.; SALSABILA, N.; MUMPUNI, K. E. Lichen Sebagai Bioindikator Kualitas Udara Di Kecamatan Jebres Kota Surakarta. **Jurnal Ilmu Lingkungan**, [s. l.], v. 16, n. 2, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.31258/jil.16.2.p.207-221>. Acesso em: 28 abr. 2025.

RAPOSO JUNIOR, J. L.; RÉ-POPPI, N.; HONDA, N. K. Avaliação da concentração de alguns íons metálicos em diferentes espécies de líquens do cerrado Sul-Mato-Grossense. **Química Nova**, [s. l.], v. 30, p. 582–587, 2007.

RIKKINEN, J. **Jäkälät ja sammalet Suomen luonnossa**. Helsingissä: Otava, 2019.

RIKKINEN, J.; MEINKE, S.; GRABENHORST, H.; GRÖHN, C.; KOBBERT, M. J.; WUNDERLICH, J.; SCHMIDT, A. R. Calicioid lichens and fungi in amber – Tracing extant lineages back to the Paleogene. **Geobios**, [s. l.], v. 51, n. 5, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.geobios.2018.08.009>. Acesso em: 30 abr. 2025.

RUIZ, L.; CARRIÓN-PALADINES, V.; VEGA, M.; LÓPEZ, F.; BENÍTEZ, Á. Biological Crust Diversity Related to Elevation and Soil Properties at Local Scale in a Montane Scrub of Ecuador. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 9, n. 3, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof9030386>. Acesso em: 30 abr. 2025.

SAMPE, D. A. F.; AWUY, J. M.-D.; SEKAR, T. K. M.; WIJAYA, S. F.; ANANDA, A. Z.; MARELLA, D. T.; TAMPUBOLON, P. M.; LESTARI, R. Pilot study of air quality index assessment of nitrogen pollutant using lichen as bioindicators in Jakarta and Depok, Indonesia. **E3S Web of Conferences**, [s. l.], v. 211, p. 02014, 2020.

SOARES, J. F.; ILHA, R.; ZAZYCKI, M. A.; BERNARDES, R. C. C.; MORTARI, S. R.; VASCONCELLOS, N. J. S. de. Absorção de chumbo antrópico por populações de líquens do gênero Usnea em área industrial. **Revista Monografias Ambientais**, [s. l.], p. 3831–3836, 2014.

SOUSA, D. H. S. D.; SILVA, G. S. da; GOMES, G. da S.; NASCIMENTO, J. de M.; CONCEIÇÃO, G. M. da. Checklist of Angiosperms of a Cerrado Environmental Protection Area in the State of Maranhão, Brazil: floristic composition and new



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

occurrences. **Caldasia**, [s. l.], v. 44, n. 1, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.15446/caldasia.v44n1.88566>. Acesso em: 30 abr. 2025.

SPRIBILLE, T.; RESL, P.; STANTON, D. E.; TAGIRDZHANOVA, G. Evolutionary biology of lichen symbioses. **New Phytologist**, [s. l.], v. 234, n. 5, p. 1566–1582, 2022.

STONE, D.; HINDS, J. W.; ANDERSON, F. L.; LENDEMER, J. C. A revision of the *Leptogium saturninum* group in North America. **The Lichenologist**, [s. l.], v. 48, n. 5, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/s0024282916000323>. Acesso em: 30 abr. 2025.

TIMDAL, E. Studies on Phyllopsora (Ramalinaceae) in Peru. **The Lichenologist**, [s. l.], v. 40, n. 04, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/s0024282908007846>. Acesso em: 1 maio 2025.

VIEIRA, O. Q.; OLIVEIRA, T. G. de. Non-volant mammalian species richness in the ecotonal Brazilian midnorth: checklist for Maranhão State. **Biota Neotropica**, [s. l.], v. 20, n. 2, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1676-0611-bn-2019-0912>. Acesso em: 30 abr. 2025.

VIJAYAKUMAR, V. R.; SARAVANAN, K.; SOMASUNDARAM, M.; JAYARAJ, R.; PANNEERSELVAM, A.; THAJUDDIN, N.; DHARUMADURAI, D. Metagenomic analysis of lichen-associated bacterial community profiling in *Rocella montagnei*. **Archives of Microbiology**, [s. l.], v. 204, n. 1, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02707-7>. Acesso em: 30 abr. 2025.

WATTS, J. L.; RAYNOR, S. J.; MANZITTO-TRIPP, E. A. Character evolution in *Heterodermia* s.l. (Physciaceae; Caliciales) and two new species from the southern Rocky Mountains, USA. **Phytotaxa**, [s. l.], v. 698, n. 2, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.698.2.1>. Acesso em: 30 abr. 2025.

WEDIN, M.; DÖRING, H.; NORDIN, A.; TIBELL, L. Small subunit rDNA phylogeny shows the lichen families Caliciaceae and Physciaceae (Lecanorales, Ascomycotina) to form a monophyletic group. **Canadian Journal of Botany**, [s. l.], v. 78, n. 2, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1139/b99-185>. Acesso em: 30 abr. 2025.

WEDIN, M.; MAIER, S.; FERNÁNDEZ-BRIME, S.; CRONHOLM, B.; WESTBERG, M.; GRUBE, M. Microbiome change by symbiotic invasion in lichens. **Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 18, n. 5, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13032>. Acesso em: 30 abr. 2025.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

WOO, J.-J.; LÓKÖS, L.; FARKAS, E.; PARK, C.-H.; HUR, J.-S. *Cryptothecia austrocoreana* (Arthoniales, Arthoniaceae), a New Species from South Korea. **Mycobiology**, [s. l.], v. 45, n. 4, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.5941/myco.2017.45.4.338>. Acesso em: 28 abr. 2025.

XUE, J.; CAI, Y.; ZHANG, L. The Phylogeny and Taxonomy of *Cryptothecia* (Arthoniaceae, Ascomycota) and *Myriostigma* (Arthoniaceae, Ascomycota), including Three New Species and Two New Records from China. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 10, n. 4, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof10040274>. Acesso em: 28 abr. 2025.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

➤ CAPÍTULO 02

ARTIGO 02 - Caracterização metagenômica de um cianolíquen *Leptogium* do bioma Amazônia no estado do Maranhão

- **Situação:** a ser submetido
- **Revista:** *Scientific Data* (ISSN 2052-4463)
- **Impacto da Citação 2023**
 - Fator de Impacto do Periódico: 5,8
 - Fator de Impacto do Periódico de 5 anos: 8,9
 - Índice de imediatismo: 1,2
 - Pontuação de influência do artigo: 2,9



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Título: Caracterização metagenômica de um *Leptogium* cianolíquen do bioma Amazônia no estado do Maranhão

Autores

José Isaias Pimentel Barros¹, Anna Léticia Silva da Costa¹, Hivana Patricia Melo Barbosa Dall'Agnol¹, Tânia Keiko Shishido Joutsen², Jouko Rikkinen², Leonardo Teixeira Dall'Agnol¹.

Afilições

¹Universidade Federal do Maranhão, Brasil

²University of Helsinki, Finlândia

RESUMO

Este estudo apresenta a análise metagenômica de um cianolíquen coletado na Amazônia maranhense, com o objetivo de caracterizar a diversidade e funcionalidade microbiana associada. A amostra foi coletada em Anajatuba, MA, Brasil, durante o período de transição entre as estações chuvosa e seca. A amostra (ANA13), identificada como cianolíquen *Leptogium*, foi submetida a sequenciamento pela plataforma AVITI, com análises de qualidade, montagem e anotação funcional realizadas com ferramentas como metaSPAdes, Kaiju, GOTCHA2, Prokka, RASTtk, antiSMASH e fungiSMASH. O MAG01 apresentou 99,56% de completude e 3,59% de contaminação, com 8.649 sequências codificantes anotadas, associadas a múltiplas vias metabólicas. Foi identificado 218 agrupamentos de genes biossintéticos, sendo 102 bacterianos e 116 fúngicos, principalmente dos tipos NRPS, T1PKS e terpenos. As análises taxonômicas confirmaram a associação simbiótica entre o micobionte do gênero *Leptogium* e o fotobionte *Nostoc*, além de revelar uma comunidade microbiana altamente diversa e funcionalmente complexa. Os dados gerados contribuem para estudos sobre biodiversidade simbiótica, avaliação (meta)genômica de ecossistemas liquênicos tropicais e bioprospecção de metabólitos bioativos em ecossistemas amazônicos pouco investigados.

Palavras-chave: Agrupamentos gênicos, ecossistema liquênicos, fungos liquenizados, genômica.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

1. INTRODUÇÃO

Os líquens são organismos perenes que mantêm sua uniformidade ao longo do tempo e possuem uma ampla distribuição geográfica (são cosmopolitas e extremamente tolerantes). Podem ser encontrados em formações rochosas, troncos de árvores, solo, folhas e animais. Morfologicamente, devido à sua ocupação em diferentes habitats, apresentam diferentes tipos de talos e podem ser classificados como: crostoso, esquamuloso, dimórfico, filamentoso, fruticoso e folioso ¹⁻³.

O gênero *Leptogium* ocorre predominantemente em regiões temperadas e tropicais, desempenhando um papel importante na manutenção da saúde ecológica dos ecossistemas onde estão inseridos. As espécies do gênero apresentam funções ecológicas variadas, destacando-se, sobretudo, como bioindicadores da qualidade do ar, em virtude de sua sensibilidade à poluição atmosférica ^{4,5}. Do ponto de vista morfológico, as espécies de *Leptogium* são caracterizadas por apresentarem talo folioso, cuja forma e tamanho podem variar consideravelmente. Essas estruturas representam uma importante adaptação que favorece o estabelecimento e o sucesso ecológico da espécie em diferentes habitats, especialmente em superfícies de cascas de árvores, nas quais integra a comunidade epífita ⁴.

Estudos recentes revelaram descobertas notáveis, destacando a presença de agrupamentos de genes biossintéticos em líquens, que podem ser estudados para descobrir novos e possíveis produtos naturais de importância biotecnológica e comercial ⁶. Os clusters de genes biossintéticos (BCGs) são fundamentais para a produção de diversos metabólitos secundários em plantas e microrganismos, como peptídeos não ribossômicos (NRPs), policetídeos e terpenos. Esses clusters são compostos por múltiplos genes que codificam enzimas essenciais para a biossíntese desses compostos, permitindo a regulação coordenada das vias metabólicas envolvidas ⁷.

Nos últimos anos, a disponibilidade dos genomas de líquens tem proporcionado novas oportunidades para a pesquisa científica. Com o acesso a esses dados, estudos realizados foram capazes de identificar conjunto de genes biossintéticos específicos em fungos formadores de líquens, revelando a diversidade genética relacionada com o clima ⁸⁻¹¹.

A metagenômica emergiu como uma ferramenta poderosa para desvendar as intrincadas relações dentro das simbioses de líquens. Estudos demonstraram que a microbiota associada aos líquens desempenha um papel crucial na melhoria da saúde, do crescimento e da aptidão do



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

sistema simbiótico ¹². Ao empregar técnicas como sequenciamento de *amplicon*, a metagenômica com abordagem *in silico*, os pesquisadores são capazes de analisar as comunidades microbianas de líquens, revelando potenciais agrupamentos de genes biossintéticos responsáveis pela codificação de produtos naturais ⁶. Além disso, a análise metagenômica tem sido fundamental na montagem de genomas bacterianos a partir de metagenomas de líquens, fornecendo uma base para a compreensão dos papéis ecológicos dos simbiossistemas nos ecossistemas liquênicos ^{13,14}.

A diversidade e prevalência das comunidades microbianas associadas aos líquens evidenciam a necessidade de compreender seus papéis ecológicos, pois representam uma fonte inexplorada de metabólitos com potencial farmacêutico e industrial ⁶. O avanço do sequenciamento metagenômico de última geração permite caracterizar a diversidade microbiana em uma única amostra, otimizando análises e gerando dados relevantes sobre biodiversidade e funcionalidade, úteis também para estudos de conservação ¹⁵.

Apesar da ampla distribuição e relevância ecológica dos líquens, ainda são escassos os estudos voltados à sua caracterização genética, assim como, as investigações genômicas que enfoquem os simbiossistemas envolvidos nessa associação. Considerando sua importância como bioindicadores ambientais, bem como seu potencial biotecnológico, os ecossistemas liquênicos merecem maior atenção científica. Nesse contexto, as análises genômicas associadas, por meio de ferramentas de bioinformática, representa uma estratégia promissora para a compreensão das vias metabólicas e dos mecanismos funcionais que sustentam essa simbiose. Assim, o presente estudo tem como objetivo realizar uma análise metagenômica voltada à caracterização funcional e à diversidade de um cianolíquen oriundo da região da Amazônia maranhense.



2. MÉTODOS

2.1. Área de estudo

Esta pesquisa foi realizada no município de Anajatuba, localizado na Amazônia maranhense (Latitude: -3.26612, Longitude: -44.6145; 3° 15' 58" Sul, 44° 36' 52" Oeste). A coleta ocorreu em maio de 2024, período de transição entre a estação chuvosa e seca, quando há variações climáticas significativas.

O município de Anajatuba está localizado na porção norte do Estado do Maranhão, inserido na baixada ocidental maranhense, uma microrregião da Amazônia brasileira ¹⁶. O município apresenta uma área territorial de 940,489 km² ¹⁷ com um clima tropical semiúmido, e temperaturas médias variando entre 26°C e 28°C ao longo do ano. A precipitação média anual varia entre 1.200 e 1.500 mm, com a estação chuvosa ocorrendo de dezembro a maio ^{18,16}.

2.2. Coleta da amostra

Foi estabelecido pontos georreferenciados para a obtenção das amostras, utilizando GPS, possibilitando posteriormente localizar o local onde a amostra foi coletadas. Foi utilizadas ferramentas cortantes, estilete e espátulas para a coleta da amostra do troco da árvore ^{19,20}.

Ainda em campo, a amostra foi acondicionadas em sacos de papel estéreis ou sacos plásticos herméticos e etiquetada com informações detalhadas da coleta. Esses dados incluíram numeração, código da amostra e informações do local de coleta, como tipo de substrato, vegetação, coloração, condições climáticas e outros aspectos relevantes para o estudo. Em seguida, foi transportada para o Laboratório de Genética e Biologia Molecular (LabGeM) do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Maranhão (DeBio - UFMA). No laboratório, uma alíquota da amostra foi transferida para um Eppendorf de 1,5 mL e armazenada a -20°C para preservação do microbioma.

2.3. Caracterização morfológica dos microrganismos fotossintetizantes

Para a análise morfológica e identificação do fotobionte associado ao líquen, foi utilizada uma chave de identificação ²¹. Foi realizado cortes transversais do talo liquênico, que posteriormente foi analisado em microscópio. A identificação das estruturas dos fotobiontes foi



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

realizada por microscopia óptica, utilizando objetivas de 20×, 40× e 100×, com suporte de referências da literatura conforme ²² e ²¹.

2.4. Identificação do cianolíquen

A identificação dos líquens em nível de gênero, seguiu a metodologia tradicional da liquenologia taxonômica utilizando chaves dicotômicas específicas para cada grupo e bibliografia especializada^{19,23,24}. O processo contou com o apoio e colaboração de pesquisadores taxonomistas em líquens da Universidade de Helsinque, Finlândia, e da Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão (UEMASul).

A amostra foi analisada com auxílio de um microscópio estereoscópico, para melhor visualização das estruturas morfológicas e submetidas a testes químicos com os reagentes hidróxido de potássio (teste K) e hipoclorito de sódio (teste C) para distinção entre os espécimes coletados, conforme suas reações químicas ²⁵.

Por fim, as descrições obtidas foram comparadas com registros previamente publicados em bibliografias especializadas, garantindo a precisão da identificação ²⁴.

2.5. Caracterização da diversidade estrutural do ecossistema líquênico

A sequência de DNA escolhida para a análise metagenômica pertence à amostra “ANA13”, proveniente do município de Anajatuba, Maranhão, e refere-se a um cianolíquen do gênero *Leptogium*, previamente identificado por meio da metodologia taxonômica descrita anteriormente.

Para a realização da análise do microbioma ecossistema líquênico, a extração do DNA ocorreu no Laboratório de Genética e Biologia Molecular - LabGeM/UFMA utilizando o kit de extração DNeasy Plant Pro Kit (QIAGEN), de acordo com as instruções do fabricante. A quantificação do DNA foi obtida utilizando o Fluorômetro Quantus™ (Promega, FL, EUA), de acordo com as instruções do fabricante. O DNA obtido foi armazenado a -20 °C.

As amostras foram sequenciadas em parceria com a Universidade de Helsinque, Finlândia, pelo grupo de pesquisa DNA Sequencing and Genomics. As sequências do metagenoma foram obtidas através do sequenciador AVITI (<https://www.elementbiosciences.com/products/aviti>), as bibliotecas genômicas foram preparadas utilizando Nextera (Illumina).



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Antes de iniciar a análise das sequências, foi realizado o cálculo do MD5 (md5sum arquivo.zip) utilizando terminal de comando para o arquivo comprimido contendo as sequências R1 (forward, 5'-3') e R2 (reverse, 3'-5'), utilizado para verificar a integridade de arquivos, garantindo que não foram corrompidos durante a transferência ou armazenamento.

A qualidade das sequências foi avaliada com o FastQC v0.12 (<https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>). O FastQC fornece estatísticas detalhadas sobre os dados de sequenciamento, permitindo a verificação da qualidade das *reads* antes do processamento subsequente.

O pré-processamento das sequências foi realizado com o Trimmomatic v0.39. Foi realizada a remoção de adaptadores (ILLUMINACLIP:NexteraPE-PE.fa:2:30:10:2:TRUE), corte de bases com qualidade inferior a 3 nas extremidades (LEADING:3, TRAILING:3) e descarte de *reads* com menos de 36 pares de bases (MINLEN:36). O comando foi adaptado para indicar corretamente as sequências forward (5'-3') e reverse (3'-5'). O Trimmomatic executa a filtragem e o corte das *reads*, garantindo a remoção de bases de baixa qualidade e adaptadores, a fim de assegurar a alta qualidade das sequências analisadas ²⁶.

A montagem dos contigs foi realizada utilizando o metaSPAdes v4.0.0 no supercomputador PUHTI (<https://my.csc.fi/welcome>). O processo gerou um arquivo no formato FASTA, que foi renomeado para "new.contigs_ANA13.fasta" para facilitar a identificação do arquivo nas análises subsequentes. Essa ferramenta, especializada na montagem de genomas metagenômicos, é baseada no software SPAdes ²⁷.

As análises metagenômicas usando a montagem das sequências foram realizadas em servidores online, como o Galaxy.eu (<https://usegalaxy.eu/>) e o KBase (<https://www.kbase.us/about/>). O Galaxy é uma plataforma de bioinformática de código aberto que possibilita a análise e o gerenciamento de dados biológicos, com ênfase em genômica e metagenômica. Oferecendo um ambiente onde usuários podem realizar análises complexas sem a necessidade de programação ²⁸. O KBase (The U.S. Department of Energy Systems Biology Knowledgebase) é uma plataforma que integra diversas ferramentas e métodos em um único ambiente.

A identificação de BGCs de metabólitos secundários foi realizada com as ferramentas antiSMASH v8.0. O antiSMASH (Antibiotics and Secondary Metabolite Analysis Shell) possibilita a identificação e anotação automatizada de BGCs em genomas bacterianos e



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

fúngicos, permitindo a predição de classes de metabólitos secundários e suas possíveis funções (<https://antismash.secondarymetabolites.org/#!/start>). O antiSMASH clássico foi realizado para predições de BGCs para bactérias associadas ao líquen.

Para predição e anotação de genes de eucariotos foi utilizado o AUGUSTUS v3.4, um software amplamente utilizado para a predição e anotação de genes, permitindo a identificação de regiões codificantes ²⁹⁻³¹ (<https://bioinf.uni-greifswald.de/augustus/>). A anotação de genes foi realizada no AUGUSTUS utilizando o organismo modelo *Aspergillus nidulans* (fungo). Com os resultados do AUGUSTUS foi realizado o fungiSMASH para predições de BGCs para fungos associados ao líquen.

A qualidade da montagem das reads foi avaliada com as ferramentas QUAST v4.4, Compare Assembled Contig Distributions - v1.1.2. O QUAST (Quality Assessment Tool for Genome Assemblies) permite a análise da qualidade das montagens genômicas, auxiliando na identificação de problemas e na melhoria da precisão das análises ^{32,33}. O Assembled Contig Distributions fornece uma comparação detalhada e lado a lado de múltiplas montagens com base no comprimento e na distribuição do tamanho dos seus contigs ³⁴.

A análise taxonômica foi realizada com as ferramentas Kaiju v1.9.0 e o GOTCHA2 v2.1.7. O Kaiju utiliza um algoritmo de alinhamento para a classificação taxonômica de sequências metagenômicas, permitindo a rápida identificação de organismos presentes na amostra. Além de oferecer múltiplos bancos de dados de referência, incluindo RefSeq, proGenomes, NCBI BLAST nr, NCBI BLAST nr+euk, RVDB, entre outros ³⁵⁻³⁷. O GOTCHA2 permite a identificação e quantificação de unidades taxonômicas operacionais (OTUs) em dados metagenômicos, auxiliando na análise da biodiversidade microbiana ³⁸.

O *binning* foi realizada com as ferramentas MetaBAT2 v2.17, MaxBin2 v2.2.7 e CONCOCT v1.1.0, que permitem a reconstrução de genomas individuais a partir de dados metagenômicos. O MetaBAT2 utiliza a abundância genômica e a frequência de tetranucleotídeos para agrupar contigs de maneira probabilística ³⁹. O MaxBin2 emprega a composição de nucleotídeos e a abundância de contigs para formar bins, facilitando a recuperação de genomas completos ⁴⁰. Já o CONCOCT integra informações de cobertura e composição de nucleotídeos para classificar contigs em bins que representam organismos individuais na amostra ⁴¹. Para a comparação das ferramentas de montagem, foi utilizado genomas montados a partir de metagenomas (MAGs, do inglês metagenome-assembled



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

genomes), foi utilizada a ferramenta DAS Tool v1.1.2⁴²⁻⁴⁴. Essa ferramenta foi empregada para a filtragem dos MAGs, considerando um critério de completude mínima de 50% e um limite máximo de 5% de contaminação.

Para a análise de qualidade da montagem dos MAGs, foi utilizado o CheckM v1.0.18. O CheckM avalia a qualidade e integridade dos genomas, fornecendo métricas de completude e contaminação para estimar a confiabilidade das montagens⁴⁵.

2.6. Caracterização genômica do fotobionte associado ao líquen

Após o *binning* dos MAGs e a realização das análises de qualidade, foi selecionado o MAG01 do fotobionte com maior completude e menor contaminação para análises funcionais e identificação. Com base nas análises taxonômicas realizadas anteriormente, esse MAG01 foi identificado como pertencente ao gênero cianobacteriano *Nostoc*. Assim, foi renomeado como “*Nostoc* sp. MAG_Bin01” para melhor identificação nas análises subsequentes.

A análise de qualidade do MAG01 foi realizada com as ferramentas CheckM v1.0.18., BUSCO, QUAST v4.4 e o Compare Assembled Contig Distributions - v1.1.2. O BUSCO (Benchmarking Universal Single-Copy Orthologs) fornece uma avaliação quantitativa da completude em termos do conteúdo esperado de genes de uma montagem de genoma⁴⁶.

Para anotação do genoma foi utilizado a ferramenta Prokka v1.14.5 e o servidor RAST (Rapid Annotations using Subsystems Technology) (<https://rast.nmpdr.org/rast.cgi>). O Prokka é uma ferramenta de software para a anotação rápida de genomas procarióticos⁴⁷. O RAST é projetado para anotar genomas procarióticos completos ou quase completos (>97%) montados⁴⁸⁻⁵⁰. A identificação de BGCs de metabólitos secundários foi realizada com as ferramentas antiSMASH v8.0 na versão online.

Para atribuir classificações taxonômicas objetivas ao MAG01, foi utilizado as ferramentas do software GTDB-Tk v2.3.2. O GTDB-Tk é um kit de ferramentas desenvolvido para a classificação taxonômica de genomas bacterianos e arqueanos. A sequência analisada é inserida na árvore de espécies do GTDB, e o software gera tanto um dendrograma uniforme quanto uma versão com comprimentos de ramo ajustados com base na distância evolutiva^{42,51-55}.

Para a análise filogenômica do MAG01 foi utilizado servidor TYGS) (<https://tygs.dsmz.de/>). O Type (Strain) Genome Server (TYGS) é uma plataforma de última



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

geração para taxonomia baseada em genomas, proporcionando análises precisas e automatizadas para a classificação e identificação de microrganismos. A ferramenta compara genomas por meio de métodos avançados de inferência filogenética e filogenômica, com análise de similaridade, permitindo a determinação de relações taxonômicas entre cepas ^{56,57}.

Para a análise no TYGS, foi recuperado do NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) em formato Genbank 29 genomas do gênero *Nostoc* sp. de cepas associadas a fungos e plantas (15 plantas e 14 fungos), comparando-os ao MAG01 (*Nostoc* sp. MAG01) montado do metagenoma, totalizando 30 genomas analisados (**Tabela 1**).

A inferência filogenômica foi realizada com comparações pareadas entre os genomas utilizando a abordagem Genome BLAST Distance Phylogeny (GBDP), sob o algoritmo “trimming” e fórmula de distância d5 ⁵⁸. A árvore filogenômica foi construída com FastME 2.1.6.1 (Lefort, Desper & Gascuel, 2015) a partir das distâncias GBDP. Os comprimentos dos ramos foram dimensionados conforme a fórmula de distância GBDP d5, e os valores de suporte pseudo-bootstrap > 60% foram calculados a partir de 100 replicações, com um suporte médio de 95,7%. A árvore foi enraizada no ponto médio ⁵⁹ e visualizadas com PhyD3 ⁶⁰.

O cálculo da Average Nucleotide Identity (ANI) foi realizado utilizando o FastANI v0.1.3, uma ferramenta que permite a estimativa rápida e sem alinhamento da identidade nucleotídica entre genomas. Esse método foi empregado para avaliar a similaridade genômica entre o MAG01 e os genomas de referência, auxiliando na classificação taxonômica e identificação do organismo ^{55,61}. O cálculo do ANI foi executado com os 29 genomas listados na **tabela 1** comparando-os com o nosso MAG01.

Para a análise de hibridização entre os genomas, foi utilizado o Genome-to-Genome Distance Calculator (GGDC), uma ferramenta *in silico* que simula de forma confiável a hibridização DNA-DNA (DDH). Essa abordagem permitiu a comparação genômica e a determinação das relações taxonômicas entre os genomas analisados ^{62,63,57}. A análise de hibridização *in silico* foi executado com 29 genomas listados na **tabela 1** comparando-os com o nosso MAG01.

As distâncias entre os genomas foi inferida utilizando três fórmulas distintas, baseadas nos HSPs MUMs (segmentos homólogos máximos únicos) obtidos pela comparação de cada par de genomas. Essas distâncias foram então convertidas em valores equivalentes ao DNA-DNA Hybridization (DDH) por meio de um modelo linear generalizado (GLM), calibrado com

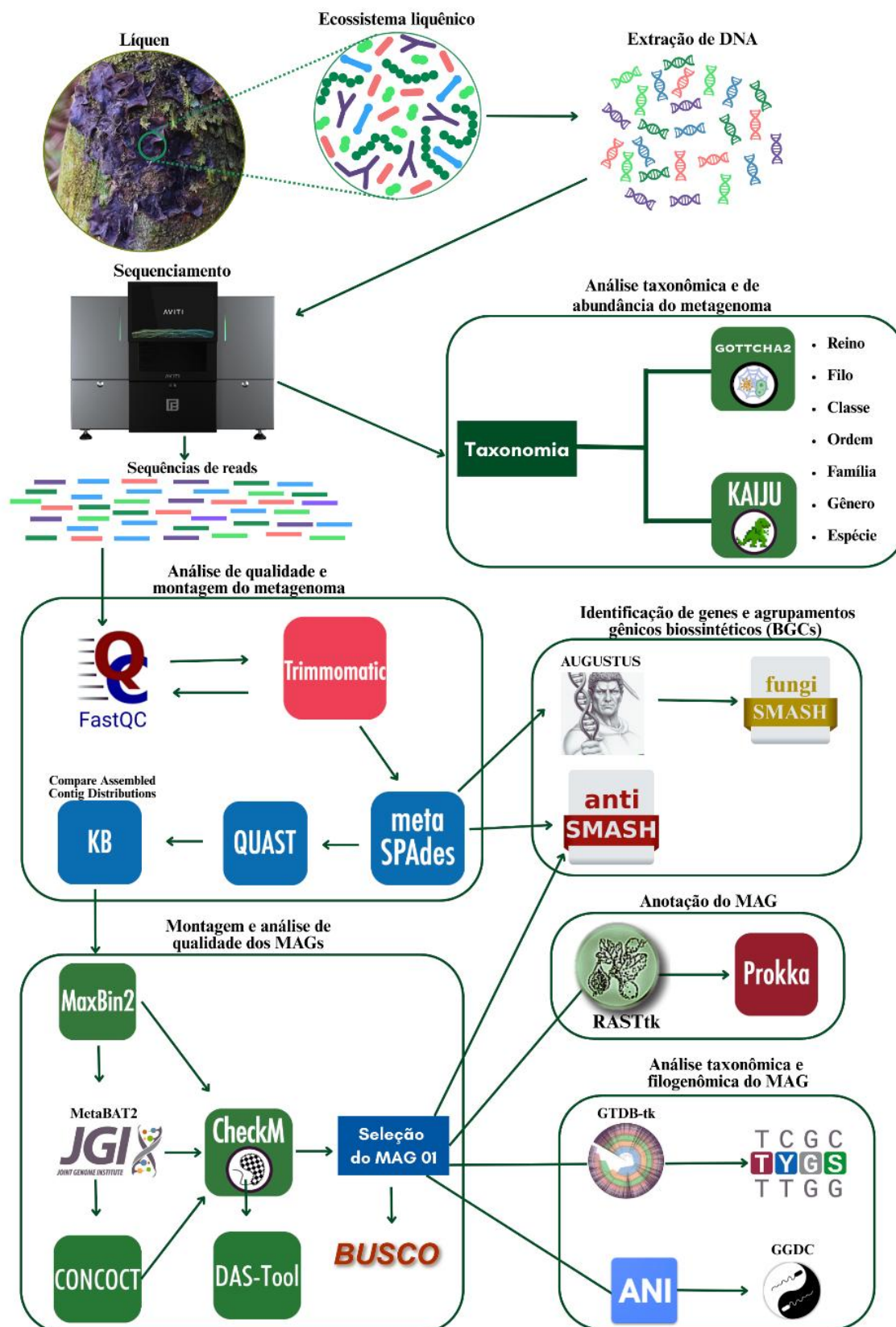


PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

dados de referência empíricos que incluem valores reais de DDH e sequências genômicas^{62,63,57}.

Os intervalos de confiança foram estimados tanto por um modelo estatístico quanto por bootstrapping, garantindo maior precisão na análise. Para avaliar a delimitação de espécies, foi aplicada regressão logística, um tipo especial de GLM, que calculou as probabilidades de os valores de DDH serem $\geq 70\%$ (limite para definição de mesma espécie) e $\geq 79\%$ (limite para subespécies). Além disso, o conteúdo de G+C foi analisado, considerando que dentro de uma mesma espécie essa variação não pode ultrapassar 1%, enquanto entre espécies distintas a diferença pode ser de até 1%^{62,63,57}.

Figura 1. Fluxograma de trabalho, processamento de dados do metagenoma





UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Tabela 1. Lista de genomas de *Nostoc spp.* disponíveis no GenBank, categorizados de acordo com sua associação ecológica. A tabela apresenta o ID GenBank, o Bioproject correspondente, a classificação taxonômica e a associação do organismo (fungo ou planta).

ID Genbank	Bioproject	Taxonomia	Associação
GCA_002245975.1	PRJNA389200	<i>Nostoc sp. 'Peltigera membranacea cyanobiont'</i> 213	Fungos
GCA_002246015.1	PRJNA389199	<i>Nostoc sp. 'Peltigera membranacea cyanobiont'</i> 210A	Fungos
GCA_002949795.1	PRJNA275880	<i>Nostoc sp. Lobaria pulmonaria</i> (5183) cyanobiont'	Fungos
GCA_003326195.1	PRJNA319602	<i>Nostoc punctiforme</i> NIES-2108	Fungos
GCA_017114945.1	PRJNA616181	<i>Nostoc sp. JL34</i>	Fungos
GCA_017114985.1	PRJNA616181	<i>Nostoc sp. JL33</i>	Fungos
GCA_017114995.1	PRJNA616181	<i>Nostoc sp. NMS9</i>	Fungos
GCA_017115025.1	PRJNA616181	<i>Nostoc sp. NOS(2021)</i>	Fungos
GCA_017115045.1	PRJNA616181	<i>Nostoc sp. NMS8</i>	Fungos
GCA_017115085.1	PRJNA616181	<i>Nostoc sp. NMS7</i>	Fungos
GCA_017115095.1	PRJNA616181	<i>Nostoc sp. NMS4</i>	Fungos
GCA_017115105.1	PRJNA616181	<i>Nostoc sp. NMS2</i>	Fungos
GCA_017115165.1	PRJNA256476	<i>Nostoc sp. LPT</i>	Fungos
GCA_028623165.1	PRJNA930330	<i>Nostoc sp. UHCC 0926</i>	Fungos
GCA_014697355.1	SAMN13702707	<i>Nostoc calcicola</i> FACHB-3891	Plantas
GCA_000020025.1	PRJNA216	<i>Nostoc punctiforme</i> PCC 73102	Plantas
GCA_000196515.1	PRJNA30807	<i>Nostoc azollae</i> 708	Plantas
GCA_001712795.1	PRJNA310825	<i>Nostoc sp. KVJ20</i>	Plantas
GCA_002154695.1	PRJNA360300	<i>Nostoc sp. T09</i>	Plantas
GCA_002154725.1	PRJNA360305	<i>Nostoc sp. 106C</i>	Plantas
GCA_005869855.1	PRJNA540319	<i>Nostoc sp. PA-18-2419</i> (JC1668)	Plantas
GCA_013343235.1	PRJNA534312	<i>Nostoc sp. TCL240-02</i>	Plantas
GCA_013393905.1	PRJNA534312	<i>Nostoc sp. C052</i>	Plantas
GCA_013393925.1	PRJNA534312	<i>Nostoc sp. C057</i>	Plantas
GCA_013393945.1	PRJNA534312	<i>Nostoc sp. TCL26-01</i>	Plantas
GCA_014222255.1	PRJNA591939	<i>Nostoc sp. UCD120</i>	Plantas
GCA_015206895.1	PRJNA667061	<i>Nostoc sp. LEGE 12450</i>	Plantas
GCA_015206945.1	PRJNA667061	<i>Nostoc sp. LEGE 12447</i>	Plantas
GCA_026127265.1	PRJNA388731	<i>Nostoc sp. KVJ3</i>	Plantas

3. RESULTADO E DISCUSSÃO

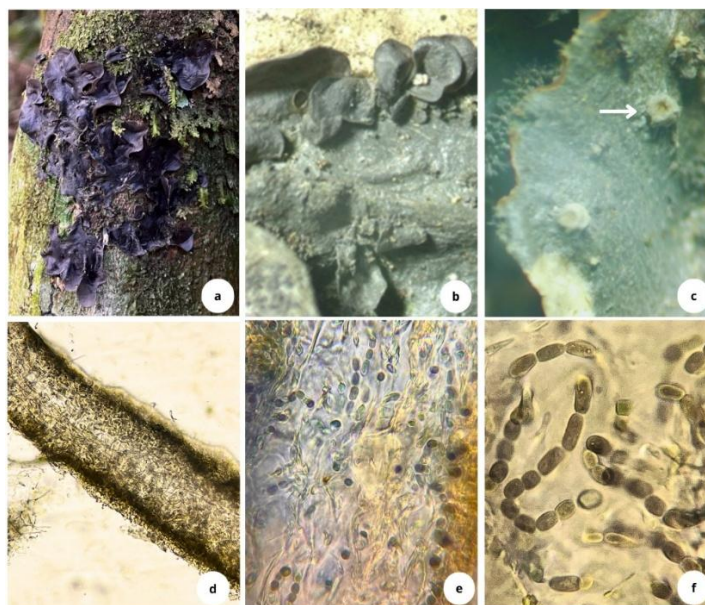
A análise morfológica da amostra ANA13 permitiu a identificação do líquen em nível de gênero como pertencente ao gênero *Leptogium*, com base nas características do talo e estruturas associadas, observadas por meio de microscopia óptica e estereoscópica (**Figura 2**).

A morfologia do talo, de aspecto folioso, com coloração negro quando observado na lupa, com apotécios, composto por grânulos, sendo compatível com espécies do gênero *Leptogium*^{24,64} (**Figura 2**). Os testes químicos com os reagentes hidróxido de potássio (K) e hipoclorito de sódio (C) foram aplicados, mas não apresentaram reações visíveis.

A análise microscópica dos cortes transversais revelou a organização típica do talo líquênico, incluindo a presença de uma camada de hifas fúngicas e a camada de células fotossintéticas (Flores; Herrero, 2010). A observação em objetiva de 100× possibilitou a identificação do fotobionte como pertencente ao gênero *Nostoc*, uma cianobactéria filamentosa com células globosas organizadas em cadeias, característica marcante desse grupo (**Figura 2**)

65.

Figura 2. Identificação do micobionte *Leptogium* e do fotobionte *Nostoc* na amostra ANA13 sequenciada. **(a)** Imagem macroscópica do cianolíquen *Leptogium* colonizando o tronco de uma árvore. **(b)** Córtex superior do líquen observado em lupa. **(c)** Identificação de apotécios (seta branca) observado em lupa. **(d)** Corte transversal observado em microscópio óptico com aumento de 20×. **(e)** Corte transversal detalhado sob microscópio óptico com aumento de 40×. **(f)** Imagem do fotobionte *Nostoc* em conte transversal sob microscópio óptico com aumento de 100×.





PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

A associação simbiótica entre *Leptogium* e *Nostoc* representa uma relação mutualística marcante no contexto biológico, particularmente no âmbito da simbiose líquênica. *Leptogium*, pertencente à família Collemataceae, abriga comumente a cianobactéria *Nostoc*, reconhecida por sua notável capacidade de fixação biológica de nitrogênio^{66,67}. Enquanto o *Leptogium* se beneficia do nitrogênio fixado por *Nostoc*, essencial para o seu metabolismo em ambientes com baixos níveis de nutrientes, a cianobactéria, por sua vez, encontra no fungo hospedeiro um ambiente protegido e acesso a recursos fotônicos indispensáveis à sua fotossíntese^{68–70}.

A partir das sequências genômicas obtidas através do sequenciamento, foi realizada uma análise inicial de qualidade utilizando a ferramenta FastQC. Os resultados indicaram a presença de adaptadores introduzidos durante o processo de preparação das bibliotecas de sequenciamento, permitindo a identificação precisa dessas sequências nos dados brutos. Posteriormente, foi realizada a remoção dessas sequências indesejadas, etapa essencial para o aprimoramento da qualidade dos dados e para garantir maior confiabilidade nas análises subsequentes. A utilização do Trimmomatic permitiu a remoção de todos os adaptadores inseridos durante o sequenciamento identificados pelo FastQC (**Figura S1**).

O processamento gerou os seguintes resultados: um total de 71.258.637 pares de *reads* de entrada, das quais 71.219.409 (99,94%) mantiveram ambas as sequências, que foram então utilizadas para a montagem. Os resultados indicam que a grande maioria das *reads* manteve alta qualidade após o processamento, com uma taxa de descarte mínima. A execução foi concluída com sucesso, garantindo que os dados processados estão prontos para as próximas etapas da análise.

A segunda análise do FastQC indicou que as avaliações de qualidade para a remoção dos adaptadores foram realizadas com sucesso, confirmando que os adaptadores foram adequadamente removidos. Após o trimming, 9.913 *reads* (0,01%) resultando em dados de maior qualidade para as etapas subsequentes da análise.

O metaSPAdes gerou com sucesso o arquivo da montagem do metagenoma (assembly) em formato contigs.fasta, que contém as *reads* resultantes da montagem do metagenoma da amostra ANA13. Esse arquivo FASTA representa a sequência agrupada das *reads* brutas, permitindo a análise subsequente de genes e outras características genéticas dos organismos presentes. O arquivo "new.contigs_ANA13.fasta" foi utilizado como base para análises



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

adicionais, como a anotação genômica e a caracterização dos organismos presentes no metagenoma.

A avaliação do MAG gerado a partir do conjunto de dados da amostra ANA13 foi realizada por meio das ferramentas QUAST e Assembled Contig Distributions, fornecendo uma visão abrangente da qualidade e da estrutura dos contigs montados. A montagem resultou em 284.665 contigs, evidenciando uma alta fragmentação do metagenoma. Destes, 66.657 contigs possuem tamanho igual ou superior a 1.000 pb, e apenas 1.678 contigs ultrapassam 10.000 pb. A presença de apenas 15 contigs com mais de 100.000 pb e a completa ausência de contigs com mais de 1.000.000 pb, o que é comum em metagenomas ambientais altamente complexos (**Tabela 2**)^{71,72}.

O comprimento total da montagem foi de aproximadamente 296,8 Mbp, com grande parte desse valor concentrado em contigs entre 1.000 e 10.000 pb, conforme indicado pela soma dos comprimentos dos contigs ≥ 1.000 pb (153.021.518 pb) e ≥ 10.000 pb (37.369.639 pb). O maior contig individual tem 182.283 pb, representando um fragmento substancial, mas ainda insuficiente para cobrir um genoma completo.

As estatísticas, especialmente os valores de N50 (1.034 pb) e N75 (662 pb), são indicativos de que a maioria dos contigs é curta. A necessidade de 62.122 contigs (L50) para atingir 50% do comprimento total da montagem, e 154.067 contigs (L75) para cobrir 75%, reforça a alta quantidade de fragmentos curtos. A ferramenta Assembled Contig Distributions também evidencia que 90% do total da montagem provém de contigs com comprimento igual ou superior a 552 pb (N90), reforçando o predomínio de fragmentos curtos.

O conteúdo de GC de 64,2% aponta para uma diversidade genômica substancial, refletindo possivelmente a presença de uma variedade de organismos com distintas características genéticas na amostra analisada (**Tabela 2**)

Tabela 2: Resultados da análise do metagenoma com a ferramenta QUAST e Assembled Contig Distributions do metagenoma através do Kbase.

Estatísticas	
Métricas	Valores
# contigs (total)	284.665
# contigs (≥ 0 bp)	284.665
# contigs (≥ 1.000 bp)	66.657



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

# contigs (≥ 10.000 bp)	1.678
# contigs (≥ 100.000 bp)	15
# contigs ($\geq 1.000.000$ bp)	0
Maior contig	182.283
Comprimento total (≥ 0 bp)	296.824.921
Comprimento total (≥ 1.000 bp)	153.021.518
Comprimento total (≥ 10.000 bp)	37.369.639
Comprimento total (≥ 100.000 bp)	1.832.403
Comprimento total ($\geq 1.000.000$ bp)	0
N50	1.034
N75	662
N90	552
L50	62.122
L75	154.067
L90	228.043
GC (%)	64,2
# N's	0

A utilização conjunta do QUAST e do Assembled Contig Distributions na análise da qualidade da montagem possibilitou uma avaliação mais detalhada da montagem metagenômica, permitindo a confirmação dos dados estatísticos obtidos. O QUAST fornece as métricas quantitativas essenciais para avaliar a fragmentação e a diversidade dos contigs, enquanto a Assembled Contig Distributions oferece uma visão detalhada da distribuição do tamanho dos contigs. Assim, essas duas ferramentas se complementam de forma eficaz, fornecendo uma avaliação abrangente da qualidade da montagem e identificando áreas potenciais para melhorias.

A análise com o objetivo de identificar clusters gênicos biossintéticos (BGCs) do antiSMASH para bactérias identificou 102 BGCs, sendo as mais abundantes: Poliquetideo sintase não ribossomal - NRPS (31), enzimas semelhantes à sintetase peptídica não ribossômica (NRPS) - NRPS-like (25), sintases de policetideo Tipo I - T1PKS (15) e Terpenos (nove), entre outros BCGs descritos na **Tabela 3**. Os resultados completos estão descritos na **Tabela S1**.

A anotação genes para eucariotos gerada com o AUGUSTUS foi utilizada como entrada para a ferramenta fungiSMASH, para identificar BGCs em sequências pertencentes a fungos. Esta análise revelou um total de 116 BGCs, evidenciando a ampla diversidade metabólica presente no metagenoma analisado. Entre os principais tipos de BGCs identificados, destacam-se T1PKS (34), NRPS (25), NRPS-like (18), Terpenos (14) e RiPP-like (Dez). Outros tipos de



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

BGCs também foram encontrados e estão detalhados na **Tabela 3**, enquanto os resultados completos podem ser consultados na **Tabela S2**.

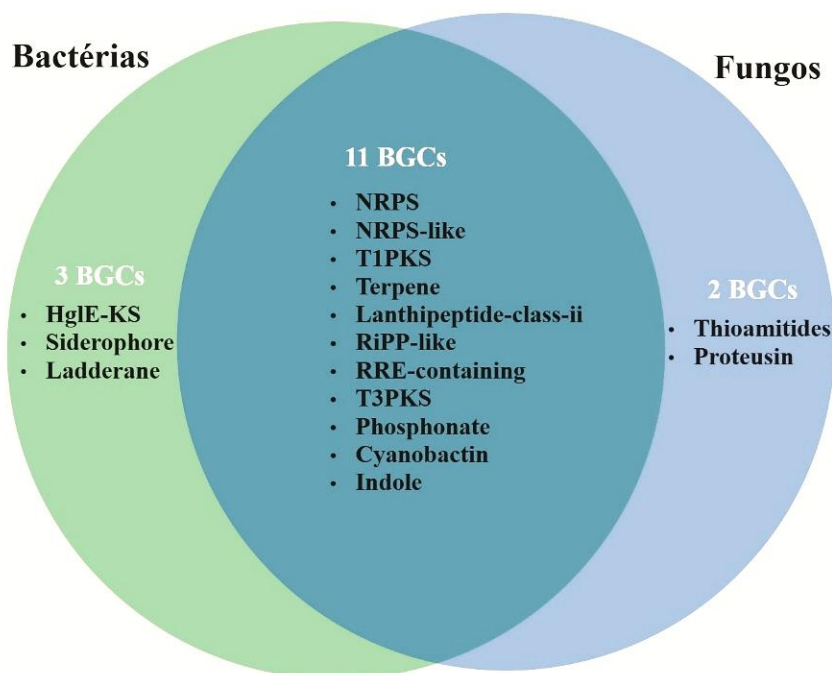
Tabela 3: Tipos de BGCS identificados pelo antiSMASH Clássico (Bactérias) e fungiSMASH (Fungos).

Bactéria		Fungo	
Tipo de BGC	Quantidade de BGC	Tipo de BGC	Quantidade de BGC
NRPS	31	T1PKS	34
NRPS-Like	25	NRPS	25
T1PKS	15	NRPS-Like	18
Terpene	9	Terpene	14
Lanthipeptide-Class-Ii	5	RIPP-Like	10
RIPP-Like	3	RRE-Containing	4
Hgle-KS	3	Thioamitides	2
T3PKS	2	Phosphonate	2
Phosphonate	2	Lanthipeptide-Class-Ii	2
Cyanobactin	2	T3PKS	1
Siderophore	1	Proteusin	1
RRE-Containing	1	Indole	1
Ladderane	1	Cyanobactin	1
Indole	1	Other	1
Other	1		

A análise comparativa dos agrupamentos gênicos biossintéticos (BGCs) entre bactérias e fungos revelou a presença de 16 tipos distintos, dos quais 11 são compartilhados entre ambos os grupos. Entre os BGCs compartilhados, destacam-se os do tipo NRPS, NRPS-like, T1PKS, terpeno, lantipeptídeo classe II, RiPP-like, RRE-containing e T3PKS, dentre outros com menores descrições (**Figura 3**).

Além disso, foi identificado três agrupamentos gênicos biossintéticos exclusivos de bactérias (Hgle-Cetossintase, Sideróforo e Ladderano) e dois exclusivos de fungos (Tioamitídeos e Proteusina). O diagrama de Venn gerado a partir desses dados ilustra visualmente essa distribuição, demonstrando a maior sobreposição entre os BGCs bacterianos e fúngicos, ao mesmo tempo que destaca os agrupamentos exclusivos de cada domínio (**Figura 3**).

Figura 3. Diagrama de Venn representando a distribuição dos agrupamentos gênicos biossintéticos (BGCs) entre bactérias e fungos. A interseção entre os conjuntos indica os 11 tipos de BGCs compartilhados por ambos os grupos, os três BGCs exclusivos de bactérias e os dois exclusivos de fungos.



A produção de metabólitos secundários por micro-organismos é uma característica amplamente explorada na biotecnologia devido à sua grande diversidade estrutural e funcional. Compostos como antibióticos, pigmentos, toxinas e agentes antifúngicos são frequentemente produzidos por vias biossintéticas específicas, especialmente em fungos e bactérias.

A análise das regiões biossintéticas previstas pelo antiSMASH identificou diversos compostos produzidos por fungos, bactérias ou por ambos (**Tabela 4**). Algumas regiões são compartilhadas entre fungos e bactérias, como as associadas à produção de anabaenopeptina, nostamida A, geosmina, naftopirona e rizomida. Esses compostos estão ligados principalmente a vias NRPS e T1PKS, que são comuns em ambos os grupos e responsáveis pela produção de metabólitos bioativos com possíveis funções ecológicas.

As regiões exclusivas de bactérias revelaram compostos como melanina, bicornutinas, monascorubrina, piranonigrina E e xenematida, todos produzidos por vias NRPS ou T1PKS. Esses metabólitos têm funções como proteção contra estresse ambiental ou ação antimicrobiana.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Nos fungos, foi identificado duas regiões exclusivas: uma relacionada à produção de 1,3,6,8-tetrahydroxynaphthalene, envolvido na biossíntese de melanina, e outra ligada à aculeacina A, um composto com atividade antifúngica.

Tabela 4. Metabólitos Secundários mais conhecidos identificados em fungos e bactérias por antiSMASH

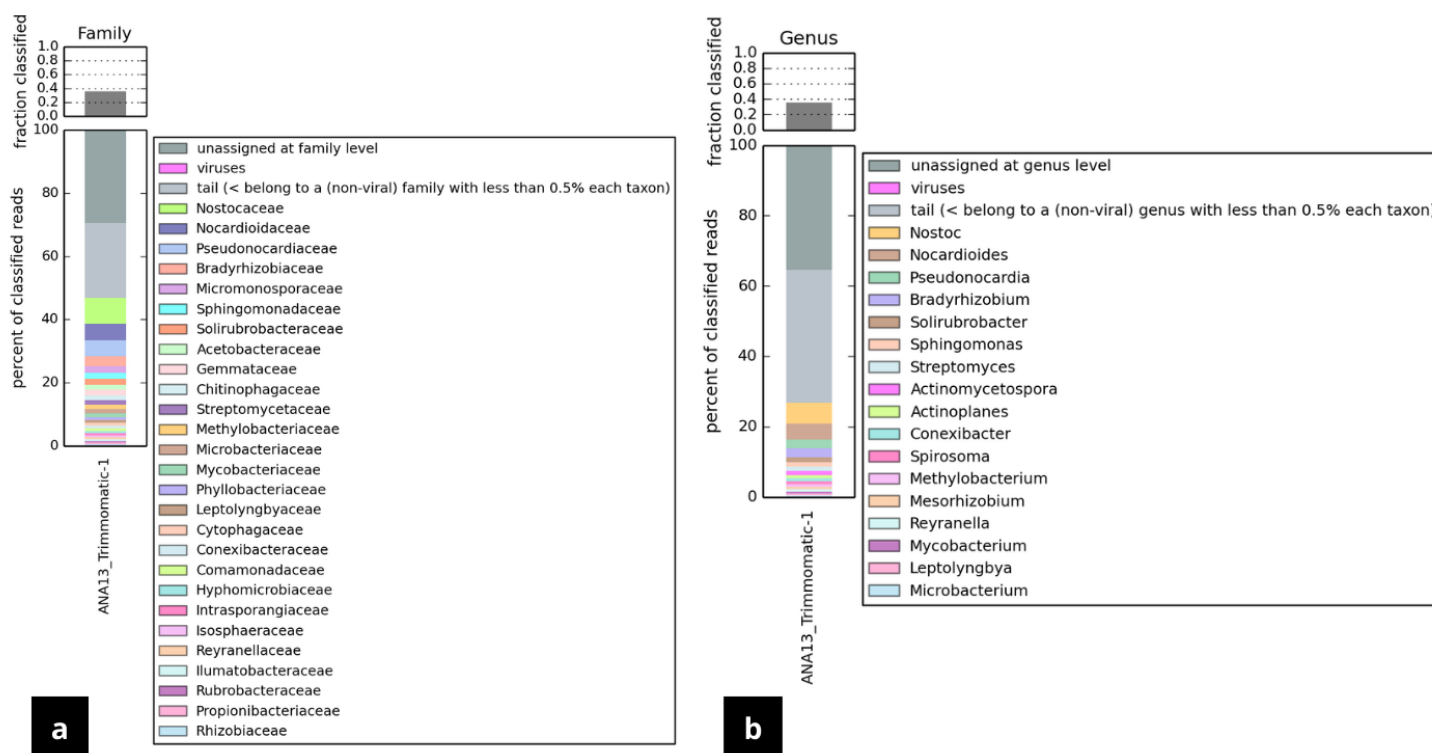
Organismos	Regiões	BGC	Cluster biossintético conhecido mais semelhante
Fungos e Bactérias	Region 2122.1	NRPS	Anabaenopeptin NZ857 / Nostamide A
	Region 248.1	terpene	Geosmin
	Region 2080.1	T1PKS	Naphthopyrone
	Region 17822.1	NRPS	Rhizomide A / Rhizomide B / Rhizomide C
Exclusivos de bactérias	Region 5047.1	T1PKS	Melanin
	Region 20352.1	NRPS	Bicornutin A1 / Bicornutin A2
	Region 1936.1	T1PKS	Monascorubrin
	Region 2851.1	T1PKS	Pyranonigrin E
	Region 12458.1	NRPS	Xenematide
Exclusivos de fungos	Region 3623.1	T1PKS	1,3,6,8-tetrahydroxynaphthalene
	Region 2057.1	NRPS-like	Aculeacin A

A análise da composição taxonômica da amostra, realizada por meio da ferramenta Kaiju utilizando o banco de dados NCBI BLAST nr+euk, revelou uma diversidade significativa de espécies microbianas. Em comparação com outros bancos de dados disponíveis na ferramenta, este demonstrou maior sensibilidade na identificação de diferentes grupos taxonômicos. Dentre os organismos detectados, destacam-se bactérias pertencentes a diversos filos e classes, com relevância ecológica e alta abundância na amostra analisada. Entre as famílias bacterianas mais representativas, destacam-se Nostocaceae, Nocardioideae e Micromonosporaceae (**Figura 4a**). A família Nostocaceae, pertencente às cianobactérias, é bastante conhecida devido à sua capacidade de fixação de nitrogênio e ampla distribuição em ambientes aquáticos e terrestres ⁷³. Dentro da classe Actinobacteria, as famílias Nocardioideae e Micromonosporaceae foram as mais abundantes, ambas reconhecidas por seu potencial biotecnológico, especialmente na produção de compostos bioativos ^{74,75}.

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

A nível de gênero, *Nostoc* foi um dos grupos mais abundantes, destacando a importância das cianobactérias na amostra analisada, seguido pelo gênero *Nocardioides* (**Figura 4b**). *Nostoc* e *Nocardioides* são dois gêneros bacterianos distintos, ambos com papéis ecológicos significativos, especialmente nas interações entre solo e planta ⁷⁶⁻⁷⁸. *Nostoc*, um gênero de cianobactéria, é reconhecido por sua capacidade de fixar nitrogênio atmosférico, essencial para o ciclo do nitrogênio ^{79,80}. Já *Nocardioides*, pertencente ao filo Actinobacteria, é conhecido por suas diversas capacidades metabólicas, incluindo a degradação de poluentes ambientais, desempenhando um papel importante na biorremediação ^{77,81} (**Figura 4**).

Figura 4. Análise da composição taxonômica da amostra utilizando Kaiju NCBI BLAST nr+euk: principais famílias, gêneros e espécies identificadas.



A avaliação taxonômica, com base no gráfico do Krona, revelou que as bactérias correspondem a 96% da composição total da amostra, enquanto os organismos eucarióticos representam 4%. Dentro de Eukariota, o grupo monofilético Opisthokonta, que inclui o reino Fungi, constituindo 100% da fração eucariótica.

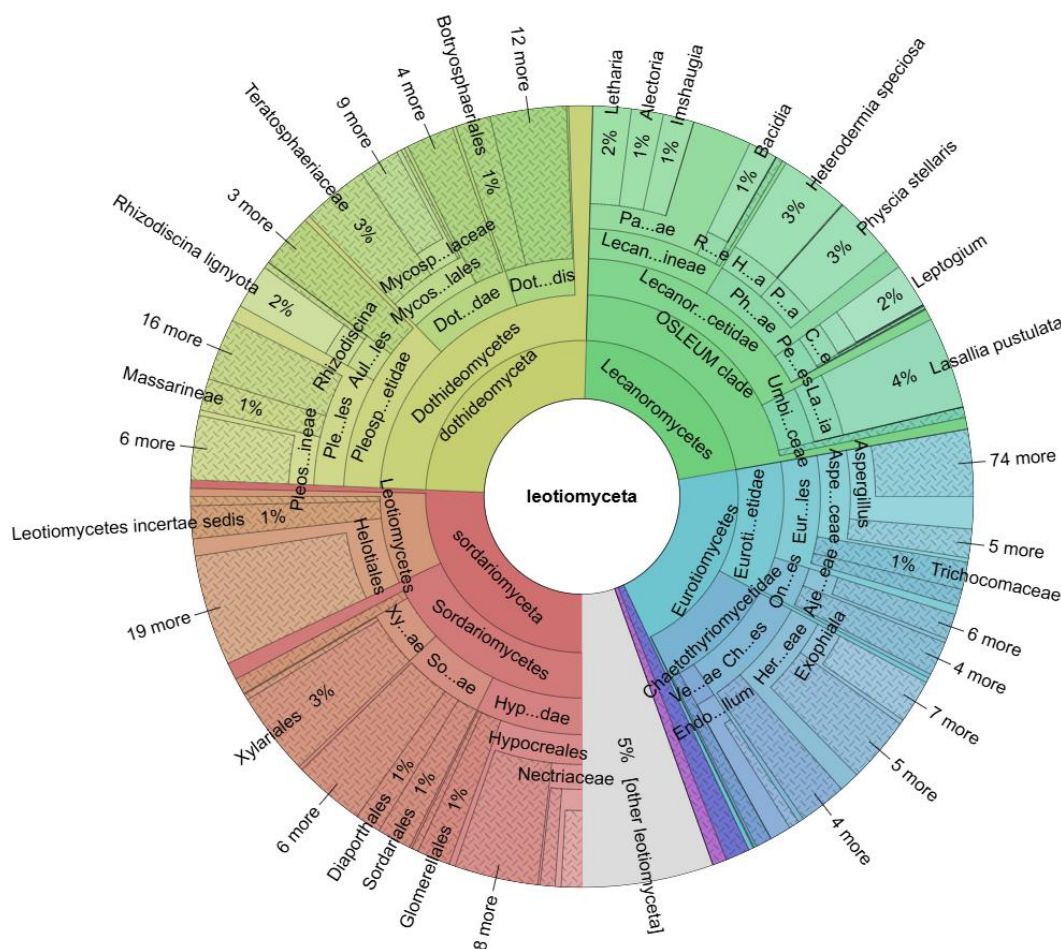
Esse resultado provavelmente reflete uma combinação de fatores técnicos e biológicos. A extração de DNA pode ter sido mais eficiente para bactérias, já que células fúngicas possuem

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

paredes celulares mais espessas e difíceis de romper. Além disso, os bancos de dados utilizados pelas ferramentas de anotação, como o Kaiju, podem ser mais eficientes para organismos procarióticos, o que pode ter favorecido a identificação de sequências bacterianas em comparação com as fúngicas. Também podemos considerar a abundância de bactérias associadas ao fungo, como parte de uma microbiota simbiótica ou contaminante, tenham contribuído para esse perfil. Assim, embora se esperasse uma maior representação fúngica, os resultados refletem limitações metodológicas e características próprias da amostra analisada.

No nível taxonômico, o reino fungi representa 98% das sequências, com Dikária compondo 95%. Dentro do filo Ascomycota, que representa 100% dos fungos identificados, os subfilos Saccharomyceta e Pezizomycotina correspondem a 99% e 98%, respectivamente. No clado Leotiomyceta, foi identificada as seguintes classes: Sordariomycetes (26%), Dothideomycetes (25%), Lecanoromycetes (22%) e Eurotiomycetes (21%) (**Figura 5**).

Figura 5. Kaiju utilizando o banco de dados NCBI BLAST nr+euk, visualizados pelo Krona





PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Os Sordariomycetes estão amplamente relacionados ao estilo de vida saprótrico, desempenhando um papel fundamental na decomposição de matéria orgânica e na formação de biomassa no solo. Identificados como endófitos saprotróficos e micoparasitas, contribuindo para a saúde das plantas e a dinâmica do solo ^{82,83}. Sua presença em ecossistemas liquênicos, embora limitada em comparação com outras classes formadoras de líquens, aponta para uma relação evolutiva intrigante onde certos membros podem participar de várias estratégias tróficas, incluindo a liquenização como adaptação secundária ^{84,85}.

Os fungos da classe Dothideomycetes são altamente diversificados, incluindo membros associados a líquens. Destaca-se a ordem Capnodiales, cujos representantes atuam como organismos endolíquênicos ou liquenícolas, contribuindo para a estrutura e função dos líquens ⁸⁶⁻⁸⁸. A presença de Dothideomycetes nos micobiomas liquênicos indica que esse grupo inclui tanto fungos não liquenizados quanto linhagens com características liquenizadas. Estudos filogenéticos mostram que Dothideomycetes e Arthoniomycetes contêm táxons envolvidos em múltiplas associações simbióticas, com estilos de vida liquenizados e não liquenizados ⁸⁹.

Os Lecanoromycetes estão majoritariamente associados à formação de líquens, abrangendo a maioria dos fungos liquenizados. Esses organismos apresentam estratégias adaptativas que lhes permitem prosperar em diversos ambientes, desde florestas temperadas até regiões extremas, como a Antártica, onde demonstram tolerância ao congelamento e mantêm a atividade fotossintética em condições de baixa temperatura ⁹⁰.

Estudos indicam que os Lecanoromycetes frequentemente interagem com outras classes de fungos, como Dothideomycetes, estabelecendo relações ecológicas complexas dentro dos líquens ^{90,91,14}. Além disso, esses fungos coexistem com diversos táxons liquenícolas e endolíquênicos, que podem influenciar a saúde nos ecossistemas liquênicos ^{90,91,14}.

Estudo metagenômico recente identificou a classe Eurotiomycetes nos ecossistemas de líquens ¹⁴. Além disso, os autores demonstraram que uma parte substancial dos genomas fúngicos isolados de líquens pertence a linhagens bem estabelecidas de fungos liquenizados, incluindo Eurotiomycetes entre esses táxons. Esses achados ressaltam a importância ecológica dos Eurotiomycetes nos ecossistemas liquênicos, juntamente com outras classes, como Dothideomycetes, Lecanoromycetes e Basidiomycetes, que também contribuem para a diversificação desses ecossistemas ^{14,92}.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Nossos resultados indicam que essas classes de fungos formam um táxon associado a líquens, com destaque para: Lecanoromycetes, Eurotiomycetes e Dothideomycetes. Entre elas, Lecanoromycetes se destaca por incluir a maioria dos fungos formadores de líquens. A identificação dessas classes na análise taxonômica do metagenoma permitiu inferir que 68% da amostra dentro do reino Fungi, pode ser representada por fungos formadores de líquens, consolidando esse táxon dentro do clado Leotiomyceta, onde essas classes estão distribuídas.

Técnicas moleculares, incluindo metagenômica e sequenciamento de DNA de nova geração, têm sido fundamentais para elucidar a diversidade de comunidades fúngicas dentro dos ecossistemas liquênicos. Por exemplo, estudos relataram a prevalência de várias classes de fungos em Lecanoromycetes em habitats específicos, revelando que certos clados, incluindo Leotiomycetes e Dothideomycetes, são comumente associados ao talo de líquen^{90,14}.

Para inferir a taxonomia do micobionte por meio da ferramenta Kaiju, foi necessário utilizar o banco de dados NCBI BLAST nr+euk, já integrado à ferramenta. Anteriormente, a análise taxonômica do metagenoma revelou quatro classes principais de fungos liquenizados dentro do reino Fungi. Dentre elas, a classe Lecanoromycetes se destacou, com a subclasse Lecanoromycetidae representando 78% das subclasses identificadas (**Figura 6a**).

Dentro dessa subclasse, identificou-se a ordem Peltigerales (12%), enquanto a família Collemataceae, com 97% de abundância, apresentou a maior representatividade. Dentro dessa família, o gênero *Leptogium* foi predominante, com 99% de abundância (**Figura 6b**).

Utilizando a mesma abordagem para a identificação do fotobionte associado ao cianolíquen *Leptogium*, analisou-se a composição dos organismos celulares presentes na amostra. Os resultados indicaram que as bactérias correspondem a 96% da abundância total, com o grupo Terrabacteria representando 54% da composição bacteriana.

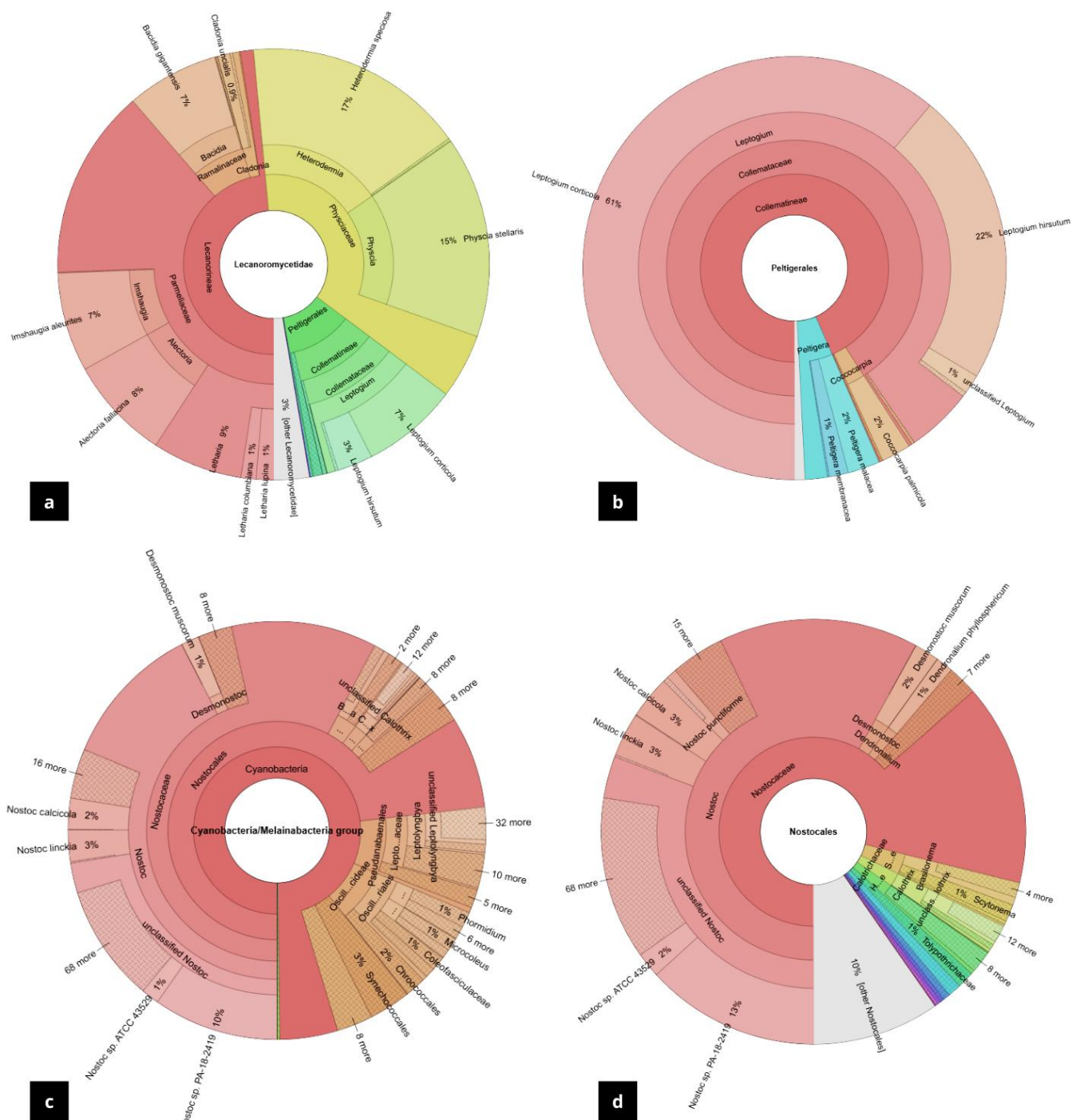
Entre os filos bacterianos mais abundantes, destacaram-se Actinobacteria (66%), Cyanobacteria (27%) e Chloroflexi (5%), além de outros grupos com menor representatividade. Dentro do filo Cyanobacteria, a ordem Nostocales foi predominante, representando 73% das ordens identificadas nesse grupo (**Figura 6c**).

Na família Nostocaceae, que compreendeu 79% das sequências dentro da ordem Nostocales, identificou-se o gênero *Nostoc* como o mais abundante, com 74% de representatividade. Esse resultado sugere que *Nostoc* é o principal fotobionte associado ao

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

cianolíquen *Leptogium* na amostra analisada, através da análise taxonômica realizadas pelo Kaiju (Figura 6d).

Figura 6. Kaiju utilizando o banco de dados NCBI BLAST nr+euk, visualizados pelo Krona





PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

O gênero *Nostoc* engloba uma gama diversificada de cianobactérias que exibem relações simbióticas cruciais, particularmente com membros do gênero fúngico *Leptogium*, que está frequentemente envolvido em associações de líquens. Estudos têm demonstrado que as espécies de *Nostoc* são reconhecidas como fotobiontes fundamentais em cianolíquens, particularmente naqueles associados aos gêneros *Leptogium* e *Peltigera*, contribuindo para o sucesso ecológico desses organismos em vários ambientes^{93,94}.

A bioinformática desempenha um papel fundamental na complementação e ampliação da análise taxonômica tradicional, permitindo uma identificação mais precisa e abrangente dos organismos presentes em uma amostra. Enquanto a taxonomia tradicional possibilitou a determinação do cianolíquen do gênero *Leptogium*, a abordagem metagenômica, aliada a ferramentas bioinformáticas como Kaiju utilizando o banco de dados NCBI BLAST nr+euk, permitiu uma confirmação mais robusta dessa identificação.

Os resultados da análise taxonômica realizada com o Kaiju revelam uma comunidade microbiana altamente diversificada e complexa, com uma fração substancial de organismos ainda não caracterizados. Muitas *reads* não puderam ser atribuídas a organismo conhecido, sugerindo a presença de microrganismos pouco estudados ou de difícil classificação. Além disso, foi observada uma presença relevante de vírus, indicando uma interação complexa com a comunidade microbiana analisada. Esses resultados reforçam a necessidade de estudos mais aprofundados para melhor caracterizar a microbiota presente na amostra e compreender sua relevância ecológica e funcional na associação.

Além disso, a ferramenta Kaiju foi empregada para analisar a taxonomia do metagenoma do cianolíquen, utilizando diversas bases de dados, como RefSeq Complete Genomes, proGenomes e NCBI BLAST nr. No entanto, os resultados obtidos não se alinharam com a análise taxonômica tradicional que havíamos realizado anteriormente. Em particular, a taxonomia inferida por essas bases não conseguiu identificar o microbionte principal associados ao cianolíquen identificado através da taxonomia tradicional.

Além das bases mencionadas, o Kaiju também disponibiliza um banco de referência específico para fungos. Contudo, mesmo ao utilizar essa base especializada, não conseguimos identificar o microbionte presente no cianolíquen identificado na análise taxonômica tradicional, o que sugere limitações na cobertura taxonômica desse banco de dados.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

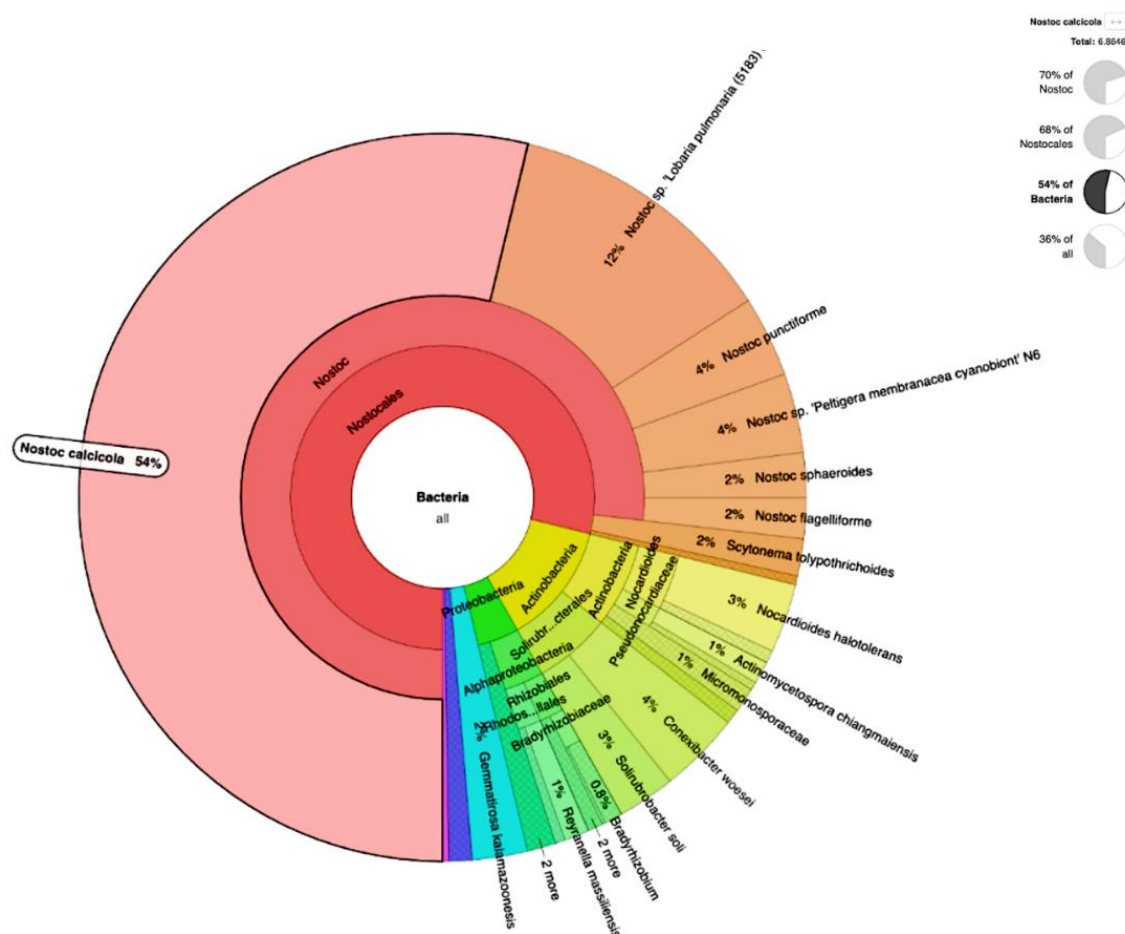
Por outro lado, ao utilizar o NCBI BLAST nr+euk, conseguimos identificar tanto o microbionte quanto o fotobionte, alinhando-se aos resultados da análise taxonômica tradicional. Esses achados ressaltam a importância de escolher cuidadosamente a base de dados mais adequada para a classificação taxonômica em estudos metagenômicos, especialmente quando se trata de organismos simbióticos complexos como os líquens.

Utilizando a ferramenta GOTTCHA2, foi possível visualizar através do Krona que entre a composição bacteriana com 54% da composição da amostra, as cianobactérias representam 79% da comunidade microbiana, seguidas por Actinobacteria (13%), Proteobacteria (4%), Gemmatimonadetes (2%), Planctomycetes (1%) e Bacteroidetes (0,3%), dentre outras. Aproximadamente 67% da composição microbiana da amostra é formada por bactérias, enquanto 33% é representada por DNA viral, especificamente o bacteriófago *Enterobacteria phage phiX174 sensu lato* da família Microviridae, que inclui vírus bacteriófagos de DNA de fita simples (*ssDNA*) (**Figura 7**).

A ordem cianobacteriana Nostocales apresentou uma abundância de 68% entre as bactérias, enquanto o gênero *Nostoc* foi ainda mais predominante, com 70%. A cianobactéria filamentosa *Nostoc calcicola* destacou-se como a espécie mais abundante, correspondendo a 36% da composição microbiana da amostra. Quando consideramos todas as bactérias, esse percentual aumenta para 54%.

Além disso, outras espécies de *Nostoc* também se mostraram significativas incluem *Nostoc* sp. '*Lobaria pulmonaria* (5183) cyanobiont' com 12%, *Nostoc punctiforme* com 4%, e *Nostoc* sp. *Peltigera membranacea* também com 4%. De maneira geral, o gênero *Nostoc* representa 52% da abundância microbiana observada.

Figura 7: Resultado da Análise de diversidade do metagenoma utilizando o GOTTCHA2 e visualizado através do Krona.



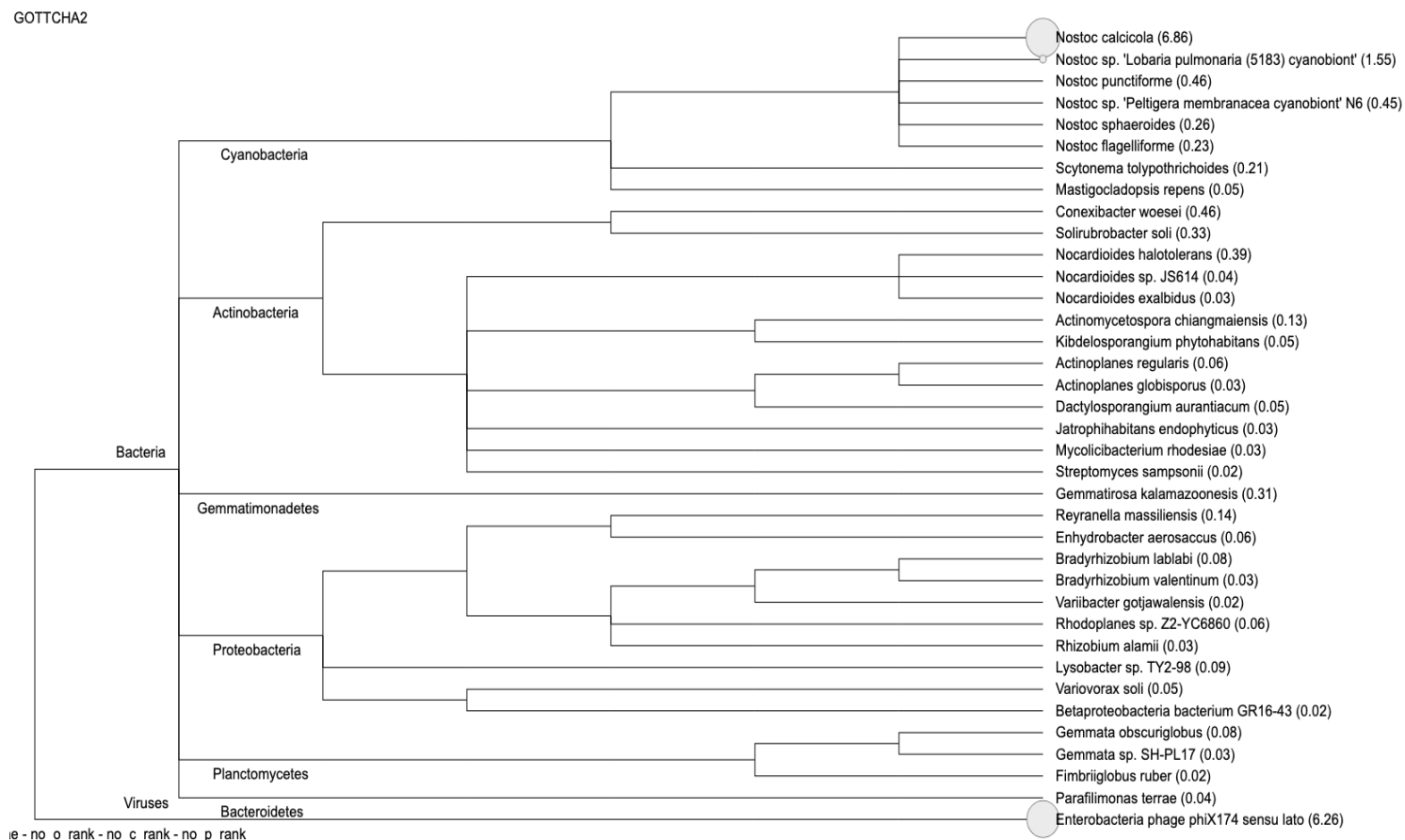
A árvore filogenética indica que o domínio Bactéria é o mais abundante, compreendendo a maior parte da composição microbiana. Os principais filos bacterianos com maior representação foi: Cyanobacteria, Actinobacteria, Gemmatimonadetes, Proteobacteria e Planctomycetes. Na árvore, o gênero *Nostoc* está posicionado dentro do filo Cyanobacteria, representando 9,81% da composição microbiana total da árvore, sendo a *Nostoc calcicola* a espécie bacteriana mais abundante com 6,89% (**Figura 8**).

A dominância do gênero *Nostoc* (na parte superior da árvore) nesta amostra indica que as cianobactérias deste gênero desempenham um papel ecológico importante dentro da associação. O *Enterobacteria phage phiX174 sensu lato* (fago, vírus bacteriano) está identificado na base da árvore, dentro do domínio *Viruses*. Ele representa 6,26% da composição total da árvore, sendo o único representante viral identificado nesta análise. (**Figura 8**).



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Figura 8: Árvore filogenética representando a composição microbiana de uma amostra, gerada pela ferramenta GOTTCHA2, mostrando a distribuição relativa dos diferentes grupos taxonômicos presentes.



As ferramentas Kaiju e GOTTCHA2 foram utilizadas para a análise taxonômica da amostra, e embora ambas sejam empregadas em estudos metagenômicos, elas apresentam diferenças importantes em suas abordagens metodológicas. O Kaiju realiza a classificação com base no alinhamento de sequências traduzidas de DNA para proteínas, utilizando bancos de dados como o NCBI BLAST nr. Esse método permite detectar organismos mesmo quando o DNA está fragmentado ou quando há maior divergência entre as sequências da amostra e as de referência, o que torna a ferramenta útil para a identificação de microrganismos pouco representados em bancos genômicos ^{95,37}.

Em contraste, o GOTTCHA2 utiliza uma abordagem baseada em k-mers específicos de cada táxon, trabalhando diretamente com sequências de DNA. Essa estratégia permite uma classificação taxonômica rápida e altamente específica, especialmente em níveis mais baixos, como espécie ou cepa, desde que os organismos estejam bem representados no banco de dados



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

utilizado³⁸. Dessa forma, a escolha entre essas ferramentas depende dos objetivos do estudo e da diversidade esperada na amostra, sendo recomendável o uso complementar das duas para obter uma visão mais abrangente da comunidade microbiana presente.

A identificação taxonômica possibilitou a análise de uma diversidade de micro-organismos associados ao líquen, os quais foram detectados por meio das ferramentas bioinformáticas aplicadas durante o processamento dos dados metagenômicos. Após essa etapa, foi realizado o *binning* com o uso de ferramentas especializadas, permitindo a reconstrução de genomas a partir dos dados obtidos.

A *binning* dos MAGs pelo MaxBin2, obteve-se 17 bins a partir de 284.665 contigs de entrada, dos quais 51.294 (18,0%) foram agrupados. Esses dados fornecem uma visão abrangente das diferentes populações microbianas presentes na amostra.

Em relação à completude, o Bin.001.fasta destacou-se com a maior completude de 0,991 (99,1%), conteúdo GC de 41,1%, contendo 381 contigs e um tamanho genômico de 8.903.203 bp. O Bin.005.fasta apresentou completude de 0,692 (69,2%), conteúdo GC de 48,8%, com 3.832 contigs e comprimento total de 6.474.991 bp. O Bin.003.fasta teve completude de 0,458 (45,8%), conteúdo GC de 71,7%, com 3.867 contigs e comprimento total de 9.155.619 bp. As informações de todos os MAGs podem ser encontradas na **Tabela S3**.

Estudos recentes indicam que o MaxBin2 apresenta um bom desempenho em comparação com outros algoritmos de classificação, como MetaBAT2 e CONCOCT. Em análises comparativas, o MaxBin2 demonstrou gerar bins de alta qualidade, especialmente quando utilizado em uma abordagem de multiferramenta⁹⁶⁻⁹⁸.

Através da análise do CheckM foi possível inferir a qualidade dos MAGs após a montagem. Entre os bins de alta qualidade, destaca-se o Bin.001 (p__Cyanobacteria), com uma completude de 99,56% e uma contaminação de apenas 3,59%, indicando um bin bem definido e de excelente qualidade. Em contraste, os bins classificados como de qualidade moderada, como o Bin.002 (p__Actinobacteria), com 58,96% de completude e 4,68% de contaminação, indicam que o bin está parcialmente fragmentado. O Bin.007 (p__Actinobacteria), com 65,79% de completude e 9,36% de contaminação (**Tabela S3 e Figura S2**).

Os resultados também mostraram bins com baixa qualidade devido à alta contaminação ou baixa completude. O Bin.003 (p__Actinobacteria), com 62,9% de completude e uma contaminação de 53,12%, sugere uma possível mistura de genomas, enquanto o Bin.014



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

(k__Bacteria), com 79,18% de completude e 63,77% de contaminação, é considerado pouco confiável e requer uma análise mais aprofundada para avaliação de sua qualidade (**Tabela S3**).

A análise de qualidade dos MAGs foi realizada utilizando as ferramentas CheckM e DAS Tool, considerando um critério mínimo de 50% de completude e 5% de contaminação. Como resultado, foi identificado um MAG pelas ferramentas MaxBin2, e dois MAGs pelas ferramentas CONCOCT e MetaBAT2, dentro dos parâmetros estabelecidos. O Bin.001 (p__Cyanobacteria) foi identificado com alta qualidade por todas as ferramentas, apresentando completude superior a 99% e níveis de contaminação abaixo de 4%. O Bin.002 (k__Bacteria) foi identificado apenas pelo CONCOCT e MetaBAT2, ambos com completude superior a 50% (57,25% e 65,22%, respectivamente) e contaminação inferior a 5%, atendendo aos critérios mínimos de qualidade estabelecidos para a análise (**Quadro 1**).

Quadro 1: Resultado da análise de qualidade realizada pelo CheckM para os MAGs gerados peloMaxBin2 com completude $\geq 50\%$ e contaminação $\geq 5\%$.

Ferramenta	Nome do Bin	Linhagem do Marcador	Completude	Contaminação
MaxBin2	Bin.001	p__Cyanobacteria	99.56	3.59
CONCOCT	Bin.001	p__Cyanobacteria	99.56	3.70
	Bin.002	k__Bacteria	57.25	2.59
MetaBat2	Bin.001	p__Cyanobacteria	99.33	3.80
	Bin.002	k__Bacteria	65.22	2.21

Um genoma é considerado de alta qualidade quando apresenta $\geq 90\%$ de completude e $\leq 5\%$ de contaminação ⁴⁵. Com base nesses critérios, o Bin.001 foi selecionado para análises genômicas posteriores, por apresentar melhor qualidade. Esse MAG foi identificado como pertencente a uma cianobactéria e, após a análise taxonômica e identificação do fotobionte no metagenoma, foi renomeado para "*Nostoc* sp. MAG01", garantindo uma identificação mais precisa nas análises subsequentes.

Os resultados obtidos indicam que a montagem genômica possui alta qualidade, com mínima fragmentação e

perda de genes essenciais. A baixa taxa de duplicação sugere que há pouca contaminação ou erros na montagem, aumentando a confiabilidade dos dados para análises



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

futuras. Com isso, o MAG01 gerado através do *binning*, pode ser utilizado com segurança para inferências taxonômicas e funcionais, fortalecendo a precisão das análises bioinformáticas ⁴⁶.

A avaliação do MAG01 por meio das ferramentas QUAST e Compare Assembled Contig Distributions demonstrou que o genoma reconstruído apresenta qualidade satisfatória para análises genômicas e funcionais. Os resultados possibilitaram inferir que o genoma possui um tamanho total de 8.903.203 pb, com 381 contigs, com conteúdo GC de 41,11%. O maior contig identificado foi de 182.283pb, indicando que algumas regiões do genoma foram bem montadas, embora a ausência de contigs ≥ 1 Mb (**Tabela 5**).

As métricas de continuidade da montagem também coincidem entre as ferramentas. O N50 foi de 56.316pb, enquanto o L50 foi de 49, indicando que metade do genoma está contida em 49 contigs de no mínimo 56.316 pb. Da mesma forma, os valores de N75 (26.188pb) e L75 (106 contigs) são idênticos nos dois conjuntos de resultados, demonstrando que a distribuição do tamanho dos contigs se mantém estável. Esses valores reforçam a continuidade moderada da montagem, embora a presença de 200 contigs ≥ 10 kb e apenas 15 contigs ≥ 100 kb indicam que há fragmentação na montagem.

Além disso, a ferramenta Compare Assembled Contig Distributions fornece informações adicionais, como os valores N90 (12.831pb) e L90 (180 contigs), detalhando a distribuição dos contigs menores (**Tabela 5**).

A avaliação da qualidade do MAG também foi realizada utilizando a ferramenta BUSCO, a fim de verificar a completude do genoma com base na presença de ortólogos altamente conservados. Os resultados indicaram que 97,7% dos genes analisados estavam completos (C: 1855), sendo 96,1% em cópia única (S: 1825) e 1,6% duplicados (D: 30). Apenas 0,7% dos genes estavam fragmentados (F: 14) e 1,6% estavam ausentes (M: 30), considerando um total de 1.899 genes ortólogos analisados (**Tabela 5**).

A anotação do MAG01 utilizando a ferramenta Prokka permitiu a anotação funcional revelou 7.461 genes previstos, dos quais 7.369 codificam proteínas. No entanto, apenas 2.953 genes apresentam função conhecida, representando aproximadamente 40% do total de genes codificadores, enquanto 60% permanecem como genes hipotéticos. Além disso, 1.351 genes possuem um número EC (Enzyme Commission), indicando envolvimento em processos enzimáticos e vias metabólicas. As informações adicionais obtidas através dessa ferramenta estão presentes no **Tabela 5**.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

A anotação funcional através do RASTtk, foi possível identificar 8.649 sequências codificantes (CDS), incluindo 289 subsistemas (26% de cobertura do genoma, enquanto os 74% restantes não foram associados a subsistemas conhecidos) que representam vias metabólicas e funções específicas presentes no genoma. Além disso, foram anotados 91 RNAs, o que indica a presença de genes essenciais para a regulação e o funcionamento celular. O número de subsistemas identificados sugere uma diversidade funcional considerável, fornecendo informações sobre a ecologia e os mecanismos metabólicos do organismo (**Tabela 5**)^{48,99}.

Tabela 5. Resultados da análise de qualidade das ferramentas QUAST e Assembled Contig Distributions, BUSCO e anotação funcional do Prokka e RASTtk do *Nostoc* sp. MAG01.

Estatísticas	
Métricas	Valores
QUAST e Assembled Contig Distributions	
Número total de contigs	381
Contigs (≥ 1.000 pb)	381
Contigs (≥ 10.000 pb)	200
Contigs (≥ 100.000 pb)	15
Contigs ($\geq 1.000.000$ pb)	0
Comprimento total da montagem (≥ 0 bp)	8.903.203
Comprimento total (≥ 10.000 pb)	8.244.463
Comprimento total (≥ 100.000 pb)	1.832.403
Maior contig	182.283
N50	56.316
L50	49
N75	26.188
L75	106
N90	12.831
L90	180
GC (%)	41,11%
BUSCO	
Genes analisados completos	C: 1855 (97,7%)
Genes com cópias únicas	S: 1825 (96,1%)
Genes duplicados	D: 30 (1,6%)
Genes fragmentados	F: 14 (0,7%)
Genes Ausentes	M: 30 (1,6%)
Genes ortólogos	1.899
Prokka	
Número de genes previstos:	7,461
Número de genes codificadores de proteínas:	7,369
Número de genes com função não hipotética:	2,953
Número de genes com número EC:	1,351
Comprimento médio da proteína:	315 aa.
RASTtk	



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Sequências codificantes (CDS)	8.649
Subsistemas	289
RNAs	91

As análises funcionais revelaram diversas categorias metabólicas essenciais para a sobrevivência e adaptação do microrganismo estudado. O metabolismo de carboidratos, com 401 genes, indica uma ampla capacidade de utilização e conversão de diferentes fontes de carbono ¹⁰⁰. Da mesma forma, o metabolismo de aminoácidos e derivados, representado por 356 genes, sugere um metabolismo ativo para a síntese e degradação de aminoácidos essenciais ¹⁰¹.

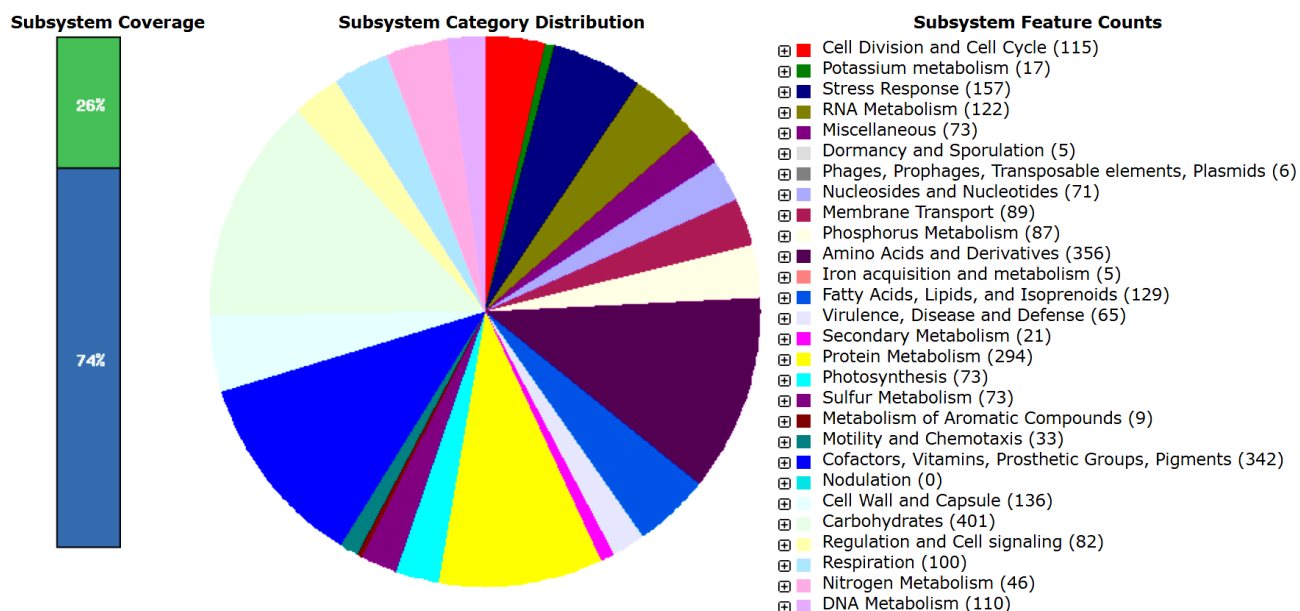
O metabolismo de proteínas, com 294 genes, aponta para uma forte regulação da síntese proteica e remodelação celular, enquanto a categoria de fatores, cofatores, vitaminas e pigmentos, com 342 genes, pode estar relacionada à biossíntese de compostos essenciais, incluindo pigmentos fotossintéticos ^{49,99,102}.

A presença de 157 genes associados à resposta ao estresse indica mecanismos de adaptação a condições ambientais adversas. Além disso, os 89 genes envolvidos no transporte de membrana desempenham um papel crucial na captação e exportação de metabólitos ^{103,104}.

Os processos de respiração e fotossíntese também se destacam, com 100 e 73 genes, respectivamente, confirmando a capacidade do organismo de gerar energia tanto por vias aeróbicas quanto por processos fotossintéticos ^{105,106}.

Outras categorias relevantes incluem o metabolismo do DNA (110 genes), a regulação e sinalização celular (82 genes), o metabolismo do nitrogênio (46 genes) e a divisão celular e ciclo celular (115 genes), reforçando a complexidade funcional desse microrganismo e sua capacidade de adaptação a diferentes ambientes ¹⁰⁷⁻¹¹⁰. Todas as categorias identificadas através da anotação funcional estão presente na **Figura 9**.

Figura 9. Resultados da anotação funcional obtida através do RASTtk.



Os avanços significativos na bioinformática são exemplificados por ferramentas como o RASTtk, que auxiliam na anotação de características e vias genéticas em vários organismos. Ao facilitar a identificação de genes relacionados ao metabolismo celular, o RASTtk aprimora nossa compreensão das capacidades metabólicas em espécies bacterianas, permitindo a integração de dados para genômica comparativa ^{99,111}. A capacidade de tais plataformas de prever e classificar com precisão enzimas relacionadas ao metabolismo celular, ilustra ainda mais seu papel no avanço de nossa compreensão da ecologia e metabolismo microbiano ^{112,113}.

Paralelamente, abordagens metagenômicas inovadoras e descoberta de novas enzimas, podem ter implicações em aplicações industriais e processos de biorremediação. Essas enzimas, anotadas usando RASTtk e ferramentas semelhantes, fornecem informações sobre a microbiologia ambiental, pois revelam como organismos em diversos habitats adaptaram suas vias metabólicas de forma eficiente ^{114,100}.

A análise do MAG01 por meio da ferramenta antiSMASH (versão clássica para bactérias) resultou na identificação de diversos clusters de genes biossintéticos (BGCs) associados à produção de metabólitos secundários. Ao todo, foi descrito 47 BGCs, distribuídos entre diferentes classes biossintéticas. A classe mais representativa foi a dos NRPS (peptídeos não ribossômicos), com 12 agrupamentos identificados, seguida pelos terpenos (oito) e pelos policetídeos do tipo I (T1PKS) (sete). Além desses, outros tipos de BGCs também foram



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

identificados, conforme apresentado na **Tabela 6**. Os resultados detalhados de cada BGC, estão disponíveis na **Tabela S4**.

Tabela 6: Tipos de BCGs encontrados para o MAG a partir do antiSMASH para bactérias (Clássico).

Tipo de BGC	Quantidade de BGC
NRPS	12
Terpene	8
T1PKS	7
Lanthipeptide-class-v	3
HglE-KS	2
Lanthipeptide-class-ii	2
LAP	2
Phenazine	2
Proteusin	2
Betalactone	1
Microviridin	1
Mycosporine-like	1
NI-siderophore	1
NRPS-like	1
Phosphonate	1
Thiopeptide	1

Os lantipeptídeos, classificados como RiPPs, demonstram bioatividade relevante, especialmente com propriedades antimicrobianas. Esses peptídeos são caracterizados pela presença de aminoácidos incomuns, como a lantionina, formados por meio de modificações enzimáticas durante sua biossíntese. Os lantipeptídeos de classe I normalmente abrangem uma lantipeptídeo desidrogenase (LanB) e uma ciclase (LanC), essenciais para criar a estrutura cíclica única dessas moléculas. Os lantipeptídeos de classe II são moldados por uma enzima bifuncional conhecida como LanM, que integra um domínio desidratase e um domínio ciclase dentro de uma cadeia polipeptídica ^{115–117}.

Essas descobertas destacam a relevância da metagenômica na investigação da dinâmica funcional dos microbiomas de líquens. Além de revelar a complexidade das interações simbióticas, as abordagens metagenômicas têm facilitado a identificação de novas vias biossintéticas nesses organismos. Estudos identificaram grupos de genes de policetídeo sintase (PKS) associados à produção de produtos naturais bioativos em líquens, revelando o potencial para descoberta de medicamentos a partir desses organismos ¹¹⁸. Esse potencial é reforçado por



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

estudo, que explorou os grupos de genes biossintéticos em comunidades microbianas associadas a líquens, enfatizando o rico potencial metabólico desses sistemas simbióticos ⁶.

A classificação taxonômica do MAG01 foi realizada utilizando a ferramenta GTDB-Tk, que compara genomas metagenômicos a uma base de dados curada de referências taxonômicas. A análise filogenética revelou que o MAG pertence ao filo Cyanobacteriota, classe Cyanobacteria, ordem Cyanobacteriales e família Nostocaceae, indicando sua proximidade evolutiva com linhagens previamente classificadas dentro do gênero *Nostoc*.

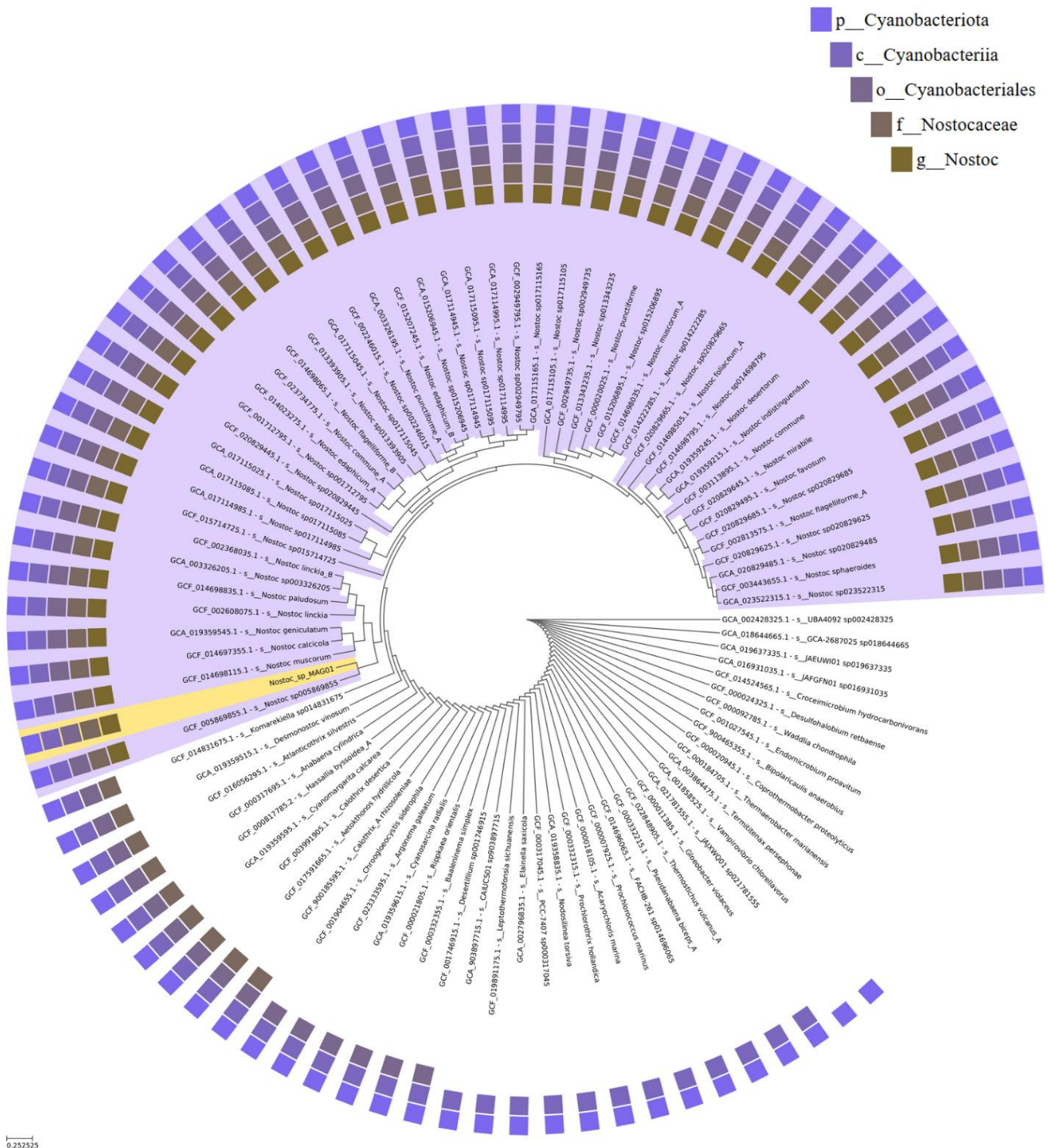
A árvore filogenética gerada pelo GTDB-Tk reforça essa classificação, posicionando “*Nostoc* sp. MAG01” dentro de um clado bem suportado junto a outros representantes da família Nostocaceae. Destaca-se, ainda, sua proximidade com *Calothrix* sp. NIES-3974 (GCF_002368395.1), pertencente à mesma família, o que fortalece a identificação do MAG01 dentro de Nostocaceae (**Figura S3**).

A segunda árvore filogenética a nível de gênero gerada pelo GTDB-Tk reforça essa classificação, posicionando “*Nostoc* sp. MAG01” dentro de um clado bem suportado junto a outras linhagens do gênero *Nostoc*.

Destaca-se, ainda, sua proximidade com *Nostoc* sp. PA-18-2419 (GCF_005869855.1), fortalecendo a atribuição do MAG01 a esse gênero. Essa relação sugere que o genoma reconstruído compartilha características genômicas e evolutivas com outras espécies do grupo, corroborando sua identidade taxonômica (**Figura 10**).

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Figura 10. Árvore filogenética gerada pela ferramenta GTDB-Tk, mostrando a relação evolutiva entre o genoma reconstruído *Nostoc* sp. MAG01 e outros genomas de referência a nível de gênero. O genoma *Nostoc* sp. MAG01 está destacado em amarelo.





PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

As árvores filogenéticas geradas pelo GTDB-Tk reforçam essa classificação do MAG pertencente ao gênero *Nostoc*, posicionando “*Nostoc* sp. MAG01” dentro de um clado bem suportado junto a outros representantes da família Nostocaceae. Esse agrupamento sugere uma alta confiabilidade na identificação taxonômica, evidenciando que o genoma reconstruído apresenta características genômicas semelhantes às de cianobactérias do gênero *Nostoc*.

A análise filogenética revelou que o genoma mais próximo ao MAG01, foi identificado corresponde a *Nostoc* sp. PA-18-2419 (MDC_005869855.1), uma cianobactéria associada em simbiose com plantas, sugerindo uma possível relação evolutiva entre esses organismos. No entanto, o cálculo de ANI, gerado pela ferramenta GTDB-Tk, entre *Nostoc* sp. MAG01 e a referência mais próxima resultou em um valor de 89,22%, abaixo do limiar de 95% geralmente aceito para designação da mesma espécie. Além disso, a fração de alinhamento foi de 0,745, indicando que aproximadamente 74,5% do genoma do MAG apresenta similaridade com o genoma de referência. Outras referências relacionadas foram identificadas, incluindo a espécie *Nostoc muscorum*, o que reforça a filiação do MAG ao gênero *Nostoc*. Apesar dessa proximidade, o GTDB-Tk não atribuiu o MAG01 a uma espécie específica, pois o valor de ANI ficou abaixo do limite predefinido para designação taxonômica em nível de espécie.

Os resultados da análise filogenômica criada utilizando a ferramenta GTDB-Tk indicam de forma robusta que o genoma reconstruído pertence ao filo Cyanobacteriota, classe Cyanobacteria, ordem Cyanobacteriales e família Nostocaceae, corroborando sua filiação ao gênero *Nostoc*. A inclusão do “*Nostoc* sp. MAG01” em clados bem suportados, tanto na árvore geral da família quanto na árvore de nível de gênero, demonstra uma proximidade evolutiva consistente com outras linhagens de *Nostoc*, em especial com *Nostoc* sp. PA-18-2419. Esse agrupamento consistente reforça a confiabilidade da identificação taxonômica, evidenciando que os métodos e as bases de dados utilizados proporcionam uma interpretação robusta da filogenia do genoma estudado.

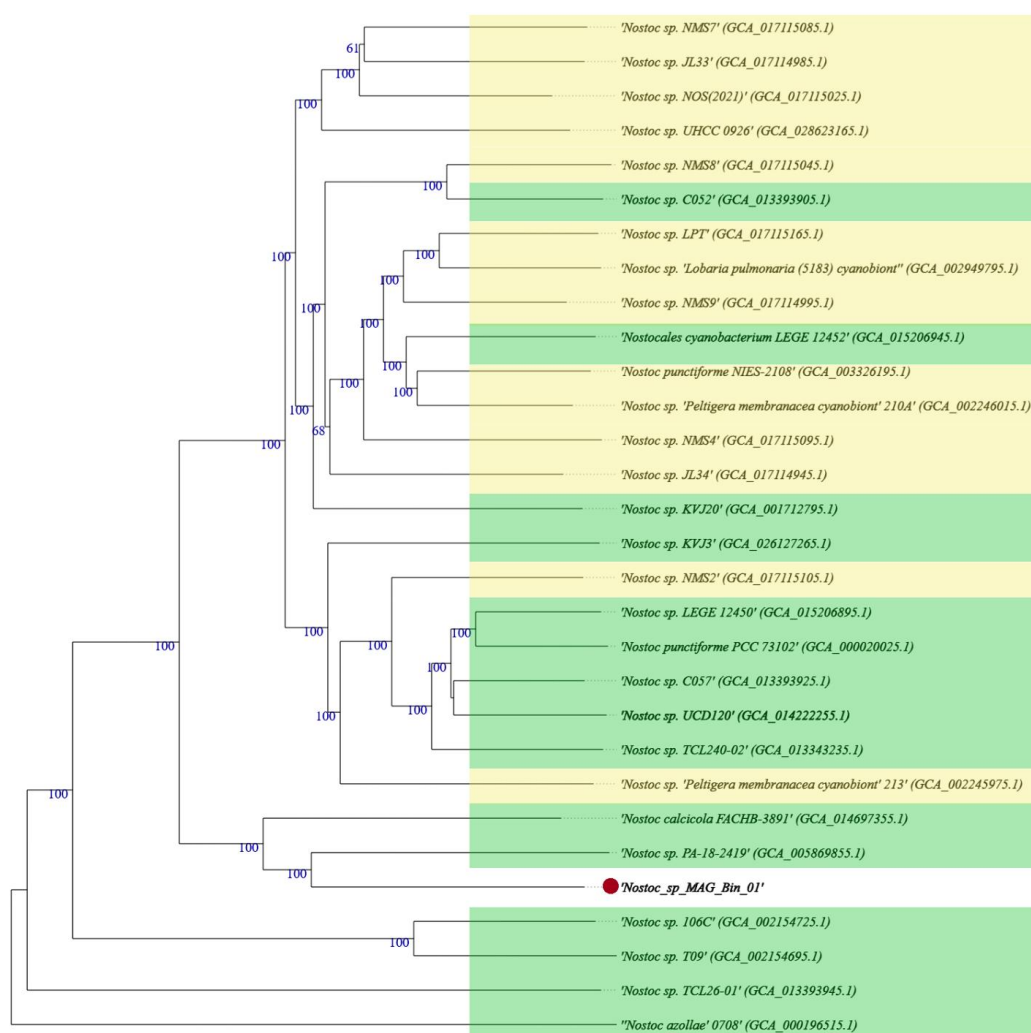
A análise filogenômica realizada por meio da ferramenta Type (Strain) Genome Server (TYGS) permitiu avaliar a relação evolutiva do genoma do MAG “*Nostoc* sp. MAG01”, com outros 29 genomas de referência do gênero *Nostoc*. A árvore gerada posiciona *Nostoc* sp. MAG01 em um clado bem suportado, agrupado com *Nostoc* sp. PA-18-2419 (GCA_005869855.1), indicando uma forte similaridade genômica entre essas linhagens (**Figura 11**).

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Além disso, os resultados demonstram que *Nostoc* sp. MAG01 pertence a um agrupamento filogenético que inclui diversas espécies de *Nostoc*, todas apresentando altos valores de suporte bootstrap (100%), reforçando a confiabilidade da filogenia inferida.

A árvore ainda evidencia outros agrupamentos bem definidos dentro do gênero *Nostoc*, incluindo espécies como *Nostoc punctiforme* e *Nostoc azollae*, isoladas de diferentes ambientes. A presença de altos valores de bootstrap nos principais agrupamentos sustenta a robustez da inferência filogenômica e confirma a confiabilidade da classificação taxonômica baseada na relação genômica entre as cepas analisadas (**Figura 11**).

Figura 11. Árvore filogenômica baseada na análise genômica pelo método TYGS, comparando *Nostoc* sp. MAG01 (destacado em vermelho) com outros 29 genomas do gênero *Nostoc*. Linhagens de *Nostoc* associadas a fungos estão destacadas em amarelo, enquanto linhagens associadas a plantas estão em verde.





PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Observa-se que os genomas isolados de associações fúngicas (cianobiontes de líquens e outras associações simbióticas) formam um grande grupo dentro da árvore, contendo isolados como *Nostoc* sp. '*Peltigera membranacea cyanobiont*', *Nostoc punctiforme* NIES-2108 e *Nostoc* sp. *Lobaria pulmonaria* (5183) *cyanobiont*. Esse agrupamento sugere uma forte relação evolutiva entre esses genomas, possivelmente refletindo adaptações compartilhadas à simbiose com fungos.

Por outro lado, os isolados obtidos de ambientes associados a plantas formam um agrupamento, incluindo *Nostoc* sp. PA-18-2419 e *Nostoc calcicola* FACHB-3891. Além, de um agrupamento com *Nostoc* sp. 106C, *Nostoc* sp. T09, *Nostoc* sp. TCL26-01 e *Nostoc azollae* 0708 na base da árvore de linhagens de *Nostoc* associados a planta. Sugerindo que esses genomas representam linhagens que evoluíram estabelecendo associações com plantas.

Os isolados obtidos de ambientes associados a fungos formam um agrupamento composto por *Nostoc* sp. NMS7, *Nostoc* sp. JL33, *Nostoc* sp. NOS(2021) e *Nostoc* sp. UHCC 0926, localizado na parte superior da árvore filogenômica do gênero *Nostoc* associada a fungos. Sugerindo que esses genomas representam linhagens que evoluíram estabelecendo associações simbióticas com fungos.

O posicionamento do *Nostoc* sp. MAG01 próximo a *Nostoc* sp. PA-18-2419 sugere que seu genoma compartilha mais similaridade com linhagens associadas a plantas do que com aquelas isoladas de fungos. Além disso, os resultados do TYGS corroboram a classificação obtida pelo GTDB-Tk, indicando que *Nostoc* sp. MAG01 está filogeneticamente relacionado a espécies do gênero *Nostoc*, especialmente *Nostoc* sp. PA-18-2419.

A análise de ANI foi realizada para avaliar o grau de similaridade genômica entre *Nostoc* sp. MAG01 e 29 genomas de *Nostoc* disponíveis em bancos de dados. O ANI é um parâmetro amplamente utilizado para delimitação de espécies bacterianas, sendo que valores $\geq 95\%$ indicam que dois organismos pertencem à mesma espécie (**Tabela 7**)^{55,61}.

Os resultados demonstram que *Nostoc* sp. MAG01 não atingiu o limite de 95% ANI com nenhum dos genomas analisados, sugerindo que este pode representar uma linhagem distinta dentro do gênero *Nostoc*. O genoma mais próximo foi *Nostoc* sp. PA-18-2419, com 89,19% ANI, seguido por *Nostoc calcicola* FACHB-3891 (88,22% ANI). Esses valores indicam que *Nostoc* sp. MAG01 compartilha uma relação evolutiva próxima com essas linhagens, mas provavelmente não pertence à mesma espécie.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Além disso, verificou-se que os genomas com maior ANI pertencem a cianobactérias simbioses de plantas, indicando que *Nostoc* sp. MAG01, apesar de ter sido isolado de um líquen, apresenta similaridade genômica com linhagens adaptadas a diferentes associações. No entanto, a ausência de um ANI elevado com outros simbioses líquênicos sugere que este representa uma linhagem pouco estudada ou potencialmente nova dentro do grupo.

Os genomas mais distantes incluem *Nostoc azollae* 708 (77,57% ANI) e *Nostoc* sp. TCL26-01 (78,21% ANI), que apresentaram baixa identidade com *Nostoc* sp. MAG01, reforçando que esses pertencem a linhagens mais divergentes. A distribuição dos valores de ANI sugere que *Nostoc* sp. MAG01 pode representar um grupo distinto dentro do gênero *Nostoc*, potencialmente adaptado ao ambiente líquênico, mas mantendo semelhanças genômicas com linhagens associadas a plantas (**Tabela 7**).

A análise de distância genômica realizada com o GGDC comparou o genoma *Nostoc* sp. MAG01 com os 29 genomas de referência do gênero *Nostoc*. Os resultados indicaram que os valores de DNA-DNA Hybridization (DDH) foi inferior a 70% em todas as comparações, evidenciando que *Nostoc* sp. MAG01 não pertence a nenhuma das espécies analisadas (**Tabela 7**).

O maior valor de DDH foi de 44% para *Nostoc* sp. PA-18-2419, indicando uma similaridade moderada, mas insuficiente para classificá-lo como a mesma espécie. Outros genomas apresentaram valores de DDH entre 37,2% e 22,8%, sugerindo uma relação filogenética distante. Os genomas mais divergentes, como *Nostoc* sp. T09, *Nostoc* sp. 106C, *Nostoc* sp. TCL26-01 e *Nostoc azollae*, exibiram valores de DDH $\leq 15,6\%$, reforçando um distanciamento significativo dentro do gênero *Nostoc*.

A análise também considerou a distância genômica e a probabilidade de DDH $\geq 70\%$, que foi inferior a 5% em todos os casos, confirmando a distinção genética de *Nostoc* sp. MAG01 em relação às espécies conhecidas (**Tabela 7**). Os resultados utilizando outras fórmulas geradas pelo GGBC podem ser consultados na **Tabela S5**.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Tabela 7. Valores de Average Nucleotide Identity (ANI) estimados entre *Nostoc* sp. MAG01 Resultados do GGDC e distâncias genômicas do DNA-DNA Hybridization (DDH) entre *Nostoc* sp. MAG01 e 29 genomas de referência do gênero *Nostoc*

Query	Reference	ANI Estimate	DDH
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc</i> sp. PA-18-2419	89.1929	44
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc calcicola</i> FACHB-3891	88.2236	37.2
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc</i> sp. _NOS_2021	84.5775	27
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc</i> sp. UHCC_0926	84.5384	26.6
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc</i> sp. JL34	84.3153	29.3
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc</i> sp. LPT	84.1594	26.9
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc</i> sp. JL33	84.1207	25.4
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc</i> sp. NMS9	84.1025	27.1
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc</i> sp. <i>Lobaria pulmonaria</i> (5183) cyanobiont'	84.0111	26.9
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc</i> sp. ' <i>Peltigera membranacea</i> cyanobiont' 210A	83.8885	25.9
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc</i> sp. KVJ20	83.8490	25.1
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc punctiforme</i> _NIES-2108	83.7935	25.5
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc</i> sp. NMS2	83.7745	25.5
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc</i> sp. NMS7	83.7319	23.4
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc</i> sp. LEGE_12447	83.6534	25.3
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc</i> sp. NMS8	83.6427	26.4
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc</i> sp. ' <i>Peltigera membranacea</i> cyanobiont' 213	83.6127	25.7
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc</i> sp. TCL240-02	83.5923	26.1
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc</i> sp. UCD120	83.5778	24.4
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc punctiforme</i> PCC 73102	83.5717	25.5
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc</i> sp. C057	83.5516	24.7
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc</i> sp. C052	83.5278	24.4
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc</i> sp. LEGE 12450	83.4725	24.7
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc</i> sp. NMS4	83.4389	23.7
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc</i> sp. KVJ3	83.2071	22.8
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc</i> sp. T09	79.3871	15.6
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc</i> sp. 106C	79.2055	15.6
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc</i> sp. TCL26-01	78.2147	14.3
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	<i>Nostoc azollae</i> 708	77.5713	13.6

Genomicamente, as espécies de *Nostoc* mostram uma diversidade interessante que reflete sua adaptação a vários nichos ecológicos. Pesquisas indicam que a evolução genômica do *Nostoc* foi moldada por uma série de adaptações funcionais e transferências laterais de genes,



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

contribuindo para suas capacidades especializadas em fixação de nitrogênio e parcerias simbióticas ^{67,119}. Essa flexibilidade genômica permite que o *Nostoc* mantenha uma relação simbiótica com as plantas hospedeiras, o que é crucial para o metabolismo do nitrogênio de ambas as partes, evidenciando processos coevolutivos entre as plantas hospedeiras e seus parceiros fotobionte do gênero *Nostoc* ^{120,121}

A transição de *Nostoc* de um organismo de vida livre para um parceiro simbiótico envolveu extensas adaptações genômicas. Estudos indicam que essas mudanças apóiam suas associações vegetais. Por exemplo, pesquisas sugerem que o estilo de vida intracelular de *Nostoc* pode ter evoluído com outros hospedeiros antes de suas associações com *Gunnera* (plantas herbáceas eudicotiledóneas) ^{67,122}. As relações simbióticas geralmente envolvem vias de sinalização que aumentam a compatibilidade e a eficiência dessas interações, permitindo que ambos os parceiros otimizem sua sobrevivência em ambientes hostis ^{123,124}.

Os resultados apresentados neste estudo indicam que, embora o “*Nostoc* sp. MAG01” tenha sido isolado de um líquen, ele apresenta maior similaridade genômica com linhagens associadas a plantas, como evidenciado pela sua proximidade com *Nostoc* sp. PA-18-2419 e *Nostoc calcicola* FACHB-3891. Essa semelhança sugere que adaptações específicas podem ter ocorrido em linhagens de *Nostoc* que, independentemente do tipo de hospedeiro (líquen ou planta), compartilham características genômicas comuns. Além disso, a formação de agrupamentos distintos na árvore filogenética — separando genomas oriundos de associações com fungos, de um lado, e com plantas, de outro — aponta para possíveis processos adaptativos que contribuíram para a diversificação dentro do gênero *Nostoc*, influenciando a distribuição ecológica e a especificidade dos diferentes isolados.

4. CONCLUSÃO

A análise metagenômica da amostra ANA13 revelou a complexidade do microbioma associado ao cianolíquen, destacando sua rica diversidade metabólica e potencial biotecnológico. Foi identificado 102 BGCs bacterianos e 116 fúngicos, com destaque para NRPS, T1PKS e terpenos, sugerindo rotas metabólicas compartilhadas e especializações adaptativas. A integração das abordagens taxonômicas tradicionais e metagenômicas confirmou que o cianolíquen é composto por um micobionte do gênero *Leptogium* e fotobionte do gênero *Nostoc*, além de outros microrganismos que formam uma rede simbiótica complexa. A presença



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

de DNA viral, especialmente bacteriófagos, indica interações ecológicas adicionais no microbioma.

A montagem dos MAGs, com destaque para o Bin.001, revelou um genoma de alta qualidade e 7.461 genes previstos, dos quais 40% possuem função conhecida. A ferramenta RASTtk identificou 8.649 sequências codificantes, representando diversas vias metabólicas. A análise dos BGCs, incluindo NRPS, terpenos e policetídeos do tipo I, reforça o potencial do microbioma para a produção de metabólitos secundários com funções ecológicas e bioativas, apontando para novas possibilidades para análises biotecnológicas.

A anotação funcional do MAG01 revelou uma cobertura genômica de 26%, enquanto os 74% restantes não foi associado a subsistemas funcionais conhecidos. As análises filogenômicas, juntamente com as avaliações de similaridade genômica realizadas por meio dos parâmetros ANI e DDH, indicaram divergência significativa entre os genomas analisados neste estudo. Esses resultados não apenas reforçam a eficácia dos métodos empregados (GTDB-Tk e TYGS) na classificação de genomas metagenômicos, como também destacam a importância de estudos genômicos detalhados para ampliar o conhecimento sobre a diversidade e a evolução de grupos ecologicamente relevantes, como as cianobactérias.

Este estudo representa uma contribuição inédita para o conhecimento dos líquens da Amazônia maranhense, ao realizar, pela primeira vez, uma análise metagenômica voltada à caracterização do microbioma líquênico na região. A amostra ANA13, identificada morfológicamente como pertencente ao gênero *Leptogium* — cuja ocorrência é aqui registrada pela primeira vez no estado do Maranhão — revelou uma notável complexidade genômica, com destaque para a diversidade metabólica de seus simbiossiontes, incluindo vias biossintéticas com potencial biotecnológico relevante.

Os resultados obtidos evidenciam o valor das análises integrativas entre a taxonomia tradicional e as ferramentas de bioinformática aplicadas à metagenômica, ampliando o entendimento das interações simbióticas e dos potenciais metabólicos presentes em líquens. Assim, este trabalho evidencia uma nova linha de investigação científica no estado do Maranhão, voltada à genômica e à bioprospecção de metabólitos secundários em ecossistemas líquênicos, contribuindo significativamente para a valorização da biodiversidade amazônica e para o avanço do conhecimento sobre ecossistemas ainda pouco explorados.

AGRADECIMENTOS



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA); Universidade Federal do Maranhão – UFMA; University Of Helsinki.

Gostaríamos de agradecer ao Laboratório de Sequenciamento de DNA e Genômica em todas as publicações que contenham dados produzidos em nosso laboratório.

Agradecemos ao Laboratório de Sequenciamento de DNA e Genômica (apoiado pelo financiamento HiLIFE e Biocenter Finland) e ao Instituto de Biotecnologia da Universidade de Helsinque pelo sequenciamento

REFERÊNCIAS

1. Grube M, Wedin M. Lichenized Fungi and the Evolution of Symbiotic Organization. *Microbiol Spectr.* 2016;4(6). doi:10.1128/microbiolspec.FUNK-0011-2016
2. Lucheta F, Koch NM, Martins SM de A, Schmitt JL. Comunidade de líquens corticícolos em um gradiente de urbanização na Bacia Hidrográfica do Rio dos Sinos, no sul do Brasil. *Rodriguésia.* 2018;69:323-334. doi:10.1590/2175-7860201869205
3. Farkas E, Varga N, Veres K, Matus G, Sinigla M, Lőkös L. Distribution Types of Lichens in Hungary That Indicate Changing Environmental Conditions. *Journal of Fungi.* 2022;8(6):600. doi:10.3390/jof8060600
4. Coxson D, Björk C, Bourassa MD. The influence of regional gradients in climate and air pollution on epiphytes in riparian forest galleries of the upper Fraser River watershed. *Botany.* 2014;92(1):23-45. doi:10.1139/cjb-2013-0151
5. Rodriguez JM, Dominguez RED, Mayrhofer H, Passo A, Renison D. High lichen species richness in *Polylepis australis* forest: new records from South America and Argentina. *Plant and Fungal Systematics.* 2020;65(2):386-402. doi:10.35535/pfsyst-2020-0027
6. Shishido TK, Wahlsten M, Laine P, Rikkinen J, Lundell T, Auvinen P. Microbial Communities of *Cladonia* Lichens and Their Biosynthetic Gene Clusters Potentially Encoding Natural Products. *Microorganisms.* 2021;9(7):1347. doi:10.3390/microorganisms9071347
7. Weber T, Blin K, Duddela S, et al. antiSMASH 3.0—a comprehensive resource for the genome mining of biosynthetic gene clusters. *Nucleic Acids Research.* 2015;43(W1). doi:10.1093/nar/gkv437
8. Park SY, Choi J, Lee GW, et al. Draft Genome Sequence of *Umbilicaria muehlenbergii* KoLRILF000956, a Lichen-Forming Fungus Amenable to Genetic Manipulation. *Genome Announcements.* 2014;2(2):10.1128/genomea.00357-14. doi:10.1128/genomea.00357-14



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

9. Singh G, Calchera A, Schulz M, et al. Climate-specific biosynthetic gene clusters in populations of a lichen-forming fungus. *Environmental Microbiology*. 2021;23(8):4260-4275. doi:10.1111/1462-2920.15605
10. Song H, Kim KT, Park SY, et al. A comparative genomic analysis of lichen-forming fungi reveals new insights into fungal lifestyles. *Sci Rep*. 2022;12(1):10724. doi:10.1038/s41598-022-14340-5
11. Merges D, Dal Grande F, Valim H, Singh G, Schmitt I. Gene abundance linked to climate zone: Parallel evolution of gene content along elevation gradients in lichenized fungi. *Front Microbiol*. 2023;14. doi:10.3389/fmicb.2023.1097787
12. Grimm M, Grube M, Schiefelbein U, Zühlke D, Bernhardt J, Riedel K. The Lichens' Microbiota, Still a Mystery? *Front Microbiol*. 2021;12:623839. doi:10.3389/fmicb.2021.623839
13. Wicaksono WA, Cernava T, Grube M, Berg G. Assembly of Bacterial Genomes from the Metagenomes of Three Lichen Species. *Microbiology Resource Announcements*. 2020;9(38):10.1128/mra.00622-20. doi:10.1128/mra.00622-20
14. Tagirdzhanova G, Saary P, Cameron ES, et al. Evidence for a core set of microbial lichen symbionts from a global survey of metagenomes. Published online February 2, 2023:2023.02.02.524463. doi:10.1101/2023.02.02.524463
15. Tran DM, Huynh TU, Nguyen TH, et al. Soil microbiome dataset from Yok Don national park in the Central Highlands region of Vietnam. *Data in Brief*. 2022;40:107798. doi:10.1016/j.dib.2022.107798
16. Ferreira MDGR, Sousa NR, Frazão JMF, Pereira ED. MAPPING AND CHARACTERIZATION OF CUPUAÇU OCCURRENCE AREAS IN COMMUNITIES OF FAMILIAR FARMERS IN THE MUNICIPALITY OF ANAJATUBA, MARANHÃO STATE, BRAZIL. *Journal of Geospatial Modelling*. Published online March 10, 2018:26-35. doi:10.22615/2526-1746-jgm-2.4-7962
17. IBGE. Anajatuba (MA) | Cidades e Estados | IBGE. 2023. Accessed April 4, 2025. <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/ma/anajatuba.html>
18. Mendes WS, Aragão NJ, Santos HJ, et al. Hantavirus pulmonary syndrome in Anajatuba, Maranhão, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2001;43(4):237-240. doi:10.1590/s0036-46652001000400013
19. Fink B. How to Collect and Study Lichens. *The Bryologist*. 1905;8(2):22-27. doi:10.2307/3237900
20. Helms G. Taxonomy and Symbiosis in Associations of Physciaceae and Trebouxia. In: ; 2003. Accessed February 1, 2025. <https://www.semanticscholar.org/paper/Taxonomy-and-Symbiosis-in-Associations-of-and-Helms/798326295bfeedf9aaa8f3dc61a943781b5f2bb7>



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

21. Bicudo CE de M, Menezes M. Generos de algas de águas continentais do Brasil (chave para identificação e descrições) /.
22. Barreno ER, Ortega SP. Líquenes de la Reserva Integral de Muniellos Asturias. Oviedo (Espanha). Quadrado. Série Meio Ambiente Natureza 5.
23. Dirig R. Review of How to Know the Lichens. *Mycologia*. 1980;72(1):218-220. doi:10.2307/3759439
24. Kitaura MJ. ESTUDO TAXONÔMICO DE LEPTOGIUM (ACH.) S.F. GRAY (COLLEMATACEAE, FUNGOS LIQUENIZADOS). Published online 2012.
25. Orange A, White FJ, James PW. *Microchemical Methods for the Identification of Lichens*. 2. korr. und erw. Aufl. British Lichen Society; 2010.
26. Bolger AM, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*. 2014;30(15):2114-2120. doi:10.1093/bioinformatics/btu170
27. Nurk S, Meleshko D, Korobeynikov A, Pevzner PA. metaSPAdes: a new versatile metagenomic assembler. *Genome Res*. 2017;27(5):824-834. doi:10.1101/gr.213959.116
28. The Galaxy Community. The Galaxy platform for accessible, reproducible, and collaborative data analyses: 2024 update. *Nucleic Acids Research*. 2024;52(W1):W83-W94. doi:10.1093/nar/gkae410
29. Stanke M, Waack S. Gene prediction with a hidden Markov model and a new intron submodel. *Bioinformatics*. 2003;19(suppl_2):ii215-ii225. doi:10.1093/bioinformatics/btg1080
30. Stanke M, Diekhans M, Baertsch R, Haussler D. Using native and syntenically mapped cDNA alignments to improve de novo gene finding. *Bioinformatics*. 2008;24(5):637-644. doi:10.1093/bioinformatics/btn013
31. Keller O, Kollmar M, Stanke M, Waack S. A novel hybrid gene prediction method employing protein multiple sequence alignments. *Bioinformatics*. 2011;27(6):757-763. doi:10.1093/bioinformatics/btr010
32. Gurevich A, Saveliev V, Vyahhi N, Tesler G. QUAST: quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics*. 2013;29(8):1072-1075. doi:10.1093/bioinformatics/btt086
33. Mikheenko A, Prjibelski A, Saveliev V, Antipov D, Gurevich A. Versatile genome assembly evaluation with QUAST-LG. *Bioinformatics*. 2018;34(13):i142-i150. doi:10.1093/bioinformatics/bty266
34. Arkin AP, Cottingham RW, Henry CS, et al. KBase: The United States Department of Energy Systems Biology Knowledgebase. *Nat Biotechnol*. 2018;36(7):566-569. doi:10.1038/nbt.4163



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

35. Ondov BD, Bergman NH, Phillippy AM. Interactive metagenomic visualization in a Web browser. *BMC Bioinformatics*. 2011;12:385. doi:10.1186/1471-2105-12-385
36. Menzel P, Ng KL, Krogh A. Fast and sensitive taxonomic classification for metagenomics with Kaiju. *Nat Commun*. 2016;7:11257. doi:10.1038/ncomms11257
37. Chivian D, Jungbluth SP, Dehal PS, et al. Metagenome-assembled genome extraction and analysis from microbiomes using KBase. *Nat Protoc*. 2023;18(1):208-238. doi:10.1038/s41596-022-00747-x
38. Freitas TAK, Li PE, Scholz MB, Chain PSG. Accurate read-based metagenome characterization using a hierarchical suite of unique signatures. *Nucleic Acids Res*. 2015;43(10):e69. doi:10.1093/nar/gkv180
39. Kang D, Li F, Kirton E, et al. MetaBAT 2: an adaptive binning algorithm for robust and efficient genome reconstruction from metagenome assemblies. *PeerJ*. 2019;7. doi:10.7717/peerj.7359
40. Wu YW, Simmons BA, Singer SW. MaxBin 2.0: an automated binning algorithm to recover genomes from multiple metagenomic datasets. *Bioinformatics*. 2016;32(4):605-607. doi:10.1093/bioinformatics/btv638
41. Alneberg J, Bjarnason BS, de Bruijn I, et al. Binning metagenomic contigs by coverage and composition. *Nat Methods*. 2014;11(11):1144-1146. doi:10.1038/nmeth.3103
42. Hyatt D, Chen GL, Locascio PF, Land ML, Larimer FW, Hauser LJ. Prodigal: prokaryotic gene recognition and translation initiation site identification. *BMC Bioinformatics*. 2010;11:119. doi:10.1186/1471-2105-11-119
43. Buchfink B, Xie C, Huson DH. Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND. *Nat Methods*. 2015;12(1):59-60. doi:10.1038/nmeth.3176
44. Sieber CMK, Probst AJ, Sharrar A, et al. Recovery of genomes from metagenomes via a dereplication, aggregation and scoring strategy. *Nat Microbiol*. 2018;3(7):836-843. doi:10.1038/s41564-018-0171-1
45. Parks DH, Imelfort M, Skennerton CT, Hugenholtz P, Tyson GW. CheckM: assessing the quality of microbial genomes recovered from isolates, single cells, and metagenomes. *Genome Res*. 2015;25(7):1043-1055. doi:10.1101/gr.186072.114
46. Simão FA, Waterhouse RM, Ioannidis P, Kriventseva EV, Zdobnov EM. BUSCO: assessing genome assembly and annotation completeness with single-copy orthologs. *Bioinformatics*. 2015;31(19):3210-3212. doi:10.1093/bioinformatics/btv351
47. Seemann T. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics*. 2014;30(14):2068-2069. doi:10.1093/bioinformatics/btu153
48. Aziz RK, Bartels D, Best AA, et al. The RAST Server: Rapid Annotations using Subsystems Technology. *BMC Genomics*. 2008;9(1):75. doi:10.1186/1471-2164-9-75



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

49. Overbeek R, Olson R, Pusch GD, et al. The SEED and the Rapid Annotation of microbial genomes using Subsystems Technology (RAST). *Nucleic Acids Res.* 2014;42(Database issue):D206-214. doi:10.1093/nar/gkt1226
50. Brettin T, Davis JJ, Disz T, et al. RASTtk: a modular and extensible implementation of the RAST algorithm for building custom annotation pipelines and annotating batches of genomes. *Sci Rep.* 2015;5:8365. doi:10.1038/srep08365
51. Price MN, Dehal PS, Arkin AP. FastTree 2 – Approximately Maximum-Likelihood Trees for Large Alignments. *PLoS One.* 2010;5(3):e9490. doi:10.1371/journal.pone.0009490
52. Matsen FA, Kodner RB, Armbrust EV. pplacer: linear time maximum-likelihood and Bayesian phylogenetic placement of sequences onto a fixed reference tree. *BMC Bioinformatics.* 2010;11:538. doi:10.1186/1471-2105-11-538
53. Eddy SR. Accelerated Profile HMM Searches. *PLoS Comput Biol.* 2011;7(10):e1002195. doi:10.1371/journal.pcbi.1002195
54. Ondov BD, Treangen TJ, Melsted P, et al. Mash: fast genome and metagenome distance estimation using MinHash. *Genome Biol.* 2016;17(1):132. doi:10.1186/s13059-016-0997-x
55. Jain C, Rodriguez-R LM, Phillippy AM, Konstantinidis KT, Aluru S. High-throughput ANI Analysis of 90K Prokaryotic Genomes Reveals Clear Species Boundaries. Published online November 27, 2017:225342. doi:10.1101/225342
56. Meier-Kolthoff JP, Göker M. TYGS is an automated high-throughput platform for state-of-the-art genome-based taxonomy. *Nat Commun.* 2019;10(1):2182. doi:10.1038/s41467-019-10210-3
57. Meier-Kolthoff JP, Carbasse JS, Peinado-Olarte RL, Göker M. TYGS and LPSN: a database tandem for fast and reliable genome-based classification and nomenclature of prokaryotes. *Nucleic Acids Research.* 2022;50(D1):D801-D807. doi:10.1093/nar/gkab902
58. Meier-Kolthoff JP, Auch AF, Klenk HP, Göker M. Genome sequence-based species delimitation with confidence intervals and improved distance functions. *BMC Bioinformatics.* 2013;14(1):60. doi:10.1186/1471-2105-14-60
59. Farris JS. Estimating Phylogenetic Trees from Distance Matrices. *The American Naturalist.* 1972;106(951):645-668. doi:10.1086/282802
60. Kreft L, Botzki A, Coppens F, Vandepoele K, Van Bel M. PhyD3: a phylogenetic tree viewer with extended phyloXML support for functional genomics data visualization. Published online 2017. Accessed April 1, 2025. <https://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/btx324>



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

61. Goris J, Konstantinidis KT, Klappenbach JA, Coenye T, Vandamme P, Tiedje JM. DNA-DNA hybridization values and their relationship to whole-genome sequence similarities. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2007;57(Pt 1):81-91. doi:10.1099/ij.s.0.64483-0
62. Meier-Kolthoff JP, Hahnke RL, Petersen J, et al. Complete genome sequence of DSM 30083T, the type strain (U5/41T) of *Escherichia coli*, and a proposal for delineating subspecies in microbial taxonomy. *Standards in Genomic Sciences*. 2014;9(1):2. doi:10.1186/1944-3277-9-2
63. Meier-Kolthoff JP, Klenk HP, Göker M. Taxonomic use of DNA G+C content and DNA-DNA hybridization in the genomic age. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2014;64(Pt 2):352-356. doi:10.1099/ij.s.0.056994-0
64. Benatti MN, Kitaura MJ, Dias IPRC, Marcelli MP. Cianoliquens dos gêneros *Coccocarpia*, *Collema* e *Leptogium* do Parque Estadual da Cantareira, SP, Brasil, depositados no herbário SP. *Hoehnea*. 2013;40:131-141. doi:https://doi.org/10.1590/S2236-89062013000100007
65. Flores E, Herrero A. Compartmentalized function through cell differentiation in filamentous cyanobacteria. *Nat Rev Microbiol*. 2010;8(1):39-50. doi:10.1038/nrmicro2242
66. Gagunashvili AN, Andr sson  S. Distinctive characters of *Nostoc* genomes in cyanolichens. *BMC Genomics*. 2018;19(1):434. doi:10.1186/s12864-018-4743-5
67. Warshan D, Liaimer A, Pederson E, et al. Genomic Changes Associated with the Evolutionary Transitions of *Nostoc* to a Plant Symbiont. *Molecular Biology and Evolution*. 2018;35(5). doi:10.1093/molbev/msy029
68. Rikkinen J. Relations Between Cyanobacterial Symbionts in Lichens and Plants. *Microbiology Monographs*. Published online 2007. doi:10.1007/7171_2007_102
69. Fedrowitz K, Kaasalainen U, Rikkinen J. Geographic mosaic of symbiont selectivity in a genus of epiphytic cyanolichens. *Ecology and Evolution*. 2012;2(9). doi:10.1002/ece3.343
70. Card s JLH, Prieto M, Jylh  M, et al. A case study on the re-establishment of the cyanolichen symbiosis: where do the compatible photobionts come from? *Annals of Botany*. 2019;124(3). doi:10.1093/aob/mcz052
71. Mikheenko A, Prjibelski AD, Saveliev V, Antipov D, Gurevich A. Versatile genome assembly evaluation with QUAST-LG. *Bioinformatics*. 2018;34(13). doi:10.1093/bioinformatics/bty266
72. Achudhan AB, Kannan P, Saleena LM. Functional metagenomics uncovers nitrile-hydrolysing enzymes in a coal metagenome. *Front Mol Biosci*. 2023;10. doi:10.3389/fmolb.2023.1123902



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

73. Cameron ES, Sanchez S, Goldman N, Blaxter ML, Finn RD. Diversity and specificity of molecular functions in cyanobacterial symbionts. Published online March 23, 2024:2024.03.22.586251. doi:10.1101/2024.03.22.586251
74. Cruz M de la, González I, Parish CA, et al. Production of Ramoplanin and Ramoplanin Analogs by Actinomycetes. *Frontiers in Microbiology*. 2017;8. doi:10.3389/fmicb.2017.00343
75. Carro L, Nouioui I, Sangal V, et al. Genome-based classification of micromonosporae with a focus on their biotechnological and ecological potential. *Scientific Reports*. 2018;8(1). doi:10.1038/s41598-017-17392-0
76. Stewart KJ, Siciliano SD. Potential Contribution of Native Herbs and Biological Soil Crusts to Restoration of the Biogeochemical Nitrogen Cycle in Mining Impacted Sites in Northern Canada. *Ecological Restoration*. 2015;33(1):30-42. doi:10.3368/er.33.1.30
77. Zhao Y, Liu Q, Kang MS, Jin F, Yu HQ, Im WT. *Nocardioideus ungokensis* sp. nov., isolated from lake sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2015;65(Pt_12). doi:10.1099/ijsem.0.000657
78. Mesfin M, Johansen JR, Pietrasiak N, Baldarelli LM. *Nostoc oromo* sp. nov. (Nostocales, Cyanophyceae) from Ethiopia: a new species based on morphological and molecular evidence. *Phytotaxa*. 2020;433(2):81-93. doi:10.11646/phytotaxa.433.2.1
79. Chopyk J, Nasko DJ, Allard S, et al. Seasonal dynamics in taxonomy and function within bacterial and viral metagenomic assemblages recovered from a freshwater agricultural pond. *Environmental Microbiome*. 2020;15(1). doi:10.1186/s40793-020-00365-8
80. Hamed SM, Elgaml NM, Eissa ST. Integrated biofertilization using yeast with cyanobacteria on growth and productivity of wheat. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*. 2022;11(1). doi:10.1186/s43088-022-00288-y
81. Liu Q, Xin YH, Liu HC, Zhou YG, Wen Y. *Nocardioideus szechwanensis* sp. nov. and *Nocardioideus psychrotolerans* sp. nov., isolated from a glacier. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2013;63(Pt_1). doi:10.1099/ijms.0.038091-0
82. Muggia L, Fleischhacker A, Kopun T, Grube M. Extremotolerant fungi from alpine rock lichens and their phylogenetic relationships. *Fungal Diversity*. 2015;76(1). doi:10.1007/s13225-015-0343-8
83. Muggia L, Kopun T, Grube M. Effects of Growth Media on the Diversity of Culturable Fungi from Lichens. *Molecules*. 2017;22(5):824. doi:10.3390/molecules22050824
84. Wang Y, Zheng Y, Wang X, Wei X, Wei J. Lichen-Associated Fungal Community in *Hypogymnia hypotrypa* (Parmeliaceae, Ascomycota) Affected by Geographic Distribution and Altitude. *Frontiers in Microbiology*. 2016;7. doi:10.3389/fmicb.2016.01231



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

85. Smith H, Grande FD, Muggia L, et al. Metagenomic data reveal diverse fungal and algal communities associated with the lichen symbiosis. Published online March 5, 2020:2020.03.04.966853. doi:10.1101/2020.03.04.966853
86. Selbmann L, Grube M, Onofri S, Isola D, Zucconi L. Antarctic Epilithic Lichens as Niches for Black Meristematic Fungi. *Biology*. 2013;2(2):784-797. doi:10.3390/biology2020784
87. Yang J, Woo JJ, Sesal C, et al. Cross-border comparison of mycobiomes in *Parmelia* and *Peltigera* lichens from Turkey and South Korea. Published online November 9, 2023. doi:10.21203/rs.3.rs-3566204/v1
88. Yang J, Woo JJ, Sesal C, et al. Continental scale comparison of mycobiomes in *Parmelia* and *Peltigera* lichens from Turkey and South Korea. *BMC Microbiology*. 2024;24(1):243. doi:10.1186/s12866-024-03388-0
89. Schoch CL, Crous PW, Groenewald JZ, et al. A class-wide phylogenetic assessment of Dothideomycetes. *Studies in Mycology*. 2009;64(1):1-15. doi:10.3114/sim.2009.64.01
90. Zhang T, Wei XL, Zhang YQ, Liu HY, Yu LY. Diversity and distribution of lichen-associated fungi in the Ny-Ålesund Region (Svalbard, High Arctic) as revealed by 454 pyrosequencing. *Sci Rep*. 2015;5:14850. doi:10.1038/srep14850
91. Muggia L, Grube M. Fungal Diversity in Lichens: From Extremotolerance to Interactions with Algae. *Life*. 2018;8(2):15. doi:10.3390/life8020015
92. Muggia L, Grube M. Fungal Diversity in Lichens: From Extremotolerance to Interactions with Algae. *Life*. 2018;8(2):15. doi:10.3390/life8020015
93. Joneson S, O'Brien H. A molecular investigation of free-living and lichenized *Nostoc* sp. and symbiotic lifestyle determination. *The Bryologist*. 2017;120(4):371-381. doi:10.1639/0007-2745-120.4.371
94. Ivanov D, Yaneva G, Potoroko I, Ivanova D. Contribution of Cyanotoxins to the Ecotoxicological Role of Lichens. *Toxins*. 2021;13(5). doi:10.3390/toxins13050321
95. Menzel P, Ng KL, Krogh A. Fast and sensitive taxonomic classification for metagenomics with Kaiju. *Nat Commun*. 2016;7(1):11257. doi:10.1038/ncomms11257
96. Uritskiy G, DiRuggiero J, Taylor J. MetaWRAP—a flexible pipeline for genome-resolved metagenomic data analysis. *Microbiome*. 2018;6(1). doi:10.1186/s40168-018-0541-1
97. Kayani M ur R, Zaidi SSA, Feng R, et al. Genome-Resolved Characterization of Structure and Potential Functions of the Zebrafish Stool Microbiome. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2022;12. doi:10.3389/fcimb.2022.910766
98. Liu S, Zeng J, Huang Y, et al. Antimony efflux underpins phosphorus cycling and resistance of phosphate-solubilizing bacteria in mining soils. *The ISME Journal*. 2023;17(8). doi:10.1038/s41396-023-01445-6



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

99. Brettin T, Davis JJ, Disz T, et al. RASTtk: A modular and extensible implementation of the RAST algorithm for building custom annotation pipelines and annotating batches of genomes. *Sci Rep.* 2015;5(1):8365. doi:10.1038/srep08365
100. Jeilu O, Simachew A, Alexandersson E, Johansson E, Gessesse A. Discovery of novel carbohydrate degrading enzymes from soda lakes through functional metagenomics. *Frontiers in Microbiology.* 2022;13. doi:10.3389/fmicb.2022.1059061
101. Maatouk M, Ibrahim A, Rolain JM, Merhej V, Bittar F. Small and Equipped: the Rich Repertoire of Antibiotic Resistance Genes in Candidate Phyla Radiation Genomes. *mSystems.* 2021;6(6):e00898-21. doi:10.1128/mSystems.00898-21
102. Liu F, Li J, Feng G, Li Z. New Genomic Insights into “Enttheonella” Symbionts in Theonella swinhoei: Mixotrophy, Anaerobic Adaptation, Resilience, and Interaction. *Frontiers in Microbiology.* 2016;7. doi:10.3389/fmicb.2016.01333
103. Luziatelli F, Ficca AG, Cardarelli M, Melini F, Cavalieri A, Ruzzi M. Genome Sequencing of Pantoea agglomerans C1 Provides Insights into Molecular and Genetic Mechanisms of Plant Growth-Promotion and Tolerance to Heavy Metals. *Microorganisms.* 2020;8(2):153. doi:10.3390/microorganisms8020153
104. Amadesi S, Virgili G, Marchionni E, et al. Severe Escherichia coli infections in critical adult patients: two case reports and genomic analysis. *New Microbiol.* 2023;46(1):24-28.
105. Komaki H, Hosoyama A, Ichikawa N, Igarashi Y. Draft Genome Sequence of Marine-Derived Bacillus subtilis TP-B0611, a Producer of Bacilosarcins and Amicoumacins. *Genome Announcements.* 2016;4(5). doi:10.1128/genomea.01134-16
106. Zervas A, Zeng Y, Madsen AM, Hansen LH. Genomics of Aerobic Photoheterotrophs in Wheat Phyllosphere Reveals Divergent Evolutionary Patterns of Photosynthetic Genes in Methylobacterium spp. *Genome Biology and Evolution.* 2019;11(10):2895-2908. doi:10.1093/gbe/evz204
107. Miyagishima SY, Suzuki K, Okazaki K, Kabeya Y. Expression of the nucleus-encoded chloroplast division genes and proteins regulated by the algal cell cycle. *Mol Biol Evol.* 2012;29(10):2957-2970. doi:10.1093/molbev/mss102
108. Hilton JA, Meeks JC, Zehr JP. Surveying DNA Elements within Functional Genes of Heterocyst-Forming Cyanobacteria. *Plos One.* 2016;11(5). doi:10.1371/journal.pone.0156034
109. Zhang CC, Zhou CZ, Burnap RL, Peng L. Carbon/Nitrogen Metabolic Balance: Lessons from Cyanobacteria. *Trends Plant Sci.* 2018;23(12):1116-1130. doi:10.1016/j.tplants.2018.09.008
110. Mohapatra S, Prabhukarthikeyan SR, Biswal G, et al. Comprehensive genome analysis of Streptomyces caeruleatus S14 isolated from rice rhizosphere. *Front Plant Sci.* 2025;16:1526700. doi:10.3389/fpls.2025.1526700



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

111. Wattam AR, Davis JJ, Assaf R, et al. Improvements to PATRIC, the all-bacterial Bioinformatics Database and Analysis Resource Center. *Nucleic Acids Research*. 2016;45(D1). doi:10.1093/nar/gkw1017
112. Frank M, Schloissnig S. Bioinformatics and molecular modeling in glycobiology. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2010;67(16). doi:10.1007/s00018-010-0352-4
113. Nualnisachol P, Chumnanpuen P, E-kobon T. Understanding Snail Mucus Biosynthesis and Shell Biomineralisation through Genomic Data Mining of the Reconstructed Carbohydrate and Glycan Metabolic Pathways of the Giant African Snail (*Achatina fulica*). *Biology*. 2023;12(6). doi:10.3390/biology12060836
114. Zhong Q, Wang B, Wang J, Liu Y, Fang X, Liao Z. Global Proteomic Analysis of the Resuscitation State of *Vibrio parahaemolyticus* Compared With the Normal and Viable but Non-culturable State. *Frontiers in Microbiology*. 2019;10. doi:10.3389/fmicb.2019.01045
115. Malik A, Kim YR, Kim SB. Genome Mining of the Genus *Streptacidiphilus* for Biosynthetic and Biodegradation Potential. *Genes*. 2020;11(10). doi:10.3390/genes11101166
116. Zhao X, Xu Y, Viel JH, Kuipers OP. Semisynthetic Macrocyclic Lipo-lanthipeptides Display Antimicrobial Activity Against Bacterial Pathogens. *ACS Synthetic Biology*. 2021;10(8). doi:10.1021/acssynbio.1c00161
117. Sedeek AM, Salah I, Kamel HL, et al. Genome-Based Analysis of the Potential Bioactivity of the Terrestrial *Streptomyces vinaceusdrappus* Strain AC-40. *Biology*. 2023;12(3). doi:10.3390/biology12030345
118. Kampa A, Gagunashvili A, Gulder TAM, et al. Metagenomic natural product discovery in lichen provides evidence for a family of biosynthetic pathways in diverse symbioses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013;110(33). doi:10.1073/pnas.1305867110
119. Huo D, Li H, Cai F, et al. Genome Evolution of Filamentous Cyanobacterium *Nostoc* Species: From Facultative Symbiosis to Free Living. *Microorganisms*. 2021;9(10). doi:10.3390/microorganisms9102015
120. Mus F, Crook MB, Garcia K, et al. Symbiotic Nitrogen Fixation and the Challenges to Its Extension to Nonlegumes. *Applied and Environmental Microbiology*. 2016;82(13). doi:10.1128/aem.01055-16
121. Li FW, Brouwer P, Carretero-Paulet L, et al. Fern genomes elucidate land plant evolution and cyanobacterial symbioses. *Nature Plants*. 2018;4(7). doi:10.1038/s41477-018-0188-8
122. Warshan D, Espinoza JL, Stuart R, et al. Feathermoss and epiphytic *Nostoc* cooperate differently: expanding the spectrum of plant–cyanobacteria symbiosis. *The ISME Journal*. 2017;11(12). doi:10.1038/ismej.2017.134



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

123. Brenes-Álvarez M, Olmedo-Verd E, Vioque A, Muro-Pastor AM. A nitrogen stress-inducible small RNA regulates CO₂ fixation in Nostoc. *Plant Physiology*. 2021;187(2):787-798. doi:10.1093/plphys/kiab309
124. Carrell AA, Veličković D, Lawrence TJ, et al. Novel metabolic interactions and environmental conditions mediate the boreal peatmoss-cyanobacteria mutualism. *The ISME Journal*. 2021;16(4). doi:10.1038/s41396-021-01136-0



ANEXOS

Figuras suplementares

Figura suplementar 1: Avaliação da qualidade das *reads* pelo FastQC antes e após o processamento.

(A) Detecção de adaptadores nas sequências R1 paired antes do processamento; (B) Detecção de adaptadores nas sequências R2 paired antes do processamento. (C) Qualidade das sequências R1 paired após a remoção de adaptadores pelo Trimmomatic; (D) Qualidade das sequências R2 paired após a remoção de adaptadores pelo Trimmomatic.



Figura suplementar 2. Avaliação da qualidade dos MAGs utilizando CheckM. Distribuição dos genes essenciais em cada bin, indicando completude (verde), ausência de genes (cinza), heterogeneidade (azul) e contaminação (amarelo/vermelho).

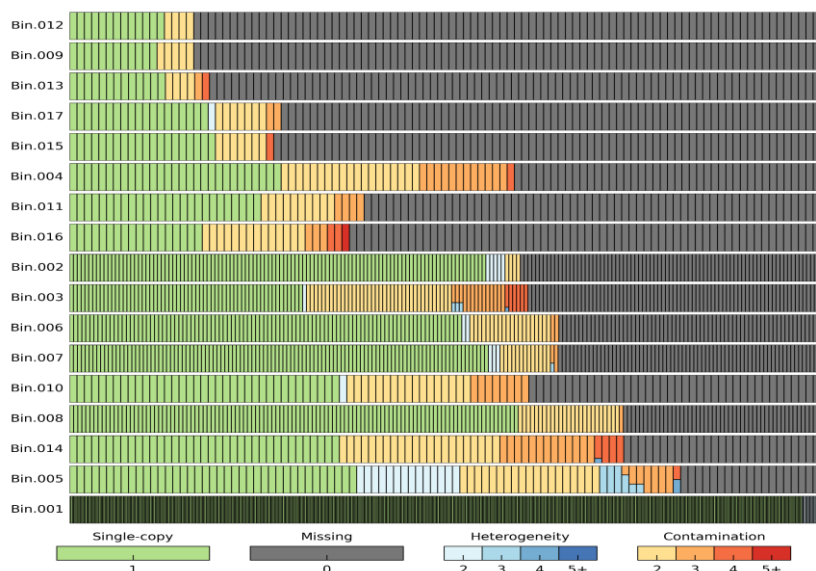
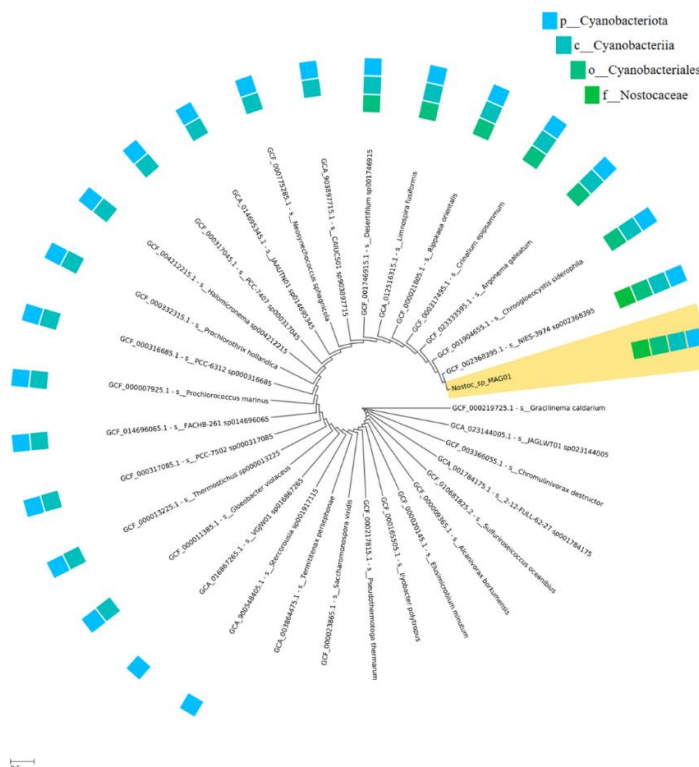


Figura Suplementar 3. Árvore filogenética gerada pela ferramenta GTDB-Tk, mostrando a relação evolutiva entre o genoma reconstruído *Nostoc* sp. MAG01 e outros genomas de referência a nível de família. O genoma *Nostoc* sp. MAG01 está destacado em amarelo.





UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Tabelas Suplementares

Tabela suplementar 1. Regiões e agrupamentos gênicos biossintéticos identificados pelo antiSMASH para bactérias (Clássico).

Region	Type	From	To	Most similar known cluster			Similarity
Region 14.1	NRPS	1	6,006				
Region 207.1	NRPS	1	6,489				
Region 208.1	NRPS	1	4,317	anabaenopeptin NZ857 / nostamide A	NRP		100%
Region 298.1	terpene	1	2,238	geosmin	Terpene		100%
Region 369.1	terpene	1	1,056				
Region 418.1	NRPS	1	10,95				
Region 420.1	NRPS	1	8,553				
Region 423.1	NRPS	1	9,093				
Region 424.1	NRPS	1	6,423				
Region 504.1	lanthipeptid e-class-ii	1	3,369				
Region 539.1	NRPS	1	7,83	anabaenopeptin NZ857 / nostamide A	NRP		100%
Region 542.1	hglE-KS	1	7,005				
Region 639.1	terpene	1	2,238	geosmin	Terpene		100%
Region 771.1	hglE-KS	1	5,361				
Region 773.1	hglE- KS,T1PKS	1	4,746				
Region 841.1	NRPS	1	3,618				
Region 844.1	NRPS-like	1	1,464				
Region 845.1	T1PKS	1	5,838				
Region 846.1	NRPS-like	1	2,289	anabaenopeptin NZ857 / nostamide A	NRP		100%
Region 984.1	phosphonate	1	1,56				
Region 995.1	T1PKS	1	3,075				
Region 1152.1	NRPS	1	6,639	anabaenopeptin NZ857 / nostamide A	NRP		100%
Region 1153.1	NRPS	1	6,282	anabaenopeptin NZ857 / nostamide A	NRP		100%
Region 1154.1	NRPS	1	3,171	anabaenopeptin NZ857 / nostamide A	NRP		100%
Region 1156.1	NRPS	1	7,356				
Region 1158.1	NRPS	1	4,191				
Region 1188.1	NRPS	1	2,067				
Region 1555.1	NRPS	1	5,343				
Region 1556.1	T1PKS	1	5,931				
Region 1559.1	NRPS	1	4,629				
Region 1638.1	NRPS-like	1	2,568	anabaenopeptin NZ857 / nostamide A	NRP		100%
Region 1804.1	NRPS-like	1	2,28				
Region 1805.1	T1PKS	1	5,823				



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Region 1834.1	indole	1	1,182			
Region 1953.1	phosphonate	1	1,008			
Region 1981.1	NRPS	1	6,003			
Region 2057.1	NRPS-like	1	2,409	aculeacin A	NRP	100%
Region 2058.1	NRPS	1	1,788			
Region 2080.1	T1PKS	1	3,666	naphthopyrone	Polyketide	100%
Region 2102.1	NRPS-like	1	2,328			
Region 2122.1	NRPS-like	1	2,301	anabaenopeptin NZ857 / nostamide A	NRP	100%
Region 2124.1	T1PKS	1	4,677			
Region 2152.1	lanthipeptid e-class-ii	1	2,7			
Region 2162.1	lanthipeptid e-class-ii	1	3,306			
Region 2295.1	NRPS	1	2,457			
Region 2389.1	T1PKS	1	8,22			
Region 2696.1	siderophore	1	1,851			
Region 2757.1	NRPS	1	2,865			
Region 2807.1	terpene	1	1,17			
Region 2843.1	NRPS-like	1	2,607			
Region 3112.1	NRPS	1	3,279	anabaenopeptin NZ857 / nostamide A	NRP	100%
Region 3113.1	T1PKS	1	6,093			
Region 3272.1	T1PKS,NRP S-like	1	7,515			
Region 3371.1	ladderane	1	1,215			
Region 3429.1	NRPS-like	1	2,376			
Region 3457.1	T1PKS	1	4,014			
Region 3623.1	T1PKS	1	2,778	1,3,6,8-tetrahydroxynaphthalene	Polyketide	100%
Region 3873.1	T1PKS	1	7,155			
Region 3937.1	NRPS-like	1	2,649			
Region 3950.1	lanthipeptid e-class-ii	1	3,213			
Region 3955.1	RRE- containing	1	2,232			
Region 3966.1	T1PKS	1	5,442			
Region 4143.1	RiPP-like	1	2,007			
Region 4514.1	T1PKS	1	6,111			
Region 4551.1	NRPS-like	1	2,19			
Region 4565.1	NRPS-like	1	2,097			
Region 4811.1	NRPS-like	1	1,746			
Region 5000.1	NRPS-like	1	2,709			
Region 5044.1	RiPP-like	1	1,644			



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Region 5127.1	NRPS	1	4,779			
Region 5706.1	T3PKS	1	1,062			
Region 5927.1	NRPS-like	1	2,166			
Region 6137.1	other	1	1,536			
Region 6162.1	NRPS-like	1	1,977			
Region 6437.1	NRPS	1	3,855			
Region 6855.1	NRPS	1	3,426			
Region 7208.1	NRPS-like	1	2,463			
Region 7314.1	cyanobactin	1	2,028			
Region 7463.1	NRPS	1	3,129			
Region 8161.1	NRPS-like	1	1,251			
Region 8897.1	NRPS	1	1,071			
Region 9176.1	NRPS	1	1,89			
Region 9407.1	NRPS-like	1	2,22			
Region 9630.1	NRPS-like	1	1,887			
Region 9820.1	NRPS-like	1	2,862			
Region 10553.1	lanthipeptid e-class-ii	1	2,409			
Region 10736.1	NRPS	1	2,112			
Region 10738.1	terpene	1	1,206			
Region 10775.1	terpene	1	1,059			
Region 10785.1	terpene	1	1,545			
Region 10945.1	NRPS-like	1	1,104			
Region 11918.1	NRPS-like	1	2,076			
Region 13103.1	NRPS	1	1,62	rhizomide A / rhizomide B / rhizomide C	NRP	100%
Region 13113.1	NRPS	1	1,092			
Region 14337.1	terpene	1	1,071			
Region 14977.1	cyanobactin	1	1,785			
Region 15149.1	NRPS-like	1	1,557			
Region 15218.1	terpene	1	1,482			
Region 15537.1	RiPP-like	1	1,47			
Region 15866.1	T3PKS	1	1,08			

Tabela suplementar 2. Regiões e agrupamentos gênicos biossintéticos identificados pelo fungiSMASH.

Region	Type	From	To	Most similar known cluster	Similarity
Region 10017.1	NRPS	1	2,964		
Region 10846.1	RRE-containing	1	2,865		



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Region 10877.1	NRPS	1	3,204			
Region 1110.1	T1PKS	1	7,269			
Region 11293.1	terpene	1	2,682			
Region 11774.1	NRPS	1	2,901			
Region 11900.1	RRE-containing	1	1,2			
Region 12127.1	NRPS	1	2,952			
Region 12211.1	NRPS	1	3,189			
Region 12268.1	NRPS	1	3,009			
Region 12458.1	NRPS	1	2,835	xenematide	NRP	100%
Region 129.1	terpene	1	3,609	geosmin	Terpene	100%
Region 1308.1	NRPS-like	1	3,273			
Region 13366.1	T1PKS	1	2,667			
Region 13655.1	NRPS	1	2,601			
Region 14005.1	NRPS	1	2,358			
Region 14044.1	lanthipeptide-class-ii	1	2,247			
Region 14047.1	T3PKS	1	1,905			
Region 14379.1	terpene	1	2,541			
Region 14395.1	NRPS	1	2,616			
Region 1455.1	T1PKS	1	7,089			
Region 14594.1	NRPS-like	1	1,11			
Region 15282.1	RiPP-like	1	1,866			
Region 15352.1	RRE-containing	1	2,052			
Region 15796.1	proteusin	1	1,926			
Region 16005.1	NRPS-like	1	2,076			
Region 1603.1	T1PKS	1	7,794			
Region 16301.1	NRPS-like	1	2,016			
Region 16516.1	NRPS-like	1	1,776			
Region 1713.1	NRPS,T1PKS	1	11,937			
Region 17295.1	thioamitides	1	1,83			
Region 17822.1	NRPS	1	2,184	rhizomide A / rhizomide B / rhizomide C	NRP	100%
Region 17875.1	terpene	1	2,037			
Region 1936.1	T1PKS	1	7,638	monascorubrin	Polyketide	100%
Region 19845.1	terpene	1	1,071			



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Region 20352.1	NRPS	1	1,596	bicornutin A1 / bicornutin A2	NRP	100%
Region 2063.1	phosphonate	1	1,935			
Region 20928.1	cyanobactin	1	1,551			
Region 21005.1	NRPS	1	1,731			
Region 2103.1	terpene	1	2,202			
Region 21033.1	RiPP-like	1	1,104			
Region 21150.1	NRPS	1	1,842			
Region 21364.1	terpene	1	1,473			
Region 21878.1	NRPS	1	1,629	anabaenopeptin NZ857 / nostamide A	NRP	100%
Region 21919.1	RiPP-like	1	1,407			
Region 2226.1	NRPS-like	1	4,632			
Region 22282.1	RiPP-like	1	1,608			
Region 2277.1	T1PKS	1	6,63			
Region 2324.1	T1PKS,NRPS-like	1	11,856			
Region 23974.1	terpene	1	1,416			
Region 248.1	terpene	1	3,609	geosmin	Terpene	100%
Region 25282.1	NRPS-like	1	1,326			
Region 25860.1	RiPP-like	1	1,107			
Region 2659.1	NRPS	1	16,272			
Region 26626.1	T1PKS	1	1,419			
Region 26739.1	NRPS	1	1,197			
Region 2838.1	T1PKS	1	8,22			
Region 2839.1	indole	1	1,173			
Region 2851.1	T1PKS	1	8,517	pyranonigrin E	Polyketide	100%
Region 2854.1	T1PKS,NRPS-like	1	11,688			
Region 28559.1	RiPP-like	1	1,242			
Region 30442.1	RiPP-like	1	1,167			
Region 3065.1	T1PKS	1	7,629			
Region 3154.1	NRPS-like,T1PKS	1	12			
Region 3175.1	T1PKS	1	7,509			
Region 3249.1	T1PKS	1	7,878			
Region 3518.1	T1PKS	1	7,839			
Region 3519.1	T1PKS	1	3,84			
Region 3548.1	T1PKS	1	7,341			



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Region 3614.1	NRPS-like	1	6,864			
Region 3718.1	terpene	1	1,644			
Region 3798.1	T1PKS	1	12,231			
Region 3871.1	T1PKS	1	5,547	naphthopyrone	Polyketide	100%
Region 3956.1	T1PKS	1	7,233			
Region 402.1	T1PKS	1	3,756			
Region 4170.1	T1PKS	1	6,495			
Region 442.1	NRPS	1	19,896	cyclo-(D-Phe-L-Phe-D-Val-L-Val)	NRP:Cyclic depsipeptide	100%
Region 4496.1	T1PKS,NRPS-like	1	7,515			
Region 4731.1	NRPS	1	5,523			
Region 4769.1	NRPS,T1PKS	1	13,185			
Region 4839.1	thioamitides	1	4,224			
Region 5047.1	T1PKS	1	5,913	melanin	Polyketide	100%
Region 5434.1	T1PKS	1	7,839			
Region 5509.1	NRPS-like	1	2,76			
Region 5530.1	lanthipeptide-class-ii	1	4,701			
Region 5549.1	T1PKS	1	10,332			
Region 5822.1	RiPP-like	1	4,608			
Region 5985.1	terpene	1	1,266			
Region 6316.1	NRPS-like,T1PKS	1	7,512			
Region 6383.1	NRPS-like	1	3,966			
Region 6439.1	terpene	1	1,152			
Region 6591.1	phosphonate	1	3,759			
Region 6758.1	terpene	1	1,428			
Region 6969.1	NRPS-like	1	4,044			
Region 7027.1	RiPP-like	1	1,488			
Region 7140.1	NRPS	1	4,506			
Region 734.1	NRPS	1	4,626			
Region 7918.1	terpene	1	2,679			
Region 7969.1	RiPP-like	1	1,572			
Region 8397.1	other	1	2,874			
Region 8423.1	NRPS-like	1	4,506			
Region 863.1	T1PKS	1	5,418	6-methylsalicyclic acid	Polyketide	100%
Region 866.1	T1PKS	1	8,043			



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Region 8764.1	NRPS	1	3,708			
Region 884.1	T1PKS	1	4,269			
Region 902.1	T1PKS	1	7,122			
Region 9191.1	RRE-containing	1	2,121			
Region 9275.1	NRPS	1	4,335			
Region 9701.1	NRPS-like	1	2,445			

Tabela suplementar 3: Resultado tabelado da montagem do MAGs realizada pelo MaxBin2, com completude do marcador, conteúdo de GC, número de contigs e comprimento total do MAG01.

Nome do Bin	Completeness	Conteúdo GC	Número de Contigs	Comprimento total do contig
Bin.001.fasta	0,991	0,411	381	8.903.203 bp
Bin.002.fasta	0,393	0,69	716	2.371.523 bp
Bin.003.fasta	0,458	0,717	3867	9.155.619 bp
Bin.004.fasta	0,346	0,476	3140	3.249.6934 bp
Bin.005.fasta	0,692	0,488	3832	6.474.991 bp
Bin.006.fasta	0,579	0,667	1351	5.792.961 bp
Bin.007.fasta	0,617	0,634	2023	4.709.301 bp
Bin.008.fasta	0,692	0,56	2829	5.71.8911 bp
Bin.009.fasta	0,178	0,746	2917	4.301.719 bp
Bin.010.fasta	0,551	0,621	4680	7.829.222 bp
Bin.011.fasta	0,299	0,727	3087	5.151.068 bp
Bin.012.fasta	0,14	0,679	1881	3.098.145 bp
Bin.013.fasta	0,14	0,701	2056	3.357.377 bp
Bin.014.fasta	0,654	0,656	3614	6.275.384 bp
Bin.015.fasta	0,224	0,716	4707	7.217.838 bp
Bin.016.fasta	0,271	0,743	6594	9.653.956 bp
Bin.017.fasta	0,234	0,686	3619	5.391.365 bp

Tabela suplementar 4. Regiões e agrupamentos gênicos biossintéticos identificados pelo antiSMASH para o MAG.

Region	Type	From	To	Most similar known cluster		Similarity
Region 35.1	terpene	12,883	35,15	geosmin	Terpene	1
Region 59.1	lanthipeptide-class-v	6,308	48,606			



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Region 61.1	phenazine	1	2,163			
Region 63.1	LAP	1	11,306	muscoride A/muscoride B	Alkaloid+ RiPP+Terpene	0,2
Region 68.1	terpene	65,005	86,06	nostophycin	NRP+Polyketide	0,27
Region 76.1	mycosporine-like,lanthipeptide-class-v	23,025	86,034	shinorine/4-deoxygadusol/mycosporine glycine	NRP	0,75
Region 80.1	NRPS,T1PKS	1	38,35	cyanochelin A	NRP+Polyketide	0,45
Region 85.1	microviridin	53,5	73,634	microviridin N9/microviridin N8/microviridin N7/microviridin N6/microviridin N5/microviridin N4/microviridin N3	RiPP:Microviridin	0,33
Region 94.1	terpene	1	9,537			
Region 98.1	NRPS	1	72,031	hassallidin C	NRP+Saccharide:Hybrid/tailoring g saccharide	0,34
Region 110.1	NRPS-like	1	35,219	bovienimide A	NRP:Lipopeptide	1
Region 114.1	NRPS	50,746	96,751			
Region 132.1	proteusin,lanthipeptide-class-ii	54,933	92,392			
Region 150.1	NRPS	55,632	90,467			
Region 152.1	NRPS	1	1,634	bovienimide A	NRP:Lipopeptide	1
Region 157.1	hglE-KS	1	34,376	heterocyst glycolipids	Other	0,57
Region 163.1	terpene	84	21,016			
Region 181.1	terpene	1	5,878			
Region 188.1	terpene	12,878	35,145	geosmin	Terpene	1
Region 204.1	thiopeptide,LAP	1	28,304			



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Region 207.1	NRPS	1	28,265	vatiamide A/vatiamide B/vatiamide C/vatiamide D/vatiamide E/vatiamide F	NRP+Poly ketide	0,1
Region 236.1	T1PKS,NRPS	1	26,312	anachelin	NRP+Poly ketide	0,3
Region 242.1	lanthipeptide-class-ii	1	13,517			
Region 244.1	hglE-KS,T1PKS	6,311	58,484	heterocyst glycolipids	Other	1
Region 258.1	NRPS,T1PKS	10,997	71,877	nostopeptolide A2	Polyketide +NRP:Cyclic depsipeptide	0,5
Region 260.1	proteusin	259	22,216	PlpA1/PlpA2/PlpA3	RiPP	0,33
Region 284.1	NRPS	1	3,801	bovienimide A	NRP:Lipo peptide	1
Region 302.1	terpene	1	11,127			
Region 308.1	phosphonate	48,877	61,239			
Region 314.1	T1PKS,lanthipeptide-class-v	1	42,934	bartoloside 2/bartoloside 3/bartoloside 4	Other	0,27
Region 327.1	NI-siderophore	1	19,276			
Region 330.1	T1PKS	1	3,177	microsclerodermin	NRP+Poly ketide:Modular type I polyketide	0,28
Region 357.1	NRPS,betalactone	1	52,719	anabaenopeptin NZ857/nostamide A	NRP	1
Region 361.1	terpene	1	16,891			
Region 364.1	NRPS	1	31,012	nostopeptolide A2	Polyketide +NRP:Cyclic depsipeptide	0,87
Region 368.1	phenazine	1	2,702			



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Region 370.1	T1PKS,NRPS	1	15,763	nostopeptolide A1/nostopeptolide 1052	NRP:Cycli c depsipepti de+Polyket ide:Modul ar type I polyketide	0,37
--------------	------------	---	--------	--	--	------

Tabela suplementar 5. Resultados do GGDC da análise comparativa de hibridização do MAG01 com 29 linhagens de *Nostoc*. Paramentos realizadas com as três fórmulas do GGDC.

Query genome	Reference genome	DDH	Model C.I.	Distance	Prob. DDH >= 70%
Fórmula 1					
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_005869855.1	44	[40.6 - 47.4%]	0.3554	4.09
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_014697355.1	37.2	[33.8 - 40.7%]	0.4217	0.83
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017114945.1	29.3	[25.9 - 32.9%]	0.5244	0.07
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115025.1	27	[23.6 - 30.6%]	0.5617	0.03
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017114995.1	27.1	[23.8 - 30.8%]	0.559	0.03
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115165.1	26.9	[23.5 - 30.5%]	0.5634	0.03
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002949795.1	26.9	[23.6 - 30.5%]	0.5628	0.03
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_028623165.1	26.6	[23.2 - 30.2%]	0.5685	0.02
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115045.1	26.4	[23 - 30%]	0.5718	0.02
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_013343235.1	26.1	[22.8 - 29.8%]	0.5763	0.02
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002246015.1	25.9	[22.5 - 29.5%]	0.5811	0.02
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002245975.1	25.7	[22.3 - 29.3%]	0.5852	0.02
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115105.1	25.5	[22.2 - 29.2%]	0.5879	0.01
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_000020025.1	25.5	[22.2 - 29.2%]	0.5875	0.01
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_003326195.1	25.5	[22.1 - 29.1%]	0.589	0.01
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017114985.1	25.4	[22.1 - 29%]	0.5902	0.01
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_015206945.1	25.3	[22 - 28.9%]	0.5921	0.01
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_001712795.1	25.1	[21.8 - 28.8%]	0.5948	0.01
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_013393925.1	24.7	[21.4 - 28.4%]	0.6033	0.01
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_015206895.1	24.7	[21.4 - 28.4%]	0.6027	0.01
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_014222255.1	24.4	[21.1 - 28.1%]	0.6092	0.01
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_013393905.1	24.4	[21.1 - 28.1%]	0.609	0.01
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115095.1	23.7	[20.4 - 27.4%]	0.6234	0.01
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115085.1	23.4	[20.1 - 27%]	0.6305	0.01
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_026127265.1	22.8	[19.6 - 26.5%]	0.6422	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002154695.1	15.6	[12.7 - 19.1%]	0.8536	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002154725.1	15.6	[12.7 - 19%]	0.8554	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_013393945.1	14.3	[11.5 - 17.7%]	0.9095	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_000196515.1	13.6	[10.8 - 16.9%]	0.9423	0



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Query genome	Reference genome	DDH	Model C.I.	Distance	Prob. DDH >= 70%
Fórmula 2					
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_005869855.1	38.3	[35.9 - 40.9%]	0.1052	1.76
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_014697355.1	36.5	[34 - 39%]	0.1123	1.03
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017114945.1	29.4	[27 - 31.9%]	0.1455	0.08
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115025.1	30.7	[28.3 - 33.2%]	0.1385	0.14
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017114995.1	29.6	[27.2 - 32.1%]	0.1444	0.09
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115165.1	29.6	[27.2 - 32.1%]	0.1445	0.09
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002949795.1	29.4	[27 - 31.9%]	0.1454	0.08
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_028623165.1	30.6	[28.2 - 33.1%]	0.139	0.13
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115045.1	28.7	[26.3 - 31.2%]	0.1494	0.06
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_013343235.1	28.5	[26.1 - 31%]	0.1509	0.05
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002246015.1	29.2	[26.9 - 31.7%]	0.1464	0.08
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002245975.1	28.4	[26 - 30.9%]	0.1512	0.05
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115105.1	29.3	[26.9 - 31.8%]	0.1462	0.08
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_000020025.1	28.7	[26.3 - 31.2%]	0.1494	0.06
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_003326195.1	28.8	[26.4 - 31.3%]	0.1489	0.06
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017114985.1	30.2	[27.8 - 32.7%]	0.1412	0.11
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_015206945.1	28.8	[26.4 - 31.3%]	0.1488	0.06
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_001712795.1	29	[26.6 - 31.5%]	0.148	0.07
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_013393925.1	28.7	[26.4 - 31.2%]	0.1493	0.06
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_015206895.1	28.6	[26.2 - 31.1%]	0.1501	0.06
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_014222255.1	28.7	[26.3 - 31.2%]	0.1494	0.06
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_013393905.1	28.4	[26.1 - 30.9%]	0.151	0.05
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115095.1	28.9	[26.5 - 31.4%]	0.1482	0.07
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115085.1	30	[27.6 - 32.5%]	0.1424	0.1
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_026127265.1	28.3	[26 - 30.8%]	0.1517	0.05
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002154695.1	23.6	[21.3 - 26%]	0.1855	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002154725.1	23.4	[21.1 - 25.9%]	0.1868	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_013393945.1	22.7	[20.4 - 25.1%]	0.193	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_000196515.1	21	[18.8 - 23.5%]	0.2087	0
Fórmula 3					
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_005869855.1	42.2	[39.3 - 45.3%]	0.4232	0.29
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_014697355.1	36.1	[33.1 - 39.1%]	0.4866	0.03
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017114945.1	28.1	[25.1 - 31.2%]	0.5936	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115025.1	26.3	[23.4 - 29.4%]	0.6224	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017114995.1	26.3	[23.4 - 29.4%]	0.6226	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115165.1	26.1	[23.2 - 29.2%]	0.6265	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002949795.1	26.1	[23.2 - 29.2%]	0.6263	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_028623165.1	26	[23.1 - 29.1%]	0.6285	0



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115045.1	25.6	[22.7 - 28.7%]	0.6357	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_013343235.1	25.3	[22.4 - 28.4%]	0.6403	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002246015.1	25.2	[22.3 - 28.3%]	0.6424	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002245975.1	24.9	[22 - 28%]	0.648	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115105.1	24.9	[22 - 28%]	0.6481	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_000020025.1	24.8	[22 - 27.9%]	0.6491	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_003326195.1	24.8	[21.9 - 27.9%]	0.6502	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017114985.1	24.9	[22 - 28%]	0.6481	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_015206945.1	24.6	[21.8 - 27.7%]	0.6528	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_001712795.1	24.5	[21.7 - 27.6%]	0.6547	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_013393925.1	24.1	[21.3 - 27.2%]	0.6625	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_015206895.1	24.1	[21.3 - 27.2%]	0.6623	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_014222255.1	23.9	[21 - 27%]	0.6676	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_013393905.1	23.8	[21 - 26.9%]	0.668	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115095.1	23.3	[20.5 - 26.4%]	0.6792	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115085.1	23.1	[20.3 - 26.2%]	0.6831	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_026127265.1	22.5	[19.7 - 25.6%]	0.6965	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002154695.1	15.8	[13.3 - 18.7%]	0.8808	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002154725.1	15.7	[13.2 - 18.6%]	0.8824	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_013393945.1	14.6	[12.1 - 17.4%]	0.927	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_000196515.1	13.9	[11.5 - 16.7%]	0.9543	0



ANEXOS

Artigo de Revisão. Exploring the Diversity of Lichens in the Brazilian Amazon and Cerrado:
A Comprehensive Review

ISSN 1678-4324 Online Edition – *ReviewReview*

- **Situação:** a ser submetido

Exploring the Diversity of Lichens in the Brazilian Amazon and Cerrado: A Comprehensive Review

José Isaias Pimentel Barros¹

<https://orcid.org/0009-0003-9990-7728>

Anna Léticia Silva da Costa²

<https://orcid.org/0009-0001-0516-4552>

Hivana Patricia Melo Barbosa Dall'Agnol³

<https://orcid.org/0000-0002-0659-8053>

Tânia Keiko Shishido Joutsen⁴

<https://orcid.org/0000-0002-9156-4105>

Iane Paula do Rego Dias⁵

<https://orcid.org/0000-0002-6155-1274>

Jouko Rikkinen⁴

<https://orcid.org/0000-0002-4615-6639>

Leonardo Teixeira Dall'Agnol^{1,2*}

<https://orcid.org/0000-0003-0837-8836>

¹ Federal University of Maranhao, Postgraduation Program in Health and Environment, São Luís, Maranhão, Brazil.

² Federal University of Maranhao, Postgraduation Program in Environmental Science and Technology, São Luís, Maranhão, Brazil.



³ Federal University of Maranhao, Postgraduation Program in Health Sciences, São Luís, Maranhão, Brazil.

⁴ Institute of Biotechnology, Helsinki Institute of Life Science, University of Helsinki, Viikinkaari 5, 00790, Helsinki, Finland

⁵ State University of the Tocantina Region of Maranhão

⁶ Finnish Museum of Natural History, Botany Unit, University of Helsinki, P.O. Box 7, 00014 Helsinki, Finland.

⁷ Organismal and Evolutionary Biology Research Programme, Faculty of Biological and Environmental Sciences, University of Helsinki, P.O. Box 65, 00014 Helsinki, Finland.

Associate Editor: (Filled in by the admin.)

Received: DD-MM-YYYY; Accepted: DD-MM-YYYY. (Filled in by the admin.)

*Correspondence: jose.isaias@discente.ufma.br; Tel: +55-98-984658221

HIGHLIGHTS

The Amazon and Brazilian Cerrado both support rich lichen biota.

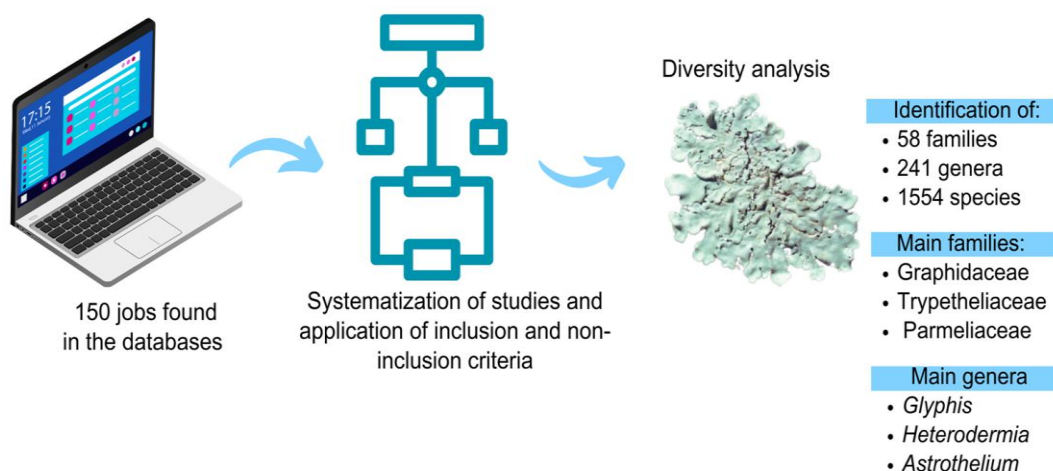
Species richness is higher in the Amazon than in the Cerrado.

Graphidaceae is the most species-rich lichen family, with 371 species reported from

Abstract: Lichens are symbiotic organisms found on various substrates, including rocks, the soil surface, and on trees. Most lichens acquire most of their nutrients from rainwater and atmospheric deposition; many of them also accumulate atmospheric pollutants and are useful environmental indicators. This study presents a timely update of lichen diversity in the Amazon and Cerrado biomes. 150 articles were examined from recent years (2013–2023), from PubMed, Web of Science, Scielo, Scopus, Capes Journals, National Digital Libraries and other academic sources. After applying non-inclusion criteria, 36 studies were selected for closer analysis. The publications revealed a rich diversity of lichens, with a total of 58 families, 241 genera, and 1554 species identified from the two biomes. Notably, 33 families, 96 genera and 293 species were reported from both the Amazon and the Cerrado. The most species-rich families were Graphidaceae, Trypetheliaceae, Parmeliaceae, Arthoniaceae, and Pilocarpaceae, with the most prominent genera being *Astrothelium*, *Glyphis*, *Pyrenula*, *Porina*, *Ocellularia*, and *Heterodermia*. The Amazon had more taxa in all taxonomic categories. The lichens of Brazilian both biomes play significant, but still largely unexplored roles in environmental maintenance. The requirements of most species are almost unknown, with major knowledge gaps also in distribution patterns and habitat ecology. However, many lichens in both regions presumably face significant threats from deforestation, wildfires, mining, and urban sprawl. This emphasizes the need for effective measures to protect and preserve lichens as an integral part of environmental management and the preservation of Brazilian biomes.

Keywords: Biodiversity; biomes; lichenized fungi.

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE



INTRODUCTION

Lichens are found in various substrates, such as rocks, soils, and trees, obtaining nutrients from water and directly from the air. As for the morphological classification, they can be divided into several categories according to the type of stalk: Crusty, Dimorphic, Squamulose, Gelatinous, Filamentous, Foliose and Fruiting lichens. They are symbiotic organizations between fungi (mycobiont) with green algae and/or cyanobacteria (photobionts), they are especially sensitive to environmental conditions, which makes them valuable indicators of ecosystem quality.

They stand out as excellent bioindicators and important for environmental biomonitoring due to their wide geographic distribution and remarkable ability to accumulate pollutants, and may be present in forest succession after fires, especially the Cladoniaceae and Parmeliaceae families. All the metabolites and elements absorbed during its life are stored in its stalks. In addition, they have low sensitivity to seasonal changes and do not have protective structures, which exposes them directly to the environment [1–4].

Brazilian biomes, rich in biodiversity and peculiarities, play a fundamental role in maintaining environmental balance and promoting life [5–7]. The lichens of the Amazon and the Cerrado have different shapes, colors, sizes and adaptations to their habitats. They can be found both in the forest, in open areas or transition regions between biomes. The lichens of the Amazon stand out for their richness and variety of corticol forms (which grow on the bark of trees), while the lichens of the Cerrado stand out for their diversity of saxicolous (which grow on rocks) and terrestrial (which grow on the ground) forms [7,8].

The objective of this study was to make a bibliographic survey of the diversity of lichens described in these two Brazilian biomes (Amazon and Cerrado). Our hypothesis is that the biodiversity of lichens in the Amazon and the Brazilian Cerrado is remarkable, reflecting the ecological complexity of these biomes. Each of these ecosystems has distinct characteristics, but both play a key role in maintaining environmental balance.

The conservation of lichens in the Amazon and Cerrado is a challenge, as these biomes suffer from deforestation, burning, mining, agriculture, and urbanization, which affect the quality and quantity of lichens in different habitats. In addition, there are few studies and records on the distribution, ecology, and taxonomy of lichens in these regions [8]. In short, the study emphasizes the importance of lichens in Brazilian biomes, providing fundamental information about the biodiversity of these organisms. Knowledge about lichens contributes not only to the preservation of biological diversity, but also to the promotion of sustainable practices and the protection of Brazilian ecosystems.



MATERIALS AND METHODS

Scientific articles, dissertations, and theses published in the period from 2013 to 2023 were searched. For this investigation, the following platforms were consulted: PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), Web of Science (<https://1nk.dev/WebofScience>), Scielo (<https://www.scielo.br/>), Scopus (<https://acesse.one/Scopuss>), Capes Journals (<https://acesse.one/Periodicos-capes>) and National Digital Libraries Dissertations and Theses (Brazilian Digital Library of Theses and Dissertations - BDTD (<https://bdtb.ibict.br/vufind/>)) and the Brazilian Portal of Publications and Scientific Data in Open Access - Oasisbr (<https://oasisbr.ibict.br/vufind/>). The research of the works was conducted by combining these keywords with the use of the Boolean operators "OR" and "AND". In order to improve the specificity of the study, the following keywords were adopted in three languages: Portuguese: "Lichens" (Variations: Microbiome, Lichenic Associations, Lichenized fungi), "Amazon" and "Cerrado"; English: Lichens (Variations: Microbiome, Lichen Associations, Lichenized Fungi) "Amazonia" and "Cerrado"; and in Spanish: Lichens (Variaciones: Microbiome, Lichen associations, Hongos lichenizados) "Amazonia" and "Cerrado".

Review articles, abstracts, and works that were only taxonomic descriptions, occurrences that did not address an analysis of lichen diversity in the target regions, as well as those related to methods of identification of organisms belonging to other taxonomic groups, were excluded.

FINDINGS

This study employed a systematic methodology for the selection of relevant articles related to the topic addressed. From the database, it was possible to identify through PubMed: five articles; Web of Science: 33 articles; Scielo: four articles; Scopus: 39 articles; Capes Journals: 53 articles; and in the National Digital Libraries of Theses and Dissertations (BDTD and Oasisbr): 16 works (four articles, six theses and six dissertations). The results were then listed, and a total of 150 articles were found to be relevant within the inclusion criteria using the listed keywords in a ten-year window (2013–2023).

Of the 150 papers initially identified, 82 were excluded due to duplication in multiple research sources. In addition, 22 studies were discarded because they did not meet the inclusion criteria, either because they were taxonomic descriptions or because they addressed different taxonomic groups. Another three texts were eliminated because they were reviews or abstracts, while seven articles were excluded because they were in taxonomic studies of different groups or did not address the diversity of lichens. After applying these non-inclusion criteria, 36 studies remained and were maintained in the integrative review. **(Figure 1).**

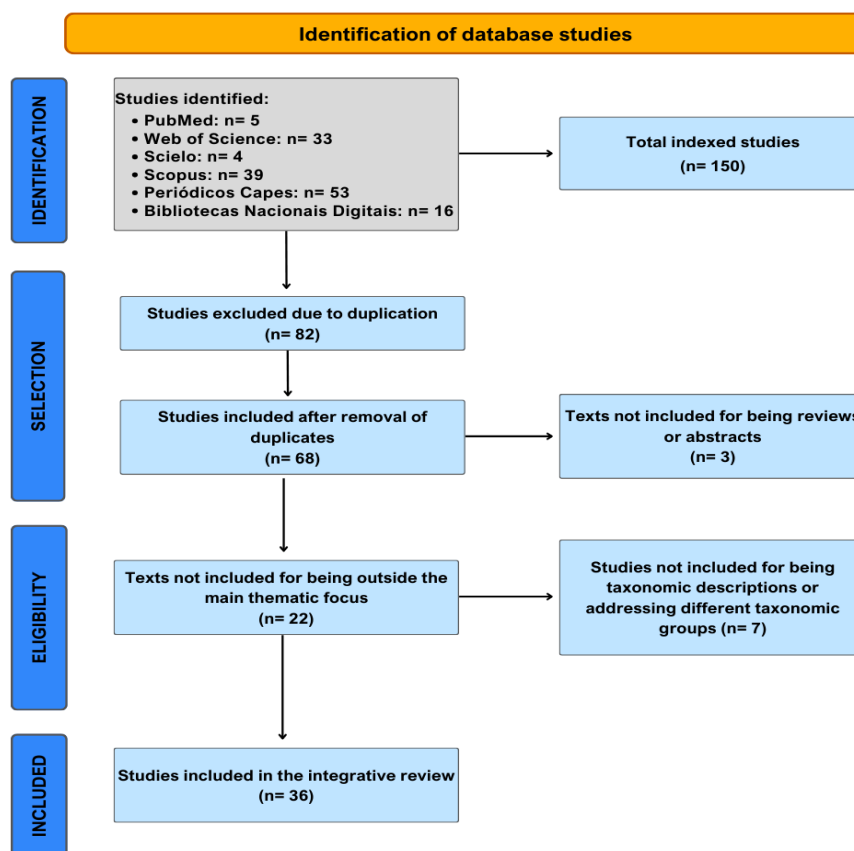


Figure 1. Steps of the integrative review

Analyzing the publications with the respective regions of development of the studies and collection sites, we observed a varied and significant geographic distribution (Table 1). In the Southeast, São Paulo [9] registered one publication, while Minas Gerais presented two [1]. In the South region, Rio Grande do Sul recorded three publications [9–11], followed by Santa Catarina with two [9,12]. In the Midwest, Mato Grosso do Sul led with seven publications [13–18], Goiânia accounted for three publications [3,19,20], while Mato Grosso [21] and Brasília had one [20] each. In the Northeast, Sergipe with one [4] and Pernambuco with two publications [7,22], while Maranhão and Tocantins with two [23,24], Paraíba three [25–27] and Ceará with one publication [28]. In the North region, Rondônia [29,30] and Amazonas [31,32] had two publications each, and Pará had one [24]. In addition to the Brazilian territory, Ecuador registered one publication [33], Colombia presented two [34,35], and Venezuela had one record [36], with studies carried out in the Amazon (Figure 2). These countries are located within this biome, which highlights the regional relevance of these research.

Table 1. Correlation of the studies used in this study with the respective regions of development and collection sites.

Countries	Regions the studies were carried out	Authors/year of publication	References
Brazil	Brasília (DF), National Park	SILVA; APTROOT; CÁCERES, 2023	[20]



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

	Ceará, Chapada do Araripe	ALVES <i>et al.</i> , 2014	[28]
	Goiás	PALHARINI <i>et al.</i> , 2020; SANTOS <i>et al.</i> , 2022; SILVA; APTROOT; CÁCERES, 2023	[3,19,20]
	Amazon	CÁCERES; APTROOT, 2017; WOMACK <i>et al.</i> , 2015	[31,32]
	Maranhão and Tocantins	WEDGE; MARCELLI; PEREIRA, 2015	[23]
	Maranhão, Pará and Tocantins	APTROOT <i>et al.</i> , 2017	[24]
	Mato Grosso do Sul	APTROOT; SOUZA; SPIELMANN, 2021; KITAURA <i>et al.</i> , 2019, 2023; RODRIGUES <i>et al.</i> , 2022; RODRIGUES; CANÊZ; LORENZ, 2021; SAINTS; DA SILVA CÁCERES; LÜCKING, 2020; TORRES <i>et al.</i> , 2021	[14–18,21]
	Mato Grosso, Chapada dos Guimarães	APTROOT; SOUZA, 2021	[21]
	Minas Gerais, Uberaba	COSTA, 2018	[1]
	Northeast Brazil	NASCIMENTO <i>et al.</i> , 2021	[37]
	Paraíba	FEUERSTEIN <i>et al.</i> , 2022; NASCIMENTO <i>et al.</i> , 2014; SANTIAGO <i>et al.</i> , 2018	[25–27]
	Pernambuco	NASCIMENTO, 2017; SANTOS, 2015	[7,22]
	Rio Grande do Sul	ZANETTI; MARCELLI; JUNGBLUTH, 2015; CAÑON; ROCIO, 2017; GUMBOSKI <i>et al.</i> , 2018	[9–11]
	Rio Grande do Sul, São Paulo and Santa Catarina	ZANETTI; MARCELLI; JUNGBLUTH, 2015	[9]
	Rondônia	CÁCERES <i>et al.</i> , 2014a, 2014b	[29,30]
	Santa Catarina	SOUZA; APTROOT; SPIELMANN, 2022	[9,12]
	Sergipe	SANTOS, 2022b	[4]
Ecuador	Yasuni National Park	DÉLEG <i>et al.</i> , 2021	[33]
Colombia	Buenaventura, Valle del Cauca	SOTO-MEDINA; LONDOÑO-LEMONS; DÍAZ-ESCAÑÓN, 2015	[38]
	Cali, Valle del Cauca	MEDINA; DÍAZ; MONTAÑO, 2021	[39]

Venezuela	Cerro Duida	MARCANO; SIPMAN, 2021	[40]
-----------	-------------	-----------------------	------



Figure 2. Map of the regions where the main studies took place used in the integrative review

Figure 3 shows the number of studies found during the search for articles on platforms and integrated into this study. These were analyzed by year of publication in the period from 2013 to 2023. No studies were found for the years 2013 and 2016. In 2021, a significant peak stands out, with eight papers published, representing the highest number during the analyzed period. In contrast, the years 2019 and 2020 had the lowest numbers of published papers, with only two in each year.

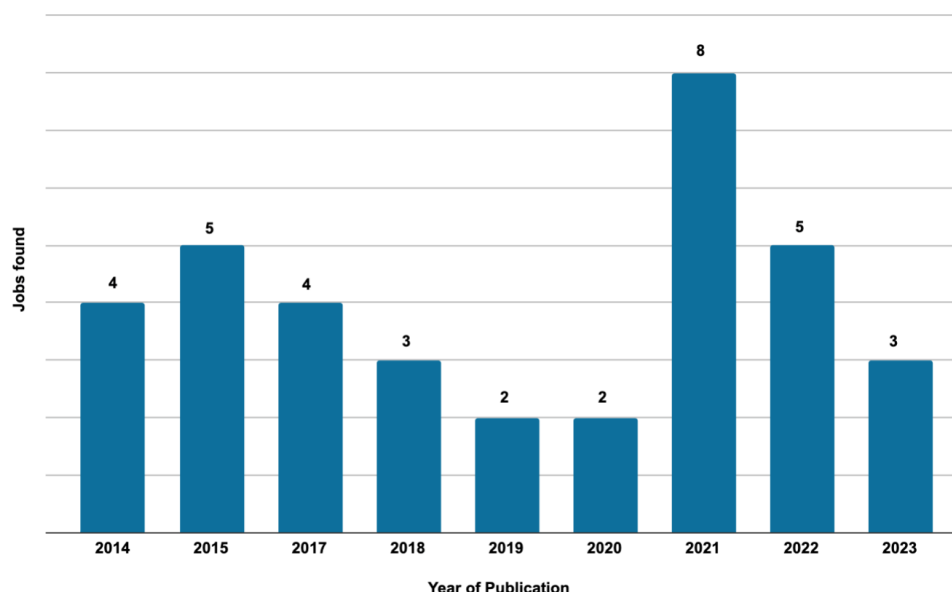


Figure 3. Distribution of the years of publication of the articles found between 2013 and 2023 used in this integrative review.

After a systematic review of the articles selected for this study, we identified a total of 58 families, 241 genera and 1554 species, belonging to both biomes analyzed (**T.S 01**). When analyzing the descriptions of species and genera, we observed that the Graphidaceae family presented the greatest diversity, with 371 descriptions of lichens among the studies analyzed. Then, the families Trypetheliaceae, Parmeliaceae, Arthoniaceae and Pilocarpaceae stood out with 178, 138, 95 and 74 descriptions, respectively. Families that presented in **Figure 4**.

By analyzing the Graphidaceae family, it was possible to identify the greatest diversity of lichens recorded, with a total of 371 species found in the biomes studied, distributed in 47 genera. Among the genera belonging to this family, the genus *Glyphis* stands out, with 63 species described, presenting the largest variety of lichens within this family. In addition, the genera *Ocellularia*, *Fissurina* and *Phaeographis* also stand out, with 28 and 27 species described, respectively.

Of the 241 genera described, the greatest diversity of species was found belonging to the genus *Astrothelium*, with 106 descriptions, followed by the genera *Glyphis*, with 63 descriptions, *Pyrenula* and *Porina*, both with 52 descriptions, *Ocellularia*, with 44, and *Heterodermia*, with 30 descriptions. All other genera had fewer than 30 descriptions.

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

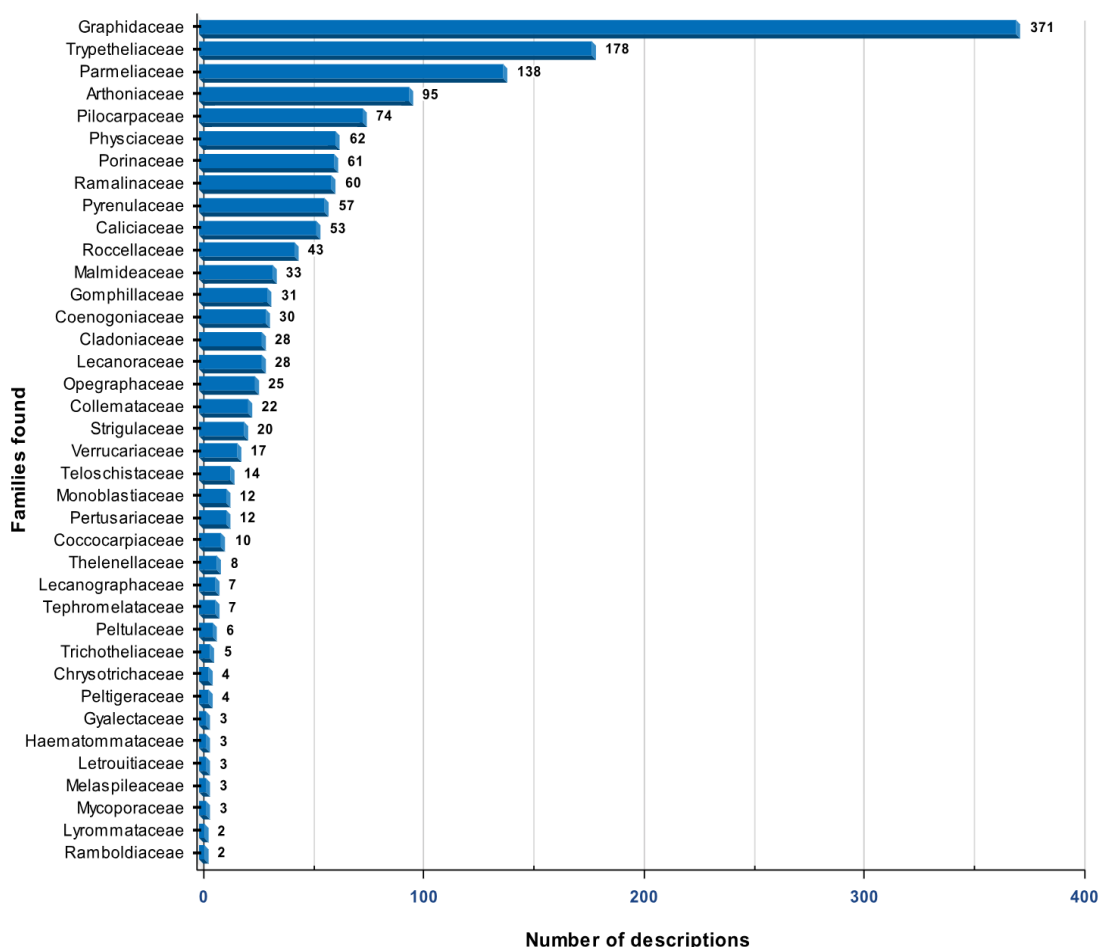


Figure 4: Families found and the number of lichens described belonging to each family.

When analyzing the diversity of lichens described by biomes, we observed that the Amazon presented a greater diversity in terms of families, genera and species. 16 families, 169 genera and 855 species exclusive to the Amazon were identified (T.S 02). In comparison, the Cerrado exhibited less diversity, with 10 families, 59 genera and 406 species exclusive to this biome (T.S 03).

From the Amazon, the Graphidaceae family stood out as the most diverse, with 244 species descriptions. Then, the families Trypetheliaceae, Arthoniaceae, Pilocarpaceae and Porinaceae presented 105, 65, 58 and 50 species descriptions, respectively. All other families had fewer than 50 descriptions. Among the genera, *Astrothelium* stood out as the most diverse, with 83 species described, belonging to the Graphidaceae family. Then, followed by the genera *Ocellularia* (n=42), *Glyphis* (n=38), *Porina* (n=37) and *Pyrenula* (n=32). All other genera had fewer than 30 descriptions during the last ten years.

From the Cerrado, the Parmeliaceae family stood out for the greatest diversity of lichens described, with 106 species belonging to this family. In addition, the Physciaceae family presented 48 described species, while the Graphidaceae and Caliciaceae families had 46 descriptions each. All other families had fewer than 30 descriptions. As for the genera of the cerrado, the genus with the highest number of species described was *Heterodermia*, with 28 descriptions, belonging to the family Physciaceae. Then, the genera *Lecanora*, *Hypotrachyna* and *Parmotrema* stood out with 24, 21 and 20 descriptions, respectively. All other genera recorded fewer than 20 descriptions.

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

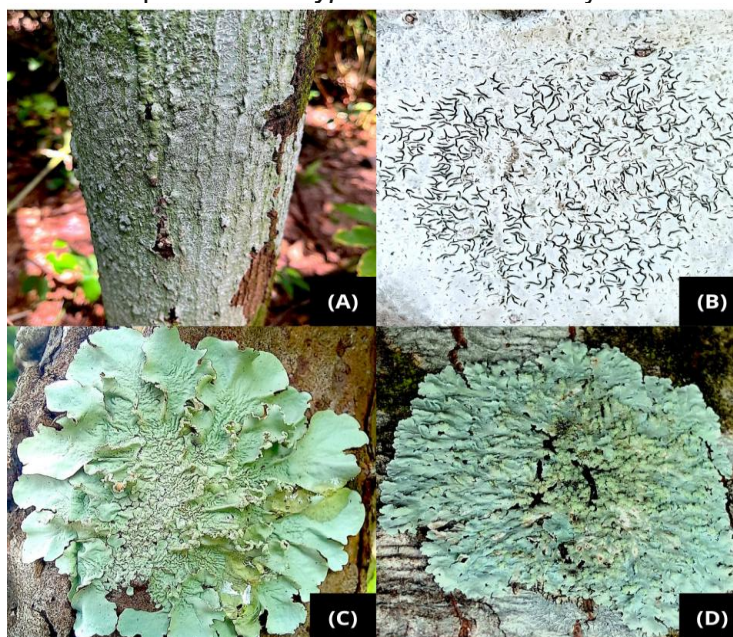
By analyzing the described lichens present in both biomes, we identified a total of 33 families, 96 genera and 293 species (**T.S 04**). The Graphidaceae family showed the greatest diversity, with 81 descriptions, followed by the Trypetheliaceae family, with 57, and Arthoniaceae, with 22 descriptions. Among the most diverse genera, the genus *Glyphis* stands out, with 24 descriptions, which belongs to the Graphidaceae family, followed by the genera *Astrothelium* and *Polyblastidium*, both with 21 descriptions each.

After the literature review, two species described from the Amazon were classified as "Uncertain", due to the difficulty in determining their families: *Psammia tropica* and *Milospium graphideorum*. These species were not considered in the analyses conducted in this study, due to the lack of sufficient information on their classification.

DISCUSSION

Although in our study the Graphidaceae family was mentioned more often in surveys of species diversity in the Amazon and Cerrado, with 371 species found, it is important to emphasize that Parmeliaceae stands out as the most representative. On the other hand, the Lecanoraceae family is recognized by the largest number of morphological variations within the lichen group [1,17]. The genus *Glyphis*, belonging to the Graphidaceae family, has adaptations and characteristics that allow it to thrive in various environments. This crustose lichen has been widely described in the two biomes investigated, showing a remarkable ability to attach to tree trunks, rocks and other substrates, which facilitates its permanence in this environment [25,30,41].

In the Amazon, lichens of the family Graphidaceae (**Figure 5A**) are common in a variety of habitats, from humid tropical forests to more open areas. They can be found growing on tree trunks, rocks, soil, and even other plants. Their presence is indicative of good air quality, as they are sensitive to pollution [30]. Research by Plata *et al.* (2011) highlights the complexity of the Graphidaceae family, indicating that *Allographa*, a genus that also belongs to this family, is genetically close to several other genera, including *Glyphis*. This genetic proximity suggests a close evolutionary relationship between *Glyphis* and other family members (**Figure 5B**) [42].





PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Figure 5. Images representing the most frequent genera and families in the Amazon and Cerrado regions, according to the bibliographic survey. Graphilaceae Family (A); *Glyphis* sp. (B); Parmeliaceae Family (C); *Heterodermia* sp. (D).

In contrast to the Amazon, where the family of lichens with the most descriptions was the Graphidaceae, in the Cerrado, the Parmeliaceae is the family of lichens that presented the highest number of descriptions, with 28 species. The Parmeliaceae family stands out as one of the most complex and diverse of this group of organisms, encompassing 80 genera and more than 1700 described species (for example **Figure 5C**) [17,23,45]. Although the genus *Parmotrema* is widely dominant, representing one of the largest groups of foliaceous lichenized fungi globally, our study revealed that the genus *Heterodermia* was the one that presented the highest number of occurrences in the cerrado (**Figure 5D**) [45]. The Parmeliaceae family is known for its ecological importance, being used in air pollution assessment studies being used as bioindicators in different ecosystems [1,45,46].

The genus *Astrothelium*, a member of the lichenized fungi family Trypetheliaceae, is a significant component of corticicultural (fixed to bark) lichen communities found primarily in tropical to subtropical forests [31,43]. In addition, the distribution of *Astrothelium* species has been documented in several regions, including the Amazon rainforest, where new species have been identified in studies conducted by Aptroot; Souza (2021) and Aptroot (2023) [12,22]. In our research, we highlight the richness and variety of this genus within the various Brazilian biomes, emphasizing its importance and diversity. Throughout the study, it was evident that this genus stood out with the highest number of descriptions, totaling 106 identified species.

The family Arthoniaceae stands out as a diverse and widely distributed group of lichens, encompassing species with global distribution. With a large number of varieties, the genus *Arthonia* contains approximately 140 globally described species [28,47,48]. The Pilocarpaceae family encompasses a diverse group of lichens, mainly crostose, with a wide distribution, and more than 400 described species encompassing 32 genera. Among the members of the Pilocarpaceae, the genus *Fellhanera* stands out, constituting the base of this family that comprises predominantly tropical species, with many foliicultural representatives which grows on leaves [49–51]. The ecological importance of these families is remarkable, especially when it comes to monitoring the health of ecosystems.

Analyzing the family of lichenized fungi Porinaceae, it was observed that the genera *Porina* and *Trichothelium* were the most described within this family in the Amazon region [52,53]. The distribution and preference for different habitats have also been explored, with studies investigating the presence of Porinaceae in tropical forests, such as in Brazil. In addition, the taxonomic composition and geographic distribution of Porinaceae also vary in different environments [54,55].

In the Porinaceae family of lichenized fungi, it was observed in this study that the genera *Porina* and *Trichothelium* were the most described within this family in the Amazon region [26,27]. The distribution and preference for different habitats have also been explored, with studies investigating the presence of Porinaceae in tropical forests, such as in Brazil. In addition, the taxonomic composition and geographic distribution of the Porinaceae also vary in different environments. The Caliciaceae family represents a significant group within lichens, especially in Brazil. In this study, it was observed that the genus most frequently found within this family was *Pyxine*. It is well described as belonging to the Cerrado biome. The research carried out by Aptroot (2019) seeks to understand the diversity and distribution of lichens of the Caliciaceae family, which has been investigated in several regions, with an emphasis on Brazilian biomes [56].

The study carried out by Santos (2022) highlights the Cladoniaceae and Parmeliaceae Families as the most prevalent among the lichens found in the Cerrado [4]. These families play an essential role in forest succession, and are commonly observed in areas that have suffered fires. In addition, the work of Costa (2018) complements by indicating that the Lecanoraceae



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

and Caliciaceae families are also quite common in this biome, being fundamental for the biomonitoring of environmental pollutants [1]. Lichens play a key role as pioneers in the colonization of areas recently affected by natural disturbances. However, it is important to note that human activities can cause changes in the diversity of these organisms, thus affecting the dynamics of ecological succession [1,4,33].

Studies carried out in Colombia in the Valle del Cauca region highlight the main genera of lichens present in the Amazon rainforest. Among the genera of endemic lichens present in the Amazon rainforest are: *Arthotheliopsis*, *Brasilicia*, *Caleniopsis*, *Dimelaena*, *Eremothecella*, *Lasioloma*, *Loflammea*, *Loflammopsis*, *Microtheliopsis*, *Phylloblastia*, *Phyllogyalidea*, *Physcidia*, *Platythecium* and *Rubrotricha*. These comparative studies between the regions not only highlight the richness of the ecosystems around the Colombian Amazon rainforest, but also reinforce the importance of conserving these endemic lichen genera, which play essential roles in the ecology and maintenance of Amazonian biodiversity [35].

The lichen genera *crostospathula* and *Physcidia*, identified in Rondônia, are considered rare. In addition, these same genera can be found in Latin American countries and in countries on the African continent, such as French Guiana [29,57]. The identification of *Cladonia curta* Ahti & Marcelli in the Pampa ecosystem in Brazil is a surprising find. Although this species is commonly associated with the Brazilian cerrado, its presence in the Pampa reveals a remarkable ability to adjust to different environments [11]. Despite having a wide geographic distribution, the rarity of these lichen genera in Rondônia and other distinct biomes highlights the need to carry out additional studies for a deeper understanding of their ecology and possible interactions with local environmental factors.

Lichens are organisms that have a great diversity of genera, each with distinct ecological characteristics. The integrative review of the selected works reveals a wide variety of lichenic species, with emphasis on different genera, among them: *Glyphis*, *Astrothelium*, *Ocellularia*, *Fissurina*, *Phaeographis*, *Pyrenula*, *Porina*, *Heterodermia*, *Lecanora*, *Hypotrachyna* and *Parmotrema*, are just a few examples of this vast group. Several studies have contributed significantly to the understanding of these genera, which are well described in the biomes studied, demonstrating a wide distribution, interactions and importance as environmental indicators, which are important components for the biodiversity of these regions [11,23,30,31,34].

CONCLUSION

After a detailed analysis of the previous studies, we found a great diversity of lichens in the Amazon and Cerrado biomes. In total, 58 families, 241 genera and 1554 species were identified. The Graphidaceae family stands out as the most diverse, with 371 species described. We also observed that the Amazon has a greater diversity compared to the Cerrado, with 16 families, 169 genera and 855 exclusive species, while the Cerrado has 10 families, 59 genera and 406 exclusive species.

The analysis of the genera revealed that *Astrothelium* and *Glyphis* are the most diverse, with 106 and 63 species, respectively, in the Amazon, while *Heterodermia* stands out in the Cerrado, with 28 species. In addition, 33 families, 96 genera, and 293 species were found in both biomes, with Graphidaceae as the most diverse family.

The families Lecanoraceae, Arthoniaceae, Pilocarpaceae and Porinaceae have also been highlighted to contribute to the lichenic diversity of ecosystems. The Parmeliaceae family, in particular, has been recognized for its ecological complexity and diversity, and is used in ecological biomonitoring studies. In addition, comparative studies between regions have highlighted the importance of conserving endemic genera of lichens in the Amazon forest.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

The analyses carried out in this study highlight how lichens are truly amazing in their ability to adapt to a wide variety of environments. When we look at the description of these organisms in different biomes, it is impressive to see how some species of lichens are so versatile, managing to establish themselves in such diverse environments. The fact that we find these organisms both in the Cerrado and in the Amazon not only increases the diversity of these places, but also offers us valuable information about several species that can be useful for monitoring and environmental conservation of these areas.

Understanding how lichens adapt to different environmental conditions is crucial to ensure the preservation of these ecosystems. After all, they are always subject to both natural and human-caused impacts. Therefore, it is essential that we continue to study and value these organisms, which play such an important role in maintaining the ecological health of our natural environments.

Supplementary Material

Supplementary

tables

The spreadsheets with the description of the diversity of all families, genera and lichens found in the articles selected for review. The documents contain all the surveys of lichen biodiversity in the region or collection site studied, made by the respective authors of the works.

T.S 01: https://1drv.ms/x/c/80190776a7ef4c0c/EQ3hvwR_xrtMkculEseVhsoBvIKm51I-3E1tZP271O-ngQ?e=luYKWe

T.S 02: https://1drv.ms/x/c/80190776a7ef4c0c/EQ3hvwR_xrtMkculEseVhsoBvIKm51I-3E1tZP271O-ngQ?e=BpjmmP

T.S 03: https://1drv.ms/x/c/80190776a7ef4c0c/EQ3hvwR_xrtMkculEseVhsoBvIKm51I-3E1tZP271O-ngQ?e=HPK80d

T.S 04: https://1drv.ms/x/c/80190776a7ef4c0c/EQ3hvwR_xrtMkculEseVhsoBvIKm51I-3E1tZP271O-ngQ?e=2y50wp

REFERENCES

1. Costa WR. Use of lichens in active and passive monitoring of air pollution. 2018 Aug 24 [cited 2024 Mar 3]; Available from: <http://bdtd.ufma.edu.br/handle/tede/637>
2. Dutra V, Silva L, Borgo A, Oliveira LICHEN AS BIOINDICATORS OF AIR QUALITY IN THE MUNICIPALITY OF BARBACENA-MG | BIOSPHERE ENCYCLOPEDIA. 2022 Jul 26 [cited 2024 Mar 5]; Available from: <https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/2081>
3. Santos AM dos, Vitorino LC, Cruvinel BG, Ávila RG, Vasconcelos Filho S de C, Batista PF, Bessa LA. Impacts of Cd Pollution on the Vitality, Anatomy and Physiology of Two Morphologically Different Lichen Species of the Genera Parmotrema and Usnea, Evaluated under Experimental Conditions. *Diversity*. 2022 Nov; 14(11):926.
4. Santos INM. Potential use of lichens as bioindicators of fire history in the Serra de Itabaiana National Park/SE. Potentiality of the use of lichens as bioindicators of the history of fires in the Serra de Itabaiana/SE National Park [Internet]. 2022 Jan 31 [cited 2024 Jan 29]; Available from: <https://ri.ufs.br/jspui/handle/riufs/15755>
5. Marques EQ, Marimon-Junior BH, Marimon BS, Matricardi EAT, Mews HA, Colli GR. Redefining the Cerrado–Amazonia transition: implications for conservation. *Biodivers Conserv*. 2020 Apr 1; 29(5):1501–17.
6. Martins SM de A, Käffer MI, Lemos A. Lichens as bioindicators of air quality in a thermoelectric area, Rio Grande do Sul, Brazil. *Hoehnea*. 2008; 35:425–33.
7. Nascimento EL de L. Phylogenetic relations of lichens from the Amazon, Atlantic



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

- Forest and Caatinga [Internet]. Federal University of Pernambuco; 2017 [cited 2024 Jan 29]. Available from: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/32558>
8. Consentine P. Cerrados amazônicos: a brief discussion on cerrado vegetation in the Brazilian Amazon during the Quaternary. Cerrados amazônicos: a brief discussion on cerrado vegetation in the Brazilian Amazon during the quaternary period [Internet]. 2018 Jan 18 [cited 2024 Jan 29]; Available from: <http://repositorioinstitucional.uea.edu.br/handle/riuea/811>
9. Zanetti CA, Marcelli MP, Jungbluth P. Comparative anatomy of *Canoparmelia* and *Crespoa* species (Parmeliaceae, lichenized fungi). *The Bryologist*. 2015 Jul; 118(2):184–94.
10. Cañon P, Rocio E. Endolichene fungi associated with *Cladonia curta* Ahti & Marcelli in the pampa gaucha- Brazil. 2017 May 3 [cited 2024 Jan 29]; Available from: <https://repositorio.unipampa.edu.br/jspui/handle/riu/1594>
11. Gumboski EL, Cañón ERP, Albuquerque MP de, Putzke J, Pereira AB. Occurrence of the *Cladonia curta* Ahti & Marcelli (Cladoniaceae, lichenized Ascomycota) in the Pampa biome. *Rev Bras Biociências* [Internet]. 2018 Jul 12 [cited 2024 Jan 29]; 16(2). Available from: <https://seer.ufrgs.br/index.php/rbrasbioci/article/view/114598>
12. Souza MF de, Aptroot A, Spielmann AA. Key to *Heterodermia* (Physciaceae, Teloschistales) in Brazil, with 15 new species. *The Lichenologist*. 2022 Jan; 54(1):25–44.
13. Aptroot A, Souza MF, Spielmann AA. Two New crostose *Cladonia* Species with *Strepsilin* and Other New Lichens from the Serra de Maracaju, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Cryptogam Mycol*. 2021 Jul; 42(8):137–48.
14. Kitaura M, Koch N, RODRIGUES A, Torres JM, Barbosa T, Canêz L, Spielmann A, Honda N, Fleig M, Lorenz A. *Leptogium* (Collemataceae, Peltigerales) from Mato Grosso do Sul state, Brazil: nine new records, three new taxa and a key for the species. *Phytotaxa*. 2019 Mar 19; 399:127–46.
15. Rodrigues AS, Costa PC da, Lorenz AP, Jungbluth P. *Hypotrachyna neohorrescens*, a new species in the subgenus *Parmelinopsis* (Parmeliaceae) from Brazil. *The Lichenologist*. 2022 Mar; 54(2):107–15.
16. Rodrigues AS, Canêz LS, Lorenz AP. *Canoparmelia amazonica*, *Myelochroa lindmanii* and *Parmelinella salacinifera* belong to *Parmelinella* (Parmeliaceae). *The Bryologist*. 2021 Jul; 124(3):352–61.
17. Santos VM, da Silva Cáceres ME, Lücking R. Diversity of foliicolous lichens in isolated montane rainforests (Brejos) of northeastern Brazil and their biogeography in a neotropical context. *Ecol Res*. 2020; 35(1):182–97.
18. Torres JM, Barbosa TD, Kitaura MJ, Spielmann AA, Lorenz AP. Two new species of *Sticta* (Peltigeraceae subfam. Lobarioideae) from the Brazilian Cerrado (Brazilian savanna). *The Bryologist*. 2021 Nov; 124(4):506–21.
19. Palharini KMZ, Vitorino LC, O Boy GC, Bessa LA. Edge Effects Reflect the Impact of the Agricultural Matrix on the Corticolous Lichens Found in Fragments of Cerrado Savanna in Central Brazil. *Sustainability*. 2020 Jan; 12(17):7149.
20. Silva J dos R, Aptroot A, Cáceres ME da S. Lichens from Dry Central Brazil: A Checklist of Lichenized Fungi from Distrito Federal and Goiás. *Cryptogam Mycol*. 2023 Oct; 44(9):117–33.
21. Aptroot A, Souza MF. New Lichen Species and Records from the Chapada dos Guimarães, Mato Grosso, Brazil. *Cryptogam Mycol*. 2021 Oct; 42(10):171–80.
22. Santos VM dos. Biogeographic origin of foliicolous lichenobiota from the high-altitude swamps of Northeast Brazil [Internet]. Federal University of Pernambuco; 2015 [cited 2024 Jan 29]. Available from: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/24292>
23. Cunha IPR, Marcelli MP, Pereira EC. *Canoparmelia* species s.l. (Parmeliaceae, lichenized ascomycetes) of the tocanthian region, Maranhão and Tocantins States, Brazil.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Hoehnea. 2015 Jun; 42:265–72.

24. Aptroot A, Feuerstein SC, Cunha-Dias IPR, Nunes ÁR de L, Honorato ME, Cáceres ME da S. New lichen species and lichen reports from Amazon forest remnants and Cerrado vegetation in the Tocantina Region, northern Brazil. *The Bryologist*. 2017 Aug; 120(3):320–8.
25. Feuerstein S, Aptroot A, Silveira R, Lücking R, Cáceres M. An updated world key to the species of *Acanthothecis* s. lat. (Ascomycota : Graphidaceae), with ten new species from Brazil. *The Lichenologist*. 2022 Mar 1; 54:87–99.
26. Nascimento TP, Porto CS, Teixeira MFS, Porto TS, Porto ALF. Production of biocompounds with antimicrobial activity of *Streptomyces* sp. Isolated in face of goat mastitis. *Arq Bras Med Veterinária and Zootec*. 2014 Feb; 66:101–8.
27. Santiago R, Silva NH, Silva FP, Martins MCB, Vasconcelos TL de, Yano-Melo AM, Pereira EC, Santiago R, Silva NH, Silva FP, Martins MCB, Vasconcelos TL de, Yano-Melo AM, Pereira EC. Interactions of the lichen *Cladonia salzmännii* Nyl. with soil, microbiota, mycorrhizae and *Genipa Americana*. *J Soil Sci Plant Nutr*. 2018 Sep; 18(3):833–50.
28. Alves MME, Aptroot A, Lacerda SR, Cáceres ME da S. Three new Arthoniaceae from Chapada do Araripe, Ceará, NE Brazil. *The Lichenologist*. 2014 Sep; 46(5):663–7.
29. Cáceres M, Lima E, Aptroot A, Lücking R. Brazilian lichens: new discoveries show the wealth in the North and Northeast of the country. 2014 Oct 1; 35:101–19.
30. Cáceres M, Aptroot A, Pammen S, Lücking R. Remarkable diversity of the lichen family Graphidaceae in the Amazon rain forest of Rondônia, Brazil. *Phytotaxa*. 2014 Dec 19; 189:087–136.
31. Cáceres ME da S, Aptroot A. Lichens from the Brazilian Amazon, with special reference to the genus *Astrothelium*. *The Bryologist*. 2017 Jun; 120(2):166–82.
32. Womack AM, Artaxo PE, Ishida FY, Mueller RC, Saleska SR, Wiedemann KT, Bohannan BJM, Green JL. Characterization of active and total fungal communities in the atmosphere over the Amazon rainforest. *Biogeosciences*. 2015 Nov 6; 12(21):6337–49.
33. Déleg J, Gradstein SR, Aragón G, Giordani P, Benítez Á. Cryptogamic epiphytes as indicators of successional changes in megadiverse lowland rain forests of western Amazonia. *Ecol Indic*. 2021 Oct 1; 129:107890.
34. Soto-Medina E, Londoño-Lemos V, Díaz-Escandón D. Epiphytes from a forest type transition zone in the Choco biogeographic region, Valle del Cauca, Colombia. *Rev Biol Trop*. 2015 Dec 1; 63(4):915–26.
35. Medina ES, Díaz D, Montaña J. Biogeografía y riqueza de los líquenes de Colombia. *Rev Acad Colomb Cienc Exactas Físicas Nat*. 2021 Jan 18; 45(174):122–35.
36. Marcano V, Sipman HJM. Diversity and distribution of lichens from Cerro Duida and its surrounding areas, Alto Orinoco, Amazonas, Venezuela. *An Jardín Botánico Madr*. 2021; 78(2):3.
37. Nascimento EL de L, Maia LC, Cáceres ME da S, Lücking R. Phylogenetic structure of lichen metacommunities in Amazonian and Northeast Brazil. *Ecol Res*. 2021 May; 36(3):440–63.
38. Soto-Medina E, Londoño-Lemos V, Díaz-Escandón D. Epiphytes from a forest type transition zone in the Choco biogeographic region, Valle del Cauca, Colombia. *Rev Biol Trop*. 2015 Dec 1; 63(4):915–26.
39. Medina ES, Díaz D, Montaña J. Biogeografía y riqueza de los líquenes de Colombia. *Rev Acad Colomb Cienc Exactas Físicas Nat*. 2021 Jan 18; 45(174):122–35.
40. Marcano V, Sipman HJM. Diversity and distribution of lichens from Cerro Duida and its surrounding areas, Alto Orinoco, Amazonas, Venezuela. *An Jardín Botánico Madr*. 2021; 78(2):3.
41. Castelli RF. The genus *Graphis* (Ascomycota lichenized, Graphidaceae) in Curitiba, Paraná. 2017 [cited 2024 Mar 18]; Available from:



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

<https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/66076>

42. Rivas Plata E, Hernandez J, Lücking R, Staiger B, Kalb K, Cáceres M. Graphis is two genera: A remarkable case of parallel evolution in lichenized Ascomycota. *Taxon*. 2011 Feb 1; 60:99–107.
43. Jiang SH, Zhang C, Xue XD, Aptroot A, Wei JC, Wei XL. Morphological and Phylogenetic Characterizations Reveal Five New Species of *Astrothelium* (Trypetheliales, Ascomycota) from China. *J Fungi*. 2022 Sep 22; 8(10):994.
44. Aptroot A. Lichens from the Roosevelt River Area in the Brazilian Amazon. *Microbiol Res* [Internet]. 2023 [cited 2024 Mar 18]; 14(2). Available from: <https://doi.org/10.3390/microbiolres14020054>
45. Santos JS, Dias IPRC, Silva ILA da, Nascimento GM do. Occurrence Of Corticicultural Species Of *Parmotrema* A.Massal. (Parmeliaceae; Ascomycota Lichenized) In Cerrado Vegetation In The State Of Maranhão, Brazil. *Rev Ciênc Ambient* [Internet]. 2021 [cited 2024 Mar 18]; 15(1). Available from: <https://doi.org/10.18316/rca.v15i1.7374>
46. Abril MAQ, Ospina DMR, Rave MID, Valencia J. Lichens as biosensors for the evaluation of urban and suburban atmospheric contamination in a tropical mountain valley, Rionegro, Antioquia. *Bionatura* [Internet]. 2021 [cited 2024 Mar 18]; 6(1). Available from: <https://doi.org/10.21931/rb/2021.06.01.10>
47. Wijayawardene N, Hyde K, Dai DQ, Sanchez-Garcia M, Tomio Goto B, Saxena R, Erdoğan M, SELCUK F, K. C. R, Aptroot A, Błaszczowski J, Boonyuen N, Silva G, de Souza F, Dong W, Ertz D, D. H, Jones E, Karunarathna S, Thines M. Outline of Fungi and fungus-like taxa – 2021. *mycosphere*. 2022 Feb 23; 13:53–453.
48. Ertz D, Sanderson N, Łubek A, Kukwa M. Two new species of Arthoniaceae from old-growth European forests, *Arthonia thoriana* and *Inoderma soledium*, and a new genus for *Schismatomma niveum*. *The Lichenologist*. 2018 Mar; 50(2):161–72.
49. Spier L, Aptroot A, Herk K van. Asemone, an additional secondary substance in *Fellhanera bouteillei* in Europe. *The Lichenologist*. 2002 Sep; 34(5):447–9.
50. Hyde KD, Tennakoon DS, Jeewon R, Bhat DJ, Maharachchikumbura SSN, Rossi W, Leonardi M, Lee HB, Mun HY, Houbraken J, Nguyen TTT, Jeon SJ, Frisvad JC, Wanasinghe DN, Lücking R, Aptroot A, Cáceres MES, Karunarathna SC, Hongsanan S, Phookamsak R, Silva NI, Thambugala KM, Jayawardena RS, Senanayake IC, Boonmee S, Chen J, Luo ZL, Phukhamsakda C, Pereira OL, Abreu VP, Rosado AWC, Bart B, Randrianjohany E, Hofstetter V, Gibertoni TB, Soares AM da S, Plautz HL, Sotão HMP, Xavier WKS, Bezerra JDP, de Oliveira TGL, de Souza-Motta CM, Magalhães OMC, Bundhun D, Harishchandra D, Manawasinghe IS, Dong W, Zhang SN, Bao DF, Samarakoon MC, Pem D, Karunarathna A, Lin CG, Yang J, Perera RH, Kumar V, Huang SK, Dayarathne MC, Ekanayaka AH, Jayasiri SC, Xiao Y, Konta S, Niskanen T, Liimatainen K, Dai YC, Ji XH, Tian XM, Mešić A, Singh SK, Phutthacharoen K, Cai L, Sorvongxay T, Thiagaraja V, Norphanphoun C, Chaiwan N, Lu YZ, Jiang HB, Zhang JF, Abeywickrama PD, Aluthmuhandiram JVS, Brahmanage RS, Zeng M, Chethana T, Wei D, Réblová M, Fournier J, Nekvindová J, do Nascimento Barbosa R, dos Santos JEF, de Oliveira NT, Li GJ, Ertz D, Shang QJ, Phillips AJL, Kuo CH, Camporesi E, Bulgakov TS, Lumyong S, Jones EBG, Chomnunti P, Gentekaki E, Bungartz F, Zeng XY, Fryar S, Tkáčec Z, Liang J, Li G, Wen TC, Singh PN, Gafforov Y, Promputtha I, Yasanthika E, Goonasekara ID, Zhao RL, Zhao Q, Kirk PM, Liu JK, Yan J, Mortimer PE, Xu J, Doilom M. Fungal diversity notes 1036–1150: taxonomic and phylogenetic contributions on genera and species of fungal taxa. *Fungal Divers*. 2019 May 1; 96(1):1–242.
51. Wang WC, Sangvichien E, Wei TZ, Wei JC. A molecular phylogeny of Pilocarpaceae Zahlbr., including a new species of *Tapellaria* Müll. Arg. and new records of foliicolous lichenized fungi from Thailand. *The Lichenologist*. 2020 Sep; 52(5):377–85.
52. Lücking R, Moncada B, Sipman HJM, Sobreira PNB, Viñas C, Gutiérrez J, Flynn TW.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Saxiloba : a new genus of placodioid lichens from the Caribbean and Hawaii shakes up the Porinaceae tree (lichenized Ascomycota : Gyalectales). Plant Fungal Syst. 2020 Dec 29; 65(2):577–85.

53. Sobreira PNB, Cáceres MEDS, Maia LC, Lücking R.

<p>Flabelloporina, a new genus in the Porinaceae (Ascomycota, Ostropales), with the first record of F. squamulifera from Brazil</p>. Phytotaxa. 2018 Jul 2; 358(1):67–75.

54. Leite ABX, Menezes AA de, Souto L de S, Aptroot A, Lücking R, Santos VM dos, Cáceres ME da S. Epiphytic microlichens as indicators of phytosociological differentiation between Caatinga and Brejos de Altitude. Acta Bot Bras. 2015 Dec; 29:457–66.

55. Santos VM, da Silva Cáceres ME, Lücking R. Diversity of foliicolous lichens in isolated montane rainforests (Brejos) of northeastern Brazil and their biogeography in a neotropical context. Ecol Res. 2020; 35(1):182–97.

56. Aptroot A, Maphangwa KW, Zedda L, Tekere M, Alvarado P, Sipman HJM. The phylogenetic position of *Culbersonia* is in the *Caliciaceae* (lichenized ascomycetes). The Lichenologist [Internet]. 2019 [cited 2024 Mar 18]; 51(2). Available from: <https://doi.org/10.1017/s0024282919000033>

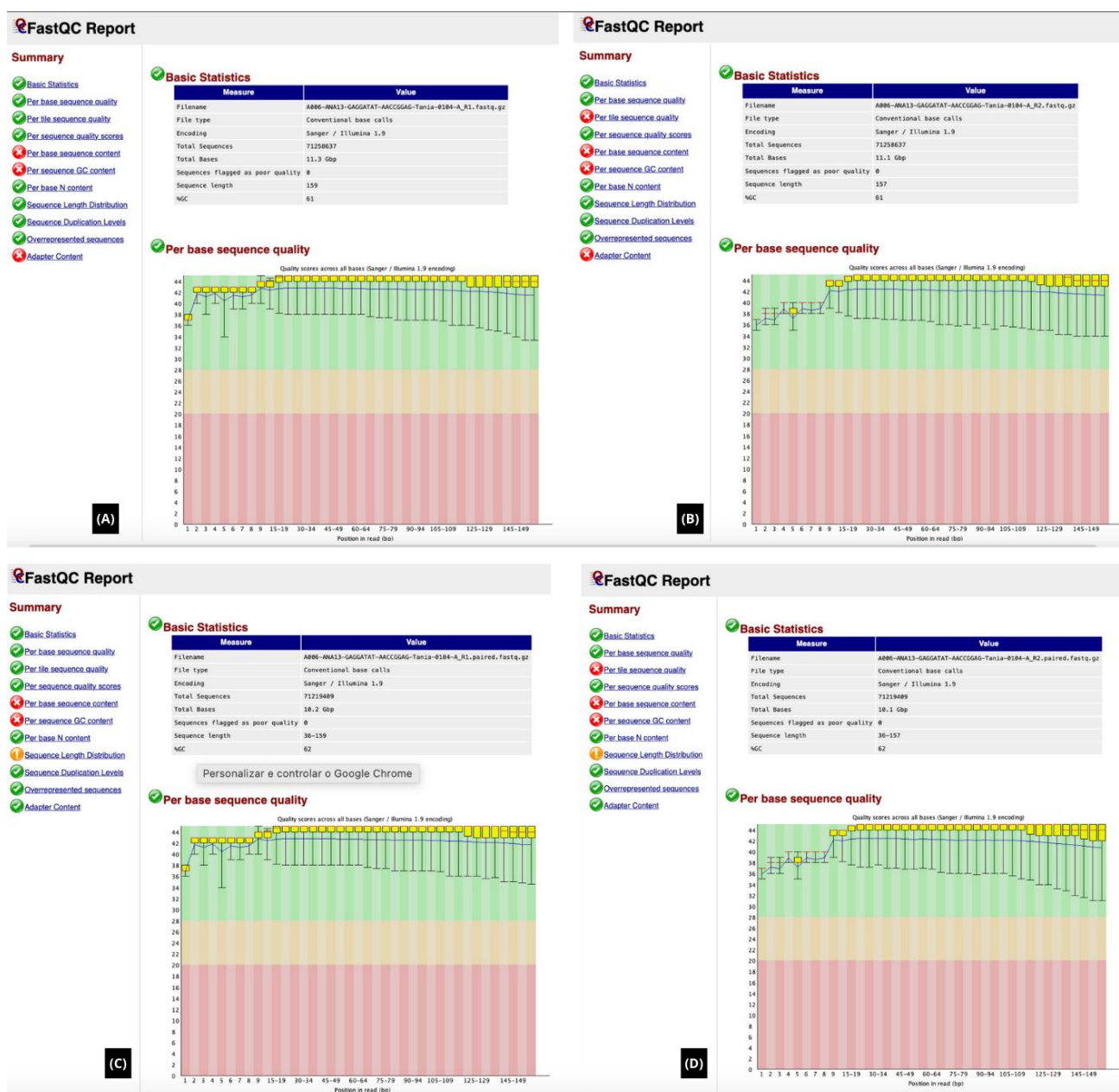
57. Aptroot A, Cáceres ME da S. A key to the corticolous microfoliose, foliose and related crostose lichens from Rondônia, Brazil, with the description of four new species. The Lichenologist. 2014 Nov; 46(6):783–99.

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

FIGURAS SUPLEMENTARES

Figura suplementar 1: Avaliação da qualidade das *reads* pelo FastQC antes e após o processamento.

(A) Detecção de adaptadores nas sequências R1 paired antes do processamento; (B) Detecção de adaptadores nas sequências R2 paired antes do processamento; (C) Qualidade das sequências R1 paired após a remoção de adaptadores pelo Trimmomatic; (D) Qualidade das sequências R2 paired após a remoção de adaptadores pelo Trimmomatic.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Figura suplementar 2. Avaliação da qualidade dos MAGs utilizando CheckM. Distribuição dos genes essenciais em cada bin, indicando completude (verde), ausência de genes (cinza), heterogeneidade (azul) e contaminação (amarelo/vermelho).

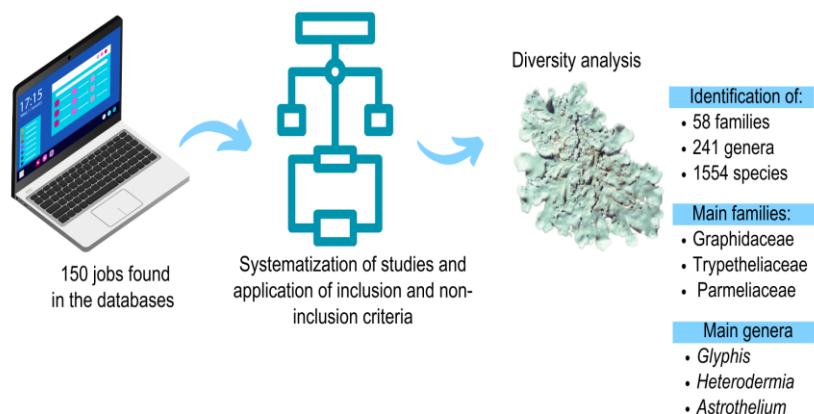
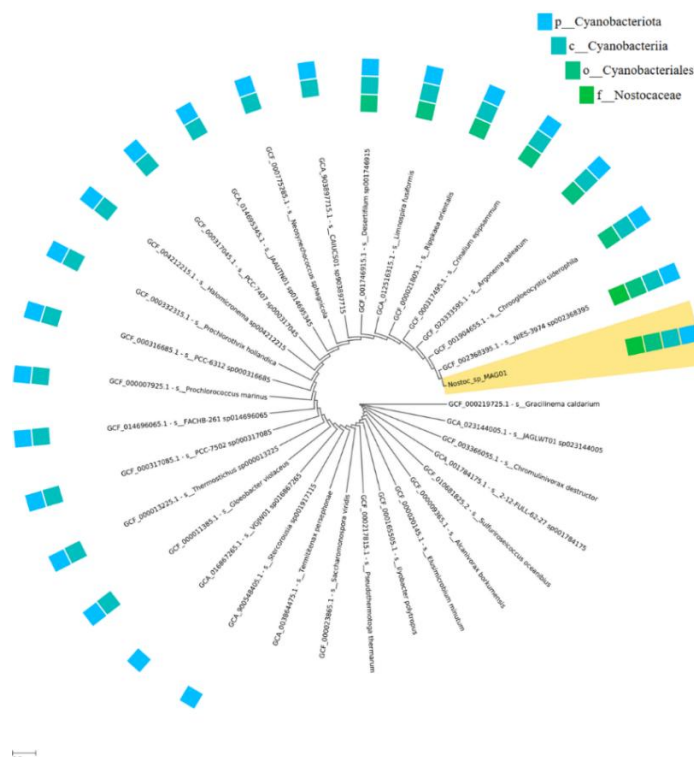


Figura Suplementar 3. Árvore filogenética gerada pela ferramenta GTDB-Tk, mostrando a relação evolutiva entre o genoma reconstruído *Nostoc* sp. MAG01 e outros genomas de referência a nível de família. O genoma *Nostoc* sp. MAG01 está destacado em amarelo.





UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

TABELAS SUPLEMENTARES

Tabela suplementar 1. Regiões e agrupamentos gênicos biossintéticos identificados pelo antiSMASH para bactérias (Clássico).

Region	Type	From	To	Most similar known cluster			Similarity
Region 14.1	NRPS	1	6,006				
Region 207.1	NRPS	1	6,489				
Region 208.1	NRPS	1	4,317	anabaenopeptin NZ857 / nostamide A	NRP		100%
Region 298.1	terpene	1	2,238	geosmin	Terpene		100%
Region 369.1	terpene	1	1,056				
Region 418.1	NRPS	1	10,95				
Region 420.1	NRPS	1	8,553				
Region 423.1	NRPS	1	9,093				
Region 424.1	NRPS	1	6,423				
Region 504.1	lanthipeptid e-class-ii	1	3,369				
Region 539.1	NRPS	1	7,83	anabaenopeptin NZ857 / nostamide A	NRP		100%
Region 542.1	hglE-KS	1	7,005				
Region 639.1	terpene	1	2,238	geosmin	Terpene		100%
Region 771.1	hglE-KS	1	5,361				
Region 773.1	hglE- KS,T1PKS	1	4,746				
Region 841.1	NRPS	1	3,618				
Region 844.1	NRPS-like	1	1,464				
Region 845.1	T1PKS	1	5,838				
Region 846.1	NRPS-like	1	2,289	anabaenopeptin NZ857 / nostamide A	NRP		100%
Region 984.1	phosphonate	1	1,56				
Region 995.1	T1PKS	1	3,075				
Region 1152.1	NRPS	1	6,639	anabaenopeptin NZ857 / nostamide A	NRP		100%
Region 1153.1	NRPS	1	6,282	anabaenopeptin NZ857 / nostamide A	NRP		100%
Region 1154.1	NRPS	1	3,171	anabaenopeptin NZ857 / nostamide A	NRP		100%
Region 1156.1	NRPS	1	7,356				
Region 1158.1	NRPS	1	4,191				
Region 1188.1	NRPS	1	2,067				
Region 1555.1	NRPS	1	5,343				
Region 1556.1	T1PKS	1	5,931				
Region 1559.1	NRPS	1	4,629				
Region 1638.1	NRPS-like	1	2,568	anabaenopeptin NZ857 / nostamide A	NRP		100%



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Region 1804.1	NRPS-like	1	2,28			
Region 1805.1	T1PKS	1	5,823			
Region 1834.1	indole	1	1,182			
Region 1953.1	phosphonate	1	1,008			
Region 1981.1	NRPS	1	6,003			
Region 2057.1	NRPS-like	1	2,409	aculeacin A	NRP	100%
Region 2058.1	NRPS	1	1,788			
Region 2080.1	T1PKS	1	3,666	naphthopyrone	Polyketide	100%
Region 2102.1	NRPS-like	1	2,328			
Region 2122.1	NRPS-like	1	2,301	anabaenopeptin NZ857 / nostamide A	NRP	100%
Region 2124.1	T1PKS	1	4,677			
Region 2152.1	lanthipeptid e-class-ii	1	2,7			
Region 2162.1	lanthipeptid e-class-ii	1	3,306			
Region 2295.1	NRPS	1	2,457			
Region 2389.1	T1PKS	1	8,22			
Region 2696.1	siderophore	1	1,851			
Region 2757.1	NRPS	1	2,865			
Region 2807.1	terpene	1	1,17			
Region 2843.1	NRPS-like	1	2,607			
Region 3112.1	NRPS	1	3,279	anabaenopeptin NZ857 / nostamide A	NRP	100%
Region 3113.1	T1PKS	1	6,093			
Region 3272.1	T1PKS,NRP S-like	1	7,515			
Region 3371.1	ladderane	1	1,215			
Region 3429.1	NRPS-like	1	2,376			
Region 3457.1	T1PKS	1	4,014			
Region 3623.1	T1PKS	1	2,778	1,3,6,8-tetrahydroxynaphthalene	Polyketide	100%
Region 3873.1	T1PKS	1	7,155			
Region 3937.1	NRPS-like	1	2,649			
Region 3950.1	lanthipeptid e-class-ii	1	3,213			
Region 3955.1	RRE- containing	1	2,232			
Region 3966.1	T1PKS	1	5,442			
Region 4143.1	RiPP-like	1	2,007			
Region 4514.1	T1PKS	1	6,111			
Region 4551.1	NRPS-like	1	2,19			
Region 4565.1	NRPS-like	1	2,097			
Region 4811.1	NRPS-like	1	1,746			
Region 5000.1	NRPS-like	1	2,709			



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Region 5044.1	RiPP-like	1	1,644			
Region 5127.1	NRPS	1	4,779			
Region 5706.1	T3PKS	1	1,062			
Region 5927.1	NRPS-like	1	2,166			
Region 6137.1	other	1	1,536			
Region 6162.1	NRPS-like	1	1,977			
Region 6437.1	NRPS	1	3,855			
Region 6855.1	NRPS	1	3,426			
Region 7208.1	NRPS-like	1	2,463			
Region 7314.1	cyanobactin	1	2,028			
Region 7463.1	NRPS	1	3,129			
Region 8161.1	NRPS-like	1	1,251			
Region 8897.1	NRPS	1	1,071			
Region 9176.1	NRPS	1	1,89			
Region 9407.1	NRPS-like	1	2,22			
Region 9630.1	NRPS-like	1	1,887			
Region 9820.1	NRPS-like	1	2,862			
Region 10553.1	lanthipeptid e-class-ii	1	2,409			
Region 10736.1	NRPS	1	2,112			
Region 10738.1	terpene	1	1,206			
Region 10775.1	terpene	1	1,059			
Region 10785.1	terpene	1	1,545			
Region 10945.1	NRPS-like	1	1,104			
Region 11918.1	NRPS-like	1	2,076			
Region 13103.1	NRPS	1	1,62	rhizomide A / rhizomide B / rhizomide C	NRP	100%
Region 13113.1	NRPS	1	1,092			
Region 14337.1	terpene	1	1,071			
Region 14977.1	cyanobactin	1	1,785			
Region 15149.1	NRPS-like	1	1,557			
Region 15218.1	terpene	1	1,482			
Region 15537.1	RiPP-like	1	1,47			
Region 15866.1	T3PKS	1	1,08			



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Tabela suplementar 2. Regiões e agrupamentos gênicos biossintéticos identificados pelo fungiSMASH.

Region	Type	From	To	Most similar known cluster			Similarity
Region 10017.1	NRPS	1	2,964				
Region 10846.1	RRE-containing	1	2,865				
Region 10877.1	NRPS	1	3,204				
Region 1110.1	T1PKS	1	7,269				
Region 11293.1	terpene	1	2,682				
Region 11774.1	NRPS	1	2,901				
Region 11900.1	RRE-containing	1	1,2				
Region 12127.1	NRPS	1	2,952				
Region 12211.1	NRPS	1	3,189				
Region 12268.1	NRPS	1	3,009				
Region 12458.1	NRPS	1	2,835	xenematide	NRP		100%
Region 129.1	terpene	1	3,609	geosmin	Terpene		100%
Region 1308.1	NRPS-like	1	3,273				
Region 13366.1	T1PKS	1	2,667				
Region 13655.1	NRPS	1	2,601				
Region 14005.1	NRPS	1	2,358				
Region 14044.1	lanthipeptide-class-ii	1	2,247				
Region 14047.1	T3PKS	1	1,905				
Region 14379.1	terpene	1	2,541				
Region 14395.1	NRPS	1	2,616				
Region 1455.1	T1PKS	1	7,089				
Region 14594.1	NRPS-like	1	1,11				
Region 15282.1	RiPP-like	1	1,866				
Region 15352.1	RRE-containing	1	2,052				
Region 15796.1	proteusin	1	1,926				
Region 16005.1	NRPS-like	1	2,076				
Region 1603.1	T1PKS	1	7,794				
Region 16301.1	NRPS-like	1	2,016				
Region 16516.1	NRPS-like	1	1,776				
Region 1713.1	NRPS,T1PKS	1	11,937				
Region 17295.1	thioamitides	1	1,83				



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Region 17822.1	NRPS	1	2,184	rhizomide A / rhizomide B / rhizomide C	NRP	100%
Region 17875.1	terpene	1	2,037			
Region 1936.1	T1PKS	1	7,638	monascorubrin	Polyketide	100%
Region 19845.1	terpene	1	1,071			
Region 20352.1	NRPS	1	1,596	bicornutin A1 / bicornutin A2	NRP	100%
Region 2063.1	phosphonate	1	1,935			
Region 20928.1	cyanobactin	1	1,551			
Region 21005.1	NRPS	1	1,731			
Region 2103.1	terpene	1	2,202			
Region 21033.1	RiPP-like	1	1,104			
Region 21150.1	NRPS	1	1,842			
Region 21364.1	terpene	1	1,473			
Region 21878.1	NRPS	1	1,629	anabaenopeptin NZ857 / nostamide A	NRP	100%
Region 21919.1	RiPP-like	1	1,407			
Region 2226.1	NRPS-like	1	4,632			
Region 22282.1	RiPP-like	1	1,608			
Region 2277.1	T1PKS	1	6,63			
Region 2324.1	T1PKS,NRPS-like	1	11,856			
Region 23974.1	terpene	1	1,416			
Region 248.1	terpene	1	3,609	geosmin	Terpene	100%
Region 25282.1	NRPS-like	1	1,326			
Region 25860.1	RiPP-like	1	1,107			
Region 2659.1	NRPS	1	16,272			
Region 26626.1	T1PKS	1	1,419			
Region 26739.1	NRPS	1	1,197			
Region 2838.1	T1PKS	1	8,22			
Region 2839.1	indole	1	1,173			
Region 2851.1	T1PKS	1	8,517	pyranonigrin E	Polyketide	100%
Region 2854.1	T1PKS,NRPS-like	1	11,688			
Region 28559.1	RiPP-like	1	1,242			
Region 30442.1	RiPP-like	1	1,167			
Region 3065.1	T1PKS	1	7,629			
Region 3154.1	NRPS-like,T1PKS	1	12			
Region 3175.1	T1PKS	1	7,509			



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Region 3249.1	T1PKS	1	7,878			
Region 3518.1	T1PKS	1	7,839			
Region 3519.1	T1PKS	1	3,84			
Region 3548.1	T1PKS	1	7,341			
Region 3614.1	NRPS-like	1	6,864			
Region 3718.1	terpene	1	1,644			
Region 3798.1	T1PKS	1	12,231			
Region 3871.1	T1PKS	1	5,547	naphthopyrone	Polyketide	100%
Region 3956.1	T1PKS	1	7,233			
Region 402.1	T1PKS	1	3,756			
Region 4170.1	T1PKS	1	6,495			
Region 442.1	NRPS	1	19,896	cyclo-(D-Phe-L-Phe-D-Val-L-Val)	NRP:Cyclic depsipeptide	100%
Region 4496.1	T1PKS,NRPS-like	1	7,515			
Region 4731.1	NRPS	1	5,523			
Region 4769.1	NRPS,T1PKS	1	13,185			
Region 4839.1	thioamitides	1	4,224			
Region 5047.1	T1PKS	1	5,913	melanin	Polyketide	100%
Region 5434.1	T1PKS	1	7,839			
Region 5509.1	NRPS-like	1	2,76			
Region 5530.1	lanthipeptide-class-ii	1	4,701			
Region 5549.1	T1PKS	1	10,332			
Region 5822.1	RiPP-like	1	4,608			
Region 5985.1	terpene	1	1,266			
Region 6316.1	NRPS-like,T1PKS	1	7,512			
Region 6383.1	NRPS-like	1	3,966			
Region 6439.1	terpene	1	1,152			
Region 6591.1	phosphonate	1	3,759			
Region 6758.1	terpene	1	1,428			
Region 6969.1	NRPS-like	1	4,044			
Region 7027.1	RiPP-like	1	1,488			
Region 7140.1	NRPS	1	4,506			
Region 734.1	NRPS	1	4,626			
Region 7918.1	terpene	1	2,679			
Region 7969.1	RiPP-like	1	1,572			
Region 8397.1	other	1	2,874			



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Region 8423.1	NRPS-like	1	4,506			
Region 863.1	T1PKS	1	5,418	6-methylsalicylic acid	Polyketide	100%
Region 866.1	T1PKS	1	8,043			
Region 8764.1	NRPS	1	3,708			
Region 884.1	T1PKS	1	4,269			
Region 902.1	T1PKS	1	7,122			
Region 9191.1	RRE-containing	1	2,121			
Region 9275.1	NRPS	1	4,335			
Region 9701.1	NRPS-like	1	2,445			

Tabela suplementar 3: Resultado tabelado da montagem do MAGs realizada pelo MaxBin2, com completude do marcador, conteúdo de GC, número de contigs e comprimento total do MAG01.

Nome do Bin	Completeness	Conteúdo GC	Número de Contigs	Comprimento total do contig
Bin.001.fasta	0,991	0,411	381	8.903.203 bp
Bin.002.fasta	0,393	0,69	716	2.371.523 bp
Bin.003.fasta	0,458	0,717	3867	9.155.619 bp
Bin.004.fasta	0,346	0,476	3140	3.249.6934 bp
Bin.005.fasta	0,692	0,488	3832	6.474.991 bp
Bin.006.fasta	0,579	0,667	1351	5.792.961 bp
Bin.007.fasta	0,617	0,634	2023	4.709.301 bp
Bin.008.fasta	0,692	0,56	2829	5.71.8911 bp
Bin.009.fasta	0,178	0,746	2917	4.301.719 bp
Bin.010.fasta	0,551	0,621	4680	7.829.222 bp
Bin.011.fasta	0,299	0,727	3087	5.151.068 bp
Bin.012.fasta	0,14	0,679	1881	3.098.145 bp
Bin.013.fasta	0,14	0,701	2056	3.357.377 bp
Bin.014.fasta	0,654	0,656	3614	6.275.384 bp
Bin.015.fasta	0,224	0,716	4707	7.217.838 bp
Bin.016.fasta	0,271	0,743	6594	9.653.956 bp
Bin.017.fasta	0,234	0,686	3619	5.391.365 bp



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Tabela suplementar 4. Regiões e agrupamentos gênicos biossintéticos identificados pelo antiSMASH para o MAG.

Region	Type	From	To	Most similar known cluster		Similarity
Region 35.1	terpene	12,883	35,15	geosmin	Terpene	1
Region 59.1	lanthipeptide-class-v	6,308	48,606			
Region 61.1	phenazine	1	2,163			
Region 63.1	LAP	1	11,306	muscoride A/muscoride B	Alkaloid+ RiPP+Terpene	0,2
Region 68.1	terpene	65,005	86,06	nostophycin	NRP+Polyketide	0,27
Region 76.1	mycosporine-like,lanthipeptide-class-v	23,025	86,034	shinorine/4-deoxygadusol/mycosporine glycine	NRP	0,75
Region 80.1	NRPS,T1PKS	1	38,35	cyanochelin A	NRP+Polyketide	0,45
Region 85.1	microviridin	53,5	73,634	microviridin N9/microviridin N8/microviridin N7/microviridin N6/microviridin N5/microviridin N4/microviridin N3	RiPP:Microviridin	0,33
Region 94.1	terpene	1	9,537			
Region 98.1	NRPS	1	72,031	hassallidin C	NRP+Saccharide:Hybrid/tailoring saccharide	0,34
Region 110.1	NRPS-like	1	35,219	bovienimide A	NRP:Lipopeptide	1
Region 114.1	NRPS	50,746	96,751			
Region 132.1	proteusin,lanthipeptide-class-ii	54,933	92,392			
Region 150.1	NRPS	55,632	90,467			



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Region 152.1	NRPS	1	1,634	bovienimide A	NRP:Lipo peptide	1
Region 157.1	hglE-KS	1	34,376	heterocyst glycolipids	Other	0,57
Region 163.1	terpene	84	21,016			
Region 181.1	terpene	1	5,878			
Region 188.1	terpene	12,878	35,145	geosmin	Terpene	1
Region 204.1	thiopeptide,LAP	1	28,304			
Region 207.1	NRPS	1	28,265	vatiamide A/vatiamide B/vatiamide C/vatiamide D/vatiamide E/vatiamide F	NRP+Poly ketide	0,1
Region 236.1	T1PKS,NRPS	1	26,312	anachelin	NRP+Poly ketide	0,3
Region 242.1	lanthipeptide-class-ii	1	13,517			
Region 244.1	hglE-KS,T1PKS	6,311	58,484	heterocyst glycolipids	Other	1
Region 258.1	NRPS,T1PKS	10,997	71,877	nostopectolide A2	Polyketide +NRP:Cyclic depsipeptide	0,5
Region 260.1	proteusin	259	22,216	PlpA1/PlpA2/PlpA3	RiPP	0,33
Region 284.1	NRPS	1	3,801	bovienimide A	NRP:Lipo peptide	1
Region 302.1	terpene	1	11,127			
Region 308.1	phosphonate	48,877	61,239			
Region 314.1	T1PKS,lanthipeptide-class-v	1	42,934	bartoloside 2/bartoloside 3/bartoloside 4	Other	0,27
Region 327.1	NI-siderophore	1	19,276			
Region 330.1	T1PKS	1	3,177	microsclerodermin	NRP+Poly ketide:Modular type I polyketide	0,28
Region 357.1	NRPS,betalactone	1	52,719	anabaenopeptin NZ857/nostamide A	NRP	1
Region 361.1	terpene	1	16,891			



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Region 364.1	NRPS	1	31,012	nostopeptolide A2	Polyketide +NRP:Cyc lic depsipepti de	0,87
Region 368.1	phenazine	1	2,702			
Region 370.1	T1PKS,NRPS	1	15,763	nostopeptolide A1/nostopeptolide 1052	NRP:Cycli c depsipepti de+Polyket ide:Modul ar type I polyketide	0,37

Tabela suplementar 5. Resultados do GGDC da análise comparativa de hibridização do MAG01 com 29 linhagens de *Nostoc*. Paramentos realizadas com as três fórmulas do GGDC.

Query genome	Reference genome	DDH	Model C.I.	Distance	Prob. DDH >= 70%
Fórmula 1					
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_005869855.1	44	[40.6 - 47.4%]	0.3554	4.09
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_014697355.1	37.2	[33.8 - 40.7%]	0.4217	0.83
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017114945.1	29.3	[25.9 - 32.9%]	0.5244	0.07
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115025.1	27	[23.6 - 30.6%]	0.5617	0.03
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017114995.1	27.1	[23.8 - 30.8%]	0.559	0.03
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115165.1	26.9	[23.5 - 30.5%]	0.5634	0.03
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002949795.1	26.9	[23.6 - 30.5%]	0.5628	0.03
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_028623165.1	26.6	[23.2 - 30.2%]	0.5685	0.02
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115045.1	26.4	[23 - 30%]	0.5718	0.02
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_013343235.1	26.1	[22.8 - 29.8%]	0.5763	0.02
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002246015.1	25.9	[22.5 - 29.5%]	0.5811	0.02
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002245975.1	25.7	[22.3 - 29.3%]	0.5852	0.02
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115105.1	25.5	[22.2 - 29.2%]	0.5879	0.01
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_000020025.1	25.5	[22.2 - 29.2%]	0.5875	0.01
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_003326195.1	25.5	[22.1 - 29.1%]	0.589	0.01
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017114985.1	25.4	[22.1 - 29%]	0.5902	0.01
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_015206945.1	25.3	[22 - 28.9%]	0.5921	0.01
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_001712795.1	25.1	[21.8 - 28.8%]	0.5948	0.01
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_013393925.1	24.7	[21.4 - 28.4%]	0.6033	0.01
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_015206895.1	24.7	[21.4 - 28.4%]	0.6027	0.01
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_014222255.1	24.4	[21.1 - 28.1%]	0.6092	0.01
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_013393905.1	24.4	[21.1 - 28.1%]	0.609	0.01
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115095.1	23.7	[20.4 - 27.4%]	0.6234	0.01



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115085.1	23.4	[20.1 - 27%]	0.6305	0.01
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_026127265.1	22.8	[19.6 - 26.5%]	0.6422	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002154695.1	15.6	[12.7 - 19.1%]	0.8536	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002154725.1	15.6	[12.7 - 19%]	0.8554	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_013393945.1	14.3	[11.5 - 17.7%]	0.9095	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_000196515.1	13.6	[10.8 - 16.9%]	0.9423	0
Query genome	Reference genome	DDH	Model C.I.	Distance	Prob. DDH >= 70%
Fórmula 2					
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_005869855.1	38.3	[35.9 - 40.9%]	0.1052	1.76
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_014697355.1	36.5	[34 - 39%]	0.1123	1.03
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017114945.1	29.4	[27 - 31.9%]	0.1455	0.08
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115025.1	30.7	[28.3 - 33.2%]	0.1385	0.14
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017114995.1	29.6	[27.2 - 32.1%]	0.1444	0.09
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115165.1	29.6	[27.2 - 32.1%]	0.1445	0.09
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002949795.1	29.4	[27 - 31.9%]	0.1454	0.08
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_028623165.1	30.6	[28.2 - 33.1%]	0.139	0.13
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115045.1	28.7	[26.3 - 31.2%]	0.1494	0.06
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_013343235.1	28.5	[26.1 - 31%]	0.1509	0.05
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002246015.1	29.2	[26.9 - 31.7%]	0.1464	0.08
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002245975.1	28.4	[26 - 30.9%]	0.1512	0.05
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115105.1	29.3	[26.9 - 31.8%]	0.1462	0.08
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_000020025.1	28.7	[26.3 - 31.2%]	0.1494	0.06
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_003326195.1	28.8	[26.4 - 31.3%]	0.1489	0.06
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017114985.1	30.2	[27.8 - 32.7%]	0.1412	0.11
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_015206945.1	28.8	[26.4 - 31.3%]	0.1488	0.06
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_001712795.1	29	[26.6 - 31.5%]	0.148	0.07
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_013393925.1	28.7	[26.4 - 31.2%]	0.1493	0.06
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_015206895.1	28.6	[26.2 - 31.1%]	0.1501	0.06
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_014222255.1	28.7	[26.3 - 31.2%]	0.1494	0.06
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_013393905.1	28.4	[26.1 - 30.9%]	0.151	0.05
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115095.1	28.9	[26.5 - 31.4%]	0.1482	0.07
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115085.1	30	[27.6 - 32.5%]	0.1424	0.1
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_026127265.1	28.3	[26 - 30.8%]	0.1517	0.05
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002154695.1	23.6	[21.3 - 26%]	0.1855	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002154725.1	23.4	[21.1 - 25.9%]	0.1868	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_013393945.1	22.7	[20.4 - 25.1%]	0.193	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_000196515.1	21	[18.8 - 23.5%]	0.2087	0
Query genome	Reference genome	DDH	Model C.I.	Distance	Prob. DDH >= 70%
Fórmula 3					
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_005869855.1	42.2	[39.3 - 45.3%]	0.4232	0.29
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_014697355.1	36.1	[33.1 - 39.1%]	0.4866	0.03
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017114945.1	28.1	[25.1 - 31.2%]	0.5936	0



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115025.1	26.3	[23.4 - 29.4%]	0.6224	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017114995.1	26.3	[23.4 - 29.4%]	0.6226	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115165.1	26.1	[23.2 - 29.2%]	0.6265	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002949795.1	26.1	[23.2 - 29.2%]	0.6263	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_028623165.1	26	[23.1 - 29.1%]	0.6285	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115045.1	25.6	[22.7 - 28.7%]	0.6357	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_013343235.1	25.3	[22.4 - 28.4%]	0.6403	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002246015.1	25.2	[22.3 - 28.3%]	0.6424	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002245975.1	24.9	[22 - 28%]	0.648	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115105.1	24.9	[22 - 28%]	0.6481	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_000020025.1	24.8	[22 - 27.9%]	0.6491	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_003326195.1	24.8	[21.9 - 27.9%]	0.6502	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017114985.1	24.9	[22 - 28%]	0.6481	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_015206945.1	24.6	[21.8 - 27.7%]	0.6528	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_001712795.1	24.5	[21.7 - 27.6%]	0.6547	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_013393925.1	24.1	[21.3 - 27.2%]	0.6625	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_015206895.1	24.1	[21.3 - 27.2%]	0.6623	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_014222255.1	23.9	[21 - 27%]	0.6676	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_013393905.1	23.8	[21 - 26.9%]	0.668	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115095.1	23.3	[20.5 - 26.4%]	0.6792	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_017115085.1	23.1	[20.3 - 26.2%]	0.6831	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_026127265.1	22.5	[19.7 - 25.6%]	0.6965	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002154695.1	15.8	[13.3 - 18.7%]	0.8808	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_002154725.1	15.7	[13.2 - 18.6%]	0.8824	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_013393945.1	14.6	[12.1 - 17.4%]	0.927	0
<i>Nostoc</i> sp. MAG01	GCA_000196515.1	13.9	[11.5 - 16.7%]	0.9543	0



APÊNDICES

NORMAS DE SUBMISSÃO DO ARTIGO 01

Seção

TÍTULO PRINCIPAL

TÍTULO TRADUZIDO

Autor^I , Autor^{II} , Autor^{III} 

^I Instituição, Departamento [se houver], Cidade, Estado[sigla], Brasil

^{II} Instituição, Departamento [se houver], Cidade, Estado[sigla], Brasil

^{III} Instituição, Departamento [se houver], Cidade, Estado[sigla], Brasil

RESUMO

Para o **Título do resumo**: alinhado à esquerda, fonte Opens Sans 12, maiúsculas, negrito, espaçamento simples 1,0. Este espaço é para inserir o resumo do artigo. O **resumo** deve conter no máximo 15 linhas, escritas em fonte Open Sans 10, justificado. O resumo deve conter no máximo 15 linhas, escritas em fonte Open Sans 10, justificado. O resumo deve conter no máximo 15 linhas, escritas em fonte Open Sans 10, justificado. O resumo deve conter no máximo 15 linhas, escritas em fonte Open Sans 10, justificado. O resumo deve conter no máximo 15 linhas, escritas em fonte Open Sans 10, justificado. **Importante**: O texto do resumo existente no arquivo do Word deve coincidir com o resumo cadastrado no momento da submissão do artigo no sistema eletrônico da Revista. **Importante**: O texto do resumo existente no arquivo do Word deve coincidir com o resumo cadastrado no momento da submissão do artigo no sistema eletrônico da Revista.

Palavras-chave: Termo1; Termo2; Termo3

ABSTRACT

Second language abstract here. Second language abstract here. Second language abstract here. Second language abstract here. Second language abstract here. Second language abstract here. Second language abstract here. Second language abstract here. Second language abstract here. Second language abstract here. Second language abstract here. Second language abstract here. Second language abstract here. Second language abstract here. Second language abstract here. **Importante**: O abstract existente no arquivo Word deve coincidir com o abstract cadastrado no idioma inglês no momento da



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

submissão do artigo no sistema. **Importante:** O abstract existente no arquivo Word deve coincidir com o abstract cadastrado no idioma inglês no momento da submissão do artigo no sistema.

Keywords: Term1; Term2; Term3 (evitar tradução automática)

1 INTRODUÇÃO OU TÍTULO DE SEÇÃO PRINCIPAL [SE HOUVER]

Atenção: recomendamos fortemente que as autoras e os autores usem o presente modelo com todas as suas formatações de fonte, margens, espaçamentos e demais regras. Para tanto, basta substituir os conteúdos de cada parte, começando pelo título, resumo, palavras-chave etc.

Para o caso desta seção primária (títulos principais) em específico: **Título da seção** em fonte Opens Sans 12, maiúsculas, alinhamento à esquerda, negrito, espaçamento 1,5. **Conteúdo da seção** em fonte Opens Sans 12, espaçamento 1,5 e parágrafos com recuo de 1,25.

A introdução deve conter elementos essenciais a uma plena compreensão do texto. Sugere-se que os autores iniciem o artigo com uma breve contextualização do assunto e, após, apresentem o PROBLEMA que foi investigado e será elucidado. Também se sugere que sejam apontados de forma clara os OBJETIVOS do artigo. Ao final da introdução recomenda-se que seja realizada uma apresentação sucinta da estrutura geral do artigo de modo a permitir que o leitor compreenda como o assunto será abordado a partir de então.

As notas de rodapé¹ são organizadas com **números arábicos** (1, 2, 3...), em fonte Open Sans 10, alinhamento à esquerda, somente com a primeira letra maiúscula ou em palavras as quais o idioma exige.

¹ Exemplo de nota de rodapé.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

1.1 Título de subseção [se houver]

Título da subseção em fonte Open Sans 12, alinhamento à esquerda, espaçamento 1,5 cm, somente com a primeira letra maiúscula ou em palavras as quais o idioma exige (ex.: nomes próprios). **Conteúdo da subseção** em fonte Open Sans 12, espaçamento 1,5 e parágrafos com recuo 1,25.

1.1.1 Exemplo de seção abaixo de subseção [se houver]

Título da seção abaixo da subseção em fonte Open Sans 12, alinhamento à esquerda, espaçamento conforme o modelo acima, somente com a primeira letra maiúscula ou em palavras as quais o idioma exige (ex.: nomes próprios).

Atenção: seguir rigorosamente todas as normas da revista quanto ao modo de fazer citações e referenciá-las. Abaixo segue um exemplo de citação longa (mais de 3 linhas). Em caso de citação curta (3 linhas ou menos), basta inseri-la entre aspas no corpo do texto. Lembrar que a REMOA adota o sistema "Autor/a, data" para menções de referências das citações no corpo do texto

Citação longa (mais de 3 linhas) em fonte Open Sans 10, espaçamento simples (1,0), recuo à esquerda de 4cm, alinhamento justificado, espaços anterior e posterior simples 1,0. Citação longa (mais de 3 linhas) em fonte Open Sans 10, espaçamento simples (1,0), recuo à esquerda de 4cm, alinhamento justificado, espaços anterior e posterior simples 1,0. Citação longa (mais de 3 linhas) em fonte Open Sans 10, espaçamento simples (1,0), recuo à esquerda de 4cm, alinhamento justificado, espaços anterior e posterior simples 1,0.

Continuação da redação do texto com conteúdo da seção em fonte Open Sans 12, espaçamento entrelinhas 1,5, parágrafos com recuo 1,25. Continuação da redação do texto com conteúdo da seção em fonte Open Sans



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

12, espaçamento entrelinhas 1,5, parágrafos com recuo 1,25. Continuação da redação do texto com conteúdo da seção em fonte Open Sans 12, espaçamento 1,5, parágrafos com recuo 1,25. Continuação da redação do texto com conteúdo da seção em fonte Open Sans 12, espaçamento entrelinhas 1,5, parágrafos com recuo 1,25. Continuação da redação do texto com conteúdo da seção em fonte Open Sans 12, espaçamento entrelinhas 1,5, parágrafos com recuo 1,25

1.1.1.1 Exemplo de mais uma subseção

Caso o trabalho exija mais uma subseção, este modelo deve ser utilizado. Os títulos das seções e subseções devem seguir uma ordem lógica e apresentados de acordo com este modelo.

2 NOVA SEÇÃO

Redação do texto com conteúdo da seção em fonte Open Sans 12, espaçamento 1,5, parágrafos com recuo 1,25. Continuação da redação do texto com conteúdo da seção em fonte Open Sans 12, espaçamento 1,5, parágrafos com recuo 1,25.

Colocar “aspas duplas para **citação direta** com até três linhas, fazendo referência a autoria, ano da obra e número da página de onde foi retirada” (AUTOR/A, 2017, p. 2).

Indicar com colchetes se precisar suprimir algum trecho na citação [...]. Deve-se sempre referenciar autor/a, ano da obra e número da página de onde foi retirado o texto. Todas as citações em língua estrangeira deverão ser traduzidas para o português, desde que essa tradução não afete o sentido original da frase. (AUTOR/A, 2017, p. 2).



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

As citações deverão ter chamadas no corpo do texto pelos sobrenomes, ano de publicação e também, para citações diretas, o número da página.

Para menção da autoria no contexto da frase, só a inicial deve ser em letra maiúscula, e quando a menção é feita entre parênteses, todas as letras devem ser maiúsculas, como nos exemplos abaixo:

Conforme afirma Corrêa (1997, p. 152), "O espaço enquanto objetivação geográfica do estudo da cidade apresenta várias facetas que permitem que seja estudado de modo multivariado".

OU:

"O espaço enquanto objetivação geográfica do estudo da cidade apresenta várias facetas que permitem que seja estudado de modo multivariado" (CORRÊA, 1997, p. 152)

Os artigos só podem fazer referência a figuras (fotos, mapas, imagens ou gráficos), quadros ou tabelas. Toda a figura, quadro ou tabela que for utilizada deve ser chamada no texto (figura 1 e quadro 1) antes de aparecer, conforme o exemplo a seguir: o título da figura 1 é sucinto e completo.

Figura 1 – Título de apresentação sucinto e completo. Em títulos com mais de uma linha justificar e manter à esquerda



Fonte: Autores/as (2020)

Legenda: As legendas devem ser colocadas abaixo das fontes.

Nota: Caso seja uma foto tirada pelos próprios autores ou autoras, indicar Fonte: Acervo particular dos autores (setembro de 2017)



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Importante: o que difere um quadro de uma tabela visualmente é que o quadro é fechado nas laterais e a tabela é aberta. As tabelas e quadros ficam melhor dispostos em página única, portanto, sempre que possível, realizar o arranjo dos textos para atender este item.

Quando não for possível, pode ocorrer do texto sofrer algum ajuste na diagramação, para que o título acompanhe a figura, quadro ou tabela, sempre posicionado acima. Ver quadro 1.

Quadro 1 – Os quadros devem ter seus títulos na parte superior

Coluna 1	Coluna 2	Coluna 3	Coluna 4
Linha 1	Valor 1	Valor 2	Valor 3
Linha 2	Valor 4	Valor 5	Valor 6
Linha 3	Valor 7	Valor 8	Valor 9
Linha 4	Valor 10	Valor 11	Valor 12
Linha 5	Valor 13	Valor 14	Valor 15

Fonte: as fontes dos quadros devem ser colocadas na parte inferior. Quando expõe dados produzidos na pesquisa, indicar: Organização dos autores.

Tabela 1 – As tabelas devem ter seus títulos na parte superior

Coluna 1	Coluna 2	Coluna 3	Coluna 4
Linha 1	Valor 1	Valor 2	Valor 3
Linha 2	Valor 4	Valor 5	Valor 6
Linha 3	Valor 7	Valor 8	Valor 9
Linha 4	Valor 10	Valor 11	Valor 12
Linha 5	Valor 13	Valor 14	Valor 15

Fonte: as fontes das tabelas devem ser colocadas na parte inferior. Quando reproduzida integralmente, indicar Fonte: Sobrenome (ano)

As equações aparecem o corpo do texto, sendo enumeradas pelo lado direito entre parênteses, como:

$$y = ax + b \quad (1)$$

onde:



Open Sans 10;
espaçamento simples;
com os tópicos divididos por ponto e vírgula.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Redação do texto com conteúdo da seção em fonte Open Sans 12, espaçamento 1,5, parágrafos com recuo 1,25. Continuação da redação do texto com conteúdo da seção em fonte Open Sans 12, espaçamento 1,5, parágrafos com recuo 1,25. Continuação da redação do texto com conteúdo da seção em fonte Open Sans 12, espaçamento 1,5, parágrafos com recuo 1,25.

AGRADECIMENTOS [SE HOUVER]

Escreva aqui seus agradecimentos, se houver.

REFERÊNCIAS

As referências devem ser colocadas em ordem alfabética, com fonte Open Sans tamanho 12, espaçamento simples, sem recuo de primeira linha, espaçamento de 12 pt depois de cada uma, obedecendo os seguintes critérios:

Livro: SOBRENOME do/a autor(a) da obra, Prenomes abreviados. **Título da obra:** subtítulo. Número da edição. Local de Publicação: Editora, ano de publicação. Citam-se todos, separados por ponto e vírgula. Sobrenome inglês precedido de Mac ou Mc permanece na mesma forma. A expressão *et al.* será utilizada somente no texto para mais de três autores. Nas referências, recomenda-se que a autoria seja citada em sua totalidade, com exceção de um grande número de autores/as.

LEFF, E. **Discursos sustentáveis**. São Paulo: Cortez, 2010.

Mac LAUGHLIN, J. **Reimagining the nation-state**. The contested terrains of nation-building. London (Inglaterra): Pluto Press, 2001.

MATEO RODRIGUEZ, J. M. *et al.* **Estructura geográfica ambiental y sostenibilidad de las cuencas hidrográficas urbanizadas de Cuba el ejemplo de la cuenca del río Quibú,**



provincia Ciudad de La Habana: resultados del Proyecto Caesar. La Habana (Cuba): Editorial Universitaria, 2008.

NOVO, M. **La educación ambiental**. Bases éticas, conceptuales y metodológicas. 2. ed. Madrid (Espanha): Editorial Universitas, 2003.

Capítulo de livro: SOBRENOME, Prenomes abreviados. Título do capítulo: subtítulo. *In:* SOBRENOME, Prenomes abreviados. (org. OU ed.) **Título da obra:** subtítulo. Número da edição. Local de Publicação: Editora, ano de publicação. Página inicial e final do capítulo. Exemplos:

ROSENDAHL, Z. Território e territorialidade: uma perspectiva geográfica para o estudo da religião. *In:* CORRÊA, R. L.; ROSENDAHL, Z. (org.). **Geografia:** temas sobre cultura e espaço. Rio de Janeiro: Editora UERJ, 2005. p. 191-226.

LUZZI, D. A “ambientalização” da educação formal. Um diálogo aberto na complexidade do campo educativo. *In:* LEFF, E. (org.). **A complexidade ambiental**. São Paulo: Cortez, 2003. p. 178-216.

Artigo de periódico: SOBRENOME DO(A) AUTOR(A) DO ARTIGO, Prenomes abreviados. Título do artigo: subtítulo. **Título do Periódico**, cidade de publicação, número do volume, número do fascículo, páginas inicial e final do artigo, mês e ano. Exemplos:

BRANDÃO, P. R. B. Devotos, sábios e viajantes: os geógrafos do mundo islâmico medieval. **Geog Ens Pesq**, Santa Maria, e3, ago. 2018. Disponível em: <https://periodicos.ufsm.br/geografia/article/view/23355>. Acesso em: 27 jan. 2020. DOI 10.5902/2236499423355.

TRENTIN, R; SANTOS, L. J. C; ROBAINA, L. E. S. Compartimentação geomorfológica da bacia hidrográfica do Rio Itu – Oeste do Rio Grande do Sul – Brasil. **Soc. & Nat.**, Uberlândia, v. 24 n. 1, p.127-142, jan./abr. 2012.

HÖFLING, E. M. Estado e políticas (públicas) sociais. **Cadernos Cedes**, Campinas, v. 21, n. 55, p. 30-41, novembro/2001. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=s0101-32622001000300003&script=sci_arttext. Acesso em: 5 jan. 2016.

Dissertações e Teses: SOBRENOME, Prenomes abreviados. **Título da obra:** subtítulo. Ano de defesa. Número de páginas. Categoria (Grau e Área de Concentração) – Instituição, Local, Ano do documento. Exemplos:

ROVANI, F. F. M. **Zoneamento de risco climático do cultivo da Nogueira Pecã (Carya illinoensis) para o Rio Grande do Sul**. 2016. 232 p. Tese (Doutorado em Geografia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2016.



JUNCKES, I. J. **O sindicalismo novo dos bancários na reestruturação financeira dos anos noventa no Brasil**. 2004. 214 p. Tese (Doutorado em Sociologia Política) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

MOURA, G. S. S. **Análise do gerenciamento dos resíduos sólidos urbanos do município de Mossoró-RN**. 2011. 45 p. Monografia (Bacharel em Ciência e Tecnologia) – UFERSA, Mossoró-RN, 2011.

Trabalhos apresentados em eventos científicos: SOBRENOME, Prenomes abreviados. Título do trabalho. In: NOME DO EVENTO, Número da edição, Cidade onde se realizou o evento. **Anais** [...] ou Proceedings [...] ou Resumos [...] Local de publicação: Editora, Ano de publicação. Páginas inicial e final do trabalho. Exemplos:

SILVA, J. M. P. Poder, governo e território em Carajás In: ENCONTRO NACIONAL DA ANPEGE, 6., 2005, Fortaleza. **Anais**[...] Fortaleza: Expressão Gráfica, 2005. p. 120-121.

LOPES, L. S. O.; SILVA, O. G. Paisagem e patrimônio geomorfológico: revisão conceitual. In: ENCONTRO NACIONAL DA ANPEGE, 11. A diversidade da geografia brasileira: escalas e dimensões da análise e da ação, 2015, Presidente Prudente. **Anais** [...] Presidente Prudente: ANPEGE, 2015. p. 9355-9365.

1 – Nome completo autor/a:

Titulação,

link do Orcid e e-mail:

Contribuição:

2 – Nome completo autor/a:

Titulação

link do Orcid e e-mail:

Contribuição:

3 – Exemplo de nome

Engenheiro Ambiental, Doutor em Engenharia Ambiental

<https://orcid.org/0000-0000-0000-0000> • exemplodeemail@ufsm.com

Contribuição: Escrita – Primeira Redação

Como citar este artigo

AUTORIA. Título do artigo. **Ciência e Natura**, Santa Maria, v. 44, exx, 2022. DOI 10.5902/2179460Xxxxxx. Disponível em: <https://doi.org/10.5902/2179460Xxxxxx>.



NORMAS DE SUBMISSÃO ARTIGO 02

scientific data

[nature](#) > [scientific data](#) > [submission guidelines](#)

Submission Guidelines

How to prepare and submit a manuscript to *Scientific Data*. Please see our [Aims and scope](#) for advice on what to consider before doing this.

Key steps:

1. [Select an article type](#)
2. [Deposit the dataset](#)
3. [Prepare the manuscript](#)
 - [General](#)
 - [Title & abstract](#)
 - [Authors & affiliations](#)
 - [Background & Summary / Introduction](#)
 - [Methods](#)
 - [Data Record](#)
 - [Technical Validation](#)
 - [Usage Notes](#)
 - [Code Availability](#)
 - [Acknowledgements, Author Contributions & Competing Interests](#)
 - [References](#)
 - [Citing Data](#)
 - [Figures & Tables](#)
 - [File requirements for first round review](#)
 - [Covering letters are not required](#)
4. [Submit the manuscript](#)



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

5. [First round peer review](#)
6. [Revised manuscripts](#)
 - [What to expect](#)
 - [General requirements](#)
 - [Figures](#)
 - [Tables](#)
 - [Equations](#)
 - [Supplementary information](#)
 - [LaTeX](#)
 - [Consortia](#)

1. Select an article type

	Data Descriptor	Article	Comment
Scope	Descriptions of datasets shared in repositories	Reports on data sharing policies, repositories, data standards, data curation, or any topic relating to data sharing	Shorter works on data sharing
Peer-reviewed?	Yes	Yes	Yes
Format outline	• Title • Author list (does not need a heading) • Abstract • Background & Summary • Methods • Data Records • Technical Validation • Usage Notes (optional) • Code Availability • References • Author Contributions • Competing Interests • Acknowledgements	• Title • Author list (does not need a heading) • Abstract • Introduction • Results • Discussion • Methods • Data Availability • Code Availability • References • Author Contributions • Competing Interests • Acknowledgements	• Title • Author list (does not need a heading) • Abstract (optional) • References • Author Contributions • Competing Interests • Acknowledgements



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Read more about these formats in our [Aims & Scope section](#). All headings are mandated for the named article type using the exact working unless otherwise indicated. No additional headings are supported for Articles or Data Descriptors although any sub-headings within the named sections are allowed. Comments can contain any structure as long as the named headings are included.

2. Deposit the dataset

Data Descriptors are associated with datasets that we review alongside the paper. The requirements for sharing depend on the peer review stage:

For **first round review** we require that data are available for download and review by reviewers via any URL that allows anonymous download. This can be the final, intended repository link if authors wish to deposit the data from the start, or a temporary location such as cloud storage if you wish to delay or embargo.

From the **second round of review onwards** we require that data are public and available in a formal data repository that meets [our policy](#), in preparation for any final publication.

In most cases we recommend these are not separate steps, meaning the data is live at the repository from the start, as the simplest option. Please see our [data repositories guidance](#) for a full list of requirements, and some suggestions

Sharing is also required for **Articles and Comments** if relevant to the results of the work.

3. Prepare the manuscript

General

Submissions should be clearly written and understandable by scientists from diverse backgrounds. Technical jargon should be avoided where possible and clearly explained where its use is necessary. Titles and abstracts should be written in language understandable to any scientist. Abbreviations should also be kept to a minimum and, where unavoidable, should be defined in the text at their first occurrence (please do not use abbreviations sections)

We do not have rules for format, font size, style, etc as long as the mandated headings for the article type are included. Most bespoke formatting applied to manuscripts in review is not used for publication as we typeset papers according to *Scientific Data's* house style. For this reason, we do not require or encourage the use of article templates. Authors that require a pre-defined structure are advised to simply copy the headings in section 1 into a blank document and read the rest of this guide for further advice.

Manuscripts published in *Scientific Data* are not subject to in-depth copy editing. Authors are responsible for procuring copy editing or language editing services for their manuscripts, either before submission, or at the revision stage, should they feel it would benefit their manuscript. Such services include those provided by our affiliates [Nature Research Editing Service](#) and [American Journal Experts](#). Please note that the use of such a service is at the



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

author's own expense and in no way implies that the article will be selected for peer review or accepted for publication.

Title & Abstract

Titles must not exceed 110 characters, including whitespaces, and should avoid the use of acronyms (other than very common ones such as DNA, etc), abbreviations, and unnecessary punctuation. Colons and parentheses are not permitted. We recommend only real, technically descriptive words are used to align titles with how users search for information. Do not include dataset brand names in titles, self-constructed acronyms, or words used out of context for the scientific topic, as no user will be searching for them. Capitalise only the first word and any proper nouns and do not include advertising claims not related to the scientific content of the work (e.g. novel, first, AI-ready, open, etc). If unsure, just describe what it is in objective terms.

We recommend the Abstract should not exceed 170 words. It should succinctly describe the data and how it may be used but should not make any claims regarding new scientific findings. We recommend URLs for download, or other details on dataset access, are not included. Please do not use sub-headings to break the Abstract into sections.

Authors & Affiliations

Author affiliations should provide enough detail for the author to be reached, including the department, institution and country where relevant. Full postal addresses are not required. Affiliations should be cited in numerical order within the author list, starting with the affiliations of the first author. Email addresses should be provided for corresponding authors. If you wish to name more than one first author please use the additional footnote such as "These authors contributed equally". All other contributions should be described in the author contributions statement. We do not use other status label footnotes such as "Senior Author".

Background & Summary (Data Descriptors) / Introduction (Articles)

For Data Descriptors, this section should provide an overview of dataset, including the motivation for creating it, as well as outlining the potential reuse value where applicable. Any previous publications that used these data, in whole or in part, should be cited and briefly summarised. Introductions for Articles and Comments should provide a similar explanation of why the work was performed and what value you believe it adds. Please note that because Data Descriptors do not present results or analyses there is no formal mandate to cite a given amount of prior art for comparison, however we recommend that at least some other datasets or outputs relevant to the field are cited for readers' general interest. Please do not include subjective claims on novelty, impact, or utility.

Methods

Methods in Data Descriptors should describe the steps or procedures used to create the data, including full descriptions of the experimental design, data acquisition and any computational processing. For secondary datasets compiled from other sources, all details of input data should be described in the Methods (use a sub-heading such as 'Input data' if you wish) at a level of detail that allows readers to source the exact data used (please do not use non-specific URLs or just homepages). Where continuously updated input data have been used, authors should provide the version number or search terms used to create it at a level of detail that allows others to find the same input and repeat the work. Input datasets with DOIs or other formal metadata



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

should be explicitly referenced via our [data citation format](#). For other types without formal metadata, please embed any URLs in the text. Please do not include general results or analyses in this section (or anywhere in the paper) which should solely focus on documenting practical tasks. Where data have been analysed or otherwise published elsewhere then the experimental methods can be cited rather than re-stated, with the new content just focusing on any technical or processing steps additional to what has been previously disclosed.

Articles should describe the full *scientific* process for how the output or study was generated, but there is less of a requirement to discuss operational aspects like software development or project management processes unless specifically relevant to the science or data science of the piece. Please do not include general descriptions of features or other advertising claims. The focus needs to be on the scientific work (tasks) done.

Papers describing outputs from consortia or other large, multi-stakeholder projects are asked to be mindful of scientific relevance and reader interest when describing how they are administered, managed, funded (beyond the practical requirement to state the funder details), or otherwise organised, unless this is of specific relevance to the science.

Data Record (Data Descriptors only)

This section should be used to explain what the dataset contains, including the repository where it is stored, an overview of the data files and their formats, and any folder structure. Each external dataset should be cited using our [data citation](#) format. Please do not include extensive summary statistics, which should be limited to less than half a page, with 1-2 tables or figures, if required at all. Note the general expectation is that, if readers wish to scrutinise your dataset's contents, they will download and analyse it for themselves (meaning that if the figure may be generated from the data file we generally recommend it does not need to be summarised or depicted in the text).

Technical Validation (Data Descriptors only)

This section should describe the experiments, analyses or checks needed to support the technical quality of the dataset, with any supporting figures and tables, as needed.

Usage Notes (Data Descriptors only, optional)

'Usage Notes' is an optional section that can be used to provide information that may assist other researchers who reuse your data. Most commonly these are additional technical notes about how to access or process the data. Please do not use this section to write a conclusions section, general selling points, worked cases studies, or similar, as we do not publish these.

Code Availability

For all publications, a statement must be included under the subheading "Code Availability" indicating whether and how and custom code can be accessed, including any restrictions to access. This section can also include information on the versions of any software used, if relevant, and any specific variables or parameters used to generate, test, or process the current dataset if these are not included in the Methods. Please see our policy on [code availability](#) for more information. The code availability statement should be placed at the end of the manuscript, immediately before the references.



If no custom code has been used then the statement is still required in order to state this.

Acknowledgements, Author Contributions & Competing Interests

All types must include Acknowledgements, Authors contributions & Competing interest statements immediately before the References. Please note that Acknowledgements is mandated as we expect all authors to use this section to state who funded the work.

The 'Acknowledgements' statement should contain text acknowledging non-author contributors. Acknowledgements should be brief, and should not include thanks editors or effusive comments. Grant or contribution numbers should be included here.

The 'Author contributions' statement should briefly describe each author's contribution to the work. Please see also the *Nature* journals' [authorship policies](#).

A 'Competing interests' statement is required for all papers accepted by and published in *Scientific Data*. If there is no conflict of interest, a statement declaring this must still be included in the manuscript (e.g. "The author(s) declare no competing interests"). Please see our [policies](#) for more information on what may constitute a competing interest.

References

All references should be numbered sequentially throughout the text. Only one publication is given for each number. Only papers that have been published or accepted by a named publication or recognized preprint server should be in the numbered list; preprints of accepted papers in the reference list should be submitted with the manuscript. Grant details and acknowledgments are not permitted as numbered references and no other footnotes should be used in the paper.

For LaTeX files, please note that references should be embedded directly within the .TEX file. Please do not use separate .bib or .bbl files. If you have created a .tex that requires these, remove the dependency and paste reference list into the .tex directly. Please see the specific notes for LaTeX further down.

The correct abbreviation for *Scientific Data* is '*Sci. Data*'.

Scientific Data suggests the use of the standard Nature referencing style. See the examples below for a journal article¹, book², book chapter³, preprint⁴, computer code⁵, online material⁶⁻⁸ and government report⁹. However, please note that the most useful aspect to include are DOIs for all items that have them, as the easiest method for readers to find content. These may be appended to the end of any reference in URL format (<https://doi.org/DOI>, where DOI is the relevant number). Examples:

1. Schott, D. H., Collins, R. N. & Bretscher, A. Secretory vesicle transport velocity in living cells depends on the myosin V lever arm length. *J. Cell Biol.* **156**, 35-39 (2002).
2. Hogan, B. *Manipulating The Mouse Embryo: A Laboratory Manual* 2nd edn (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1994)
3. Haines, N. & Cotter, R. in *Studies in Manic Depression* Vol. 1 (ed. Boase, N.) Ch. 2 (Oxford Univ. Press, 1982).



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

4. Babichev, S. A., Ries, J. & Lvovsky, A. I. Quantum scissors: teleportation of single-mode optical states by means of nonlocal single photon. Preprint at <https://arxiv.org/abs/quant-ph/0208066> (2002).
5. Gallotti, R. & Barthélemy, M. Source code for: The multilayer temporal network of public transport in Great Britain. *Figshare* <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.1249862.v1> (2014).
6. Manaster, J. Sloth squeak. *Scientific American Blog Network* <http://blogs.scientificamerican.com/psi-vid/2014/04/09/sloth-squeak> (2014).
7. QGIS Development Team. QGIS Geographic Information System, version 2.18.10. *Open Source Geospatial Foundation Project* <https://qgis.org/en/site/> (2016).
8. Hijmans, R. J., Phillips, S. J., Leathwich, J. & Elith, J. *dismo: Species Distribution Modelling* <https://CRAN.R-project.org/package=dismo> (2018).
9. Akutsu, T. *Total Heart Replacement Device*. Report No. NIH-NHLI-69 2185-4 (National Institutes of Health, 1974).

Citing Data

In line with emerging [industry-wide standards for data citation](#), references to all datasets described or used in the manuscript should be cited in the text with a superscript number and listed in the ‘References’ section in the same manner as a conventional literature reference.

An author list (formatted as above) and title for the dataset should be included in the data citation, and should reflect the author(s) and dataset title recorded at the repository. If author or title is not recorded by the repository, these should not be included in the data citation. The name of the data-hosting repository, URL to the dataset and year the data were made available are required for all data citations. We strongly encourage the use of stable persistent identifiers, such as DOIs, for datasets described in the journal. These should be included in references in a URL format (<https://doi.org/XXXXX>, where XXXX is the DOI). Please note some repositories may require these be requested in advance. For repositories using accessions (e.g. SRA or GEO) an identifiers.org URL should be used where available. For first submissions, authors may choose to include just the accession number. Scientific Data staff will provide further guidance after peer-review. Please refer to the following examples of data citation for guidance:

1. Zhang, Q-L., Chen, J-Y., Lin, L-B., Wang, F., Guo, J., Deng, X-Y. Characterization of ladybird *Henosepilachna vigintioctopunctata* transcriptomes across various life stages. *figshare* <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.c.4064768.v3> (2018).
2. *NCBI Sequence Read Archive* <https://identifiers.org/ncbi/insdc.sra:SRP121625> (2017). [See note]
3. Barbosa, P., Usie, A. and Ramos, A. M. *Quercus suber* isolate HL8, whole genome shotgun sequencing project. *GenBank* <https://identifiers.org/ncbi/insdc:PKMF000000000> (2018).
4. *DNA Data Bank of Japan* <https://ddbj.nig.ac.jp/resource/sra-submission/DRA004814> (2016).



[Note]: Please note the SRP accession number should be used, if available, rather than any lower order accession number. This allows the SRA dataset to be cited via a single reference, rather than many.

Figures & Tables

Manuscripts may reference figures (e.g. Figure 1), tables (e.g. Table 1), and Supplementary Information (e.g. Supplementary Table 1, Supplementary File 2, etc.). Please see the additional guidance below for submitting [figures](#), [tables](#) and [supplementary information](#), though note they may not be needed for the first round of review.

Please do not include internal hyperlinks to elements within the manuscript as these are typically removed and replaced with our own linking when typesetting.

File requirements for first round review

The minimum - and easiest - requirement for first round peer review is to submit a single pdf file for the main article plus any other (pdf) for Supplementary Information, if present. The article file needs to include all figures and tables within it, with captions, and ensure each element is discussed in the main text. If that is done there is no requirement to provide separate figures, tables, or a machine-readable version of the main article for first round review. If we can read everything, we can review it.

Covering letters

We recommend authors do not write cover letters.

All submissions that meet our technical criteria are sent for review, so there is no requirement to sell the impact or importance of the work and we do not check for this at initial assessment. Any technical notes required for the submission should be input as answers to submission questions in the following sections:

- Suggested or non-preferred Reviewers or Editorial Board Members: please add to the Manuscript Comment section.
- Prior publications should be clearly cited in the background section of the paper (if published or available as a pre-print) or supplied to the editorial team as 'related manuscript files' if under review.
- Notes on the order of status of authors: please note the submission system is only used to gather names and contact details, meaning the order of names on the platform is not used or published. The version of record of the author list will be taken from the article file. The named 'corresponding author' on the system is the main point of contact for peer review. The named 'corresponding author' in the paper is the main point of contact for publication. These do not have to be the same and only the information in the article file is published.
- Information on the importance of the work or why it should be published: we do not check or require this for assessing papers for the journal. Reviews are made solely on the content submitted for publication (the article, dataset, and any supplementary files).



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

For Revised Manuscripts or Appeals, a separate document is required in all cases, however this should be marked as a "Response to Reviewers" file on the system (which is visible to all, including reviewers), rather than "Author Cover Letter" (not visible to reviewers). Appeal letters should state why the previous decision should be reversed, rather than just responding to the previous reviews.

4. Submit the manuscript

Submit your manuscript and related files via our [online system](#).

5. First round peer review

We first perform an **initial quality check** to check the basic requirements for peer review, such as file availability, data availability, code availability and to check papers are within the scope of the journal. Our team will contact you to fix any issues if required. While we do reject papers outside our technical scope – such as traditional research papers not sharing any data – **we send all in-scope manuscripts that meet our technical requirements for peer review and do not make assessments on perceived impact**. You will be contacted once initial quality control is complete to inform you peer review has started.

We then **send the paper to our [Editorial Board](#)**, contacting members within the correct subject area to request they handle the paper. Please note their acceptance is dependent on their availability and so it is common to have to contact multiple Editorial Board Members before someone accepts. In the unlikely event we do not have an available Editorial Board Member to assess the paper we will assign it to a member of our in-house staff. We will email you once the handling editor is assigned to inform you who is handling your paper.

The handling Editorial Board Member is then requested to make an initial technical check and **commence reviewer invitations**. You will be notified by email once this starts, which is the last update we send before any final decision. Please note that **sourcing reviewers is typically the longest period of peer review** and requires us to invite volunteers to assess the work. The timing of this stage depends on how many reviewers decline or do not respond to our invitations, which determines how many invitations we need to send and how long the process takes. This varies by manuscript and is not something the journal can directly control, however please rest assured we will invite reviewers at the maximum possible rate until we have the minimum two reviewers required to make a quality assessment.

Once the last reviewer is assigned the review invitation process stops and we await the final reports. Reviewers are typically provided 10 days to assess the paper but more time is provided if requested. In rare cases, if commissioned reviews are not submitted after this time, we may go back to the "inviting reviewers" stage to source a replacement.

Once both reviews are received the Editorial Board Member will be asked to assess the reports and make a recommendation - either to Accept, Revise, or Reject the work. We will communicate this decision to all authors via a **decision letter** alongside the results of our data policy checks, and any remaining requirements.



6. Revised manuscripts

What to expect

If your paper receives a "revisions" decision at the first round of peer review you will be invited to revise and re-submit the paper according to the reviewers' and editors' feedback. One month is provided for revisions but we can be flexible if you need more time.

Scientific Data aims for a two-round review process, meaning the first round communicates any potential issues to you and the second-round checks to ensure they have been addressed. If the editor and reviewers are happy with the changes papers may receive an 'Accept' recommendation at the end of round two.

Second round review starts with a quality check of your revised work. This is more detailed than our checks at round one as we aim to ensure the paper is ready for any final publication. Details of our expectations are provided in the next sections.

Once our revised manuscript checks are complete your paper will be sent back to the previous Editorial Board Member who will check your article revisions and response file. In most cases reviewers are invited to re-assess works, however Editorial Board Members are free to make reassessments directly in cases where they feel re-review is not required. The Editor will also assess if their comments from the previous round have been addressed.

Once the process is finished you will receive a second-round decision letter. We will send 'Accept' decisions where we feel all major issues have been fixed and the work is technically sound and ready to publish. If not, we may return the paper to you for further revision. Note that while rejection at round two is generally rare it is still used in cases where reviewers feel comments have not been addressed but it would not be advantageous to continue the process.

General requirements

- **One copy** of the main article file in a machine-readable format (.docx or .tex only - no pdfs - [LaTeX users see here](#)). We require a clean copy that is ready for any final acceptance, so please do not include highlighting or other tracked changes, ensure all mandated sections are included, and there are captions for all tables and figures. Tables may be embedded within this if they are machine readable.
- All figure files, one file per figure. Individual panels a,b,c cannot be supplied separately and need to be merged into one file per figure in the arrangement you want and the letter labels (a, b, c, etc) embedded within the image.
- Supplementary information document, if relevant (pdf only)
- Any oversize tables larger than 1 A4 page that need to be submitted as Supplementary Tables (in xlsx format or csv)
- A "Response" file with answers to ALL reviewer AND Editor questions (pdf)
- [Optional] a pdf with changes highlighted if you need to show reviewers what was changed and do not feel you can explain this in words.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

Complete guidelines for re-submission and final publication are listed below:

Figures

We recommend Data Descriptors and Articles not have more than eight figures. While this is not a mandate, please note that in many cases the requirement for more figures is due to including general summaries, results, or analyses that may not be within scope of a Data Descriptor. In addition, a limited number of uncaptioned molecular structure graphics and numbered mathematical equations may be included if necessary.

Scientific Data requires authors to present digital images in accord with the [policies employed by the Nature-titled journals](#).

Authors are responsible for obtaining permission to publish any figures or illustrations that are protected by copyright, including figures published elsewhere and pictures taken by professional photographers. The journal cannot publish images downloaded from the internet without appropriate permission.

Figures should be numbered separately with Arabic numerals in the order of occurrence in the text of the manuscript. Figures presenting quantitative information should include error bars where appropriate and a description of the statistical treatment of error analysis should be included in the figure legend.

Figure lettering should be in a clear, sans-serif typeface (for example, Helvetica) and the same typeface in the same font size should be used for all figures in a paper. Use Symbol font for Greek letters. All display items should be on a white background and in a format that is clear to read. Please do not attempt to accommodate a greater number of data points that you feel a reader can reasonably visually discern. The vertical axis of histograms should not be truncated to exaggerate small differences. Labelling must be of sufficient size and contrast to be readable, even after appropriate reduction. Authors will see a PDF proof that will include figures prior to publication and note that these may be compressed vs the original files.

Figures divided into parts should be labelled with a lower-case bold a, b, and so on, in the same type-size as used elsewhere in the figure. Lettering in figures should be in lower-case type, with only the first letter of each label capitalized. Units should have a single space between the number and the unit, and follow SI nomenclature (for example, ms rather than msec) or the nomenclature common to a particular field. Thousands should be separated by commas (1,000). Unusual units or abbreviations should be spelled out in full or defined in the legend. Scale bars should be used rather than magnification factors, with the length of the bar defined on the bar itself rather than in the legend. In legends, please use visual cues rather than verbal explanations such as ‘open red triangles’.

Unnecessary figures should be avoided: data presented in small tables or histograms, for instance, can generally be described briefly in the text instead. Figures should not contain more than one panel unless the parts are logically connected; each panel of a multipart figure should be sized so that the whole figure can be reduced by the same amount and reproduced at the smallest size at which essential details are visible.

Figures for peer-review



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

At the initial submission stage authors may choose to upload separate figure files or to incorporate figures into the main article file, ensuring that any inserted figures are of sufficient quality to be clearly legible. When submitting a revised manuscript all figures must be uploaded as separate figure files ensuring that the image quality and formatting conforms to the specifications below.

Figures for publication

When creating and submitting final figure files, please follow the guidelines below. Failure to do so can significantly delay publication of your work.

Each complete figure must be supplied as a separate file upload. Multi-part/panel figures must be prepared and arranged as a single image file (including all sub-parts; a, b, c, etc.). **Please do not upload each panel individually.** This is because our typesetters will not arrange them for you, so if separate panels are used please combine them in a suitable image editor and re-save the full figure as a single image prior to submission.

Authors are asked to provide figures of a sufficient resolution for final online publication, however, please do not upload figures that are excessively large. As long as the image is legible it will be suitable for peer review and publication, noting that our typesetting process will compress files to standard quality for web and pdf publication anyway. Figure file sizes larger than a few Mbs are likely codifying information or resolution that will not be retained.

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Figure legends begin with a brief title sentence summarizing the purpose of the figure as a whole and continue with a short description of what is shown in each panel and an explanation of any symbols used. Legends must total no more than 350 words and may contain literature references.

Any descriptions too long for the figure legend should be included in the Methods section.

Tables

Authors may provide tables within the Word document or as separate files. Legends, where needed, should be included in the Word document. We recommend Data Descriptors and Articles should no more than ten tables, but more may be allowed if needed. Tables may be of any size, but only tables that fit onto a single printed page will be included in the PDF version of the article. Please do not use complex nested or merged cell structures and we recommend a standard 2D row/column format. If the information depicted is not numerical please consider whether a table is needed vs some other format (e.g. text, a list, etc).

Oversize tables

Due to typesetting constraints, tables that cannot be fit onto a single A4 page cannot be included in the PDF version of the article and will be hosted as Supplementary Tables, although please note that table sizes are generally smaller in publications than in draft (meaning up to 1.5 pages in draft may possibly fit). Any oversize tables must be labelled in the text as 'Supplementary' tables and numbered separately from the main table list e.g. 'Table 1, Table 2, Supplementary Table 1' etc. Please note bibliographic references cannot be included within Supplementary Tables and should not be listed in the reference list, which only refers to



references used in the main article file. They also cannot have captions in the main article as they are not included within it, but are hosted separately. If you do wish to include any context or information in the supplementary table please find another means of mentioning these references on the main text.

Finally, please note that especially large tables (e.g. 100s or 1000s or rows) should not be shared with the manuscript at all but would be better considered as data tables and deposited within your repository-deposited dataset instead. Please do not call these "supplementary" as this causes confusion with materials hosted alongside the paper. Please choose a descriptive file main and refer to the item in the text as being available at the repository (with a URL and/or data citation to allow readers to find it).

Equations

Equations and mathematical expressions should be provided in the main text of the paper. Equations that are referred to in the text are identified by parenthetical numbers, such as (1), and are referred to in the manuscript as 'equation (1)'.

Supplementary information

Scientific Data discourages authors from supplying text, figures or tables as supplementary files. As much as possible, these types of content should be **included in the main manuscript**.

The main sections of the Data Descriptor manuscript, and particularly the Methods section, have no word length limits, and the journal is not printed, so unless the supplementary information document would extend the length of the paper significantly (e.g. by 10 pages or more) **we recommend the content is included in a single article file and not split out**. Please do not use Supplementary Information to include information that is out of scope for the article type chosen, such as to add results, discussion, or analyses to your Data Descriptor. The general expectation is that these are additional methods, validation, data dictionaries, or technical notes (such as how to run the code) that simply won't fit.

The guidelines below explain how to generate Supplementary Information (SI) where it cannot be avoided. While we accept two types of SI - documents and oversize tables - instructions on the second one are explained in the previous section.

1. A supplementary information document is a pdf containing any supplementary text, figures, small tables or references if these elements are too numerous to fit in the main text. These should always be self-contained and submitted as a single pdf, so please do not supply individual items. Supplementary information documents are not typeset and are published unchanged from the format and content you supply, so we do not need to collect their individual components, unlike for the main paper. Items in the file should be numbered in the document and this numbering should be separate from that used for regular tables and figures appearing in the main article. Please use the formalism "Figure S1", "Table S1", etc to distinguish these elements.
2. Refer to the supplementary information file in the main paper, either referring to the whole document (the supplementary file), or individual items (e.g. supplementary figure 1). Please do not use the word 'supplementary' to refer to any externally hosted file (e.g. a dataset hosted within a repository) or items included in the main paper as this causes



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

confusion during typesetting and publication for where to find the files. This is important to note if the Editor requests files are removed from SI and uploaded to a repository - please rename them if so.

3. Remember to include a brief title and legend for items within the supplementary information document.
4. File sizes should be as small as possible, with a maximum size of 10 MB, so that they can be downloaded quickly. We mandate pdf formats for supplementary documents and xlsx or csv files for oversized supplementary tables (see above)
5. When supplying multiple supplementary figures, they should be merged into the main supplementary information file, with figure legends immediately below each figure. A table of contents should be included on the first page, listing the page number of each supplementary figure. Do not share separate supplementary figure files as these are not typeset, as outlined above
6. References in Supplementary Information documents should start again from 1 in a new numbered list from the main article. Please note these will not be formally indexed by bibliographic indexing services and will likely not count (be trackable) as formal citations affecting user-level metrics such as h-indices. Please consider this - that no formal credit is possible - when using supplementary references and please always consider if the reference could not be included in the main text instead.

Instructions for LaTeX users

Note these are instructions are only required revised manuscripts, where we require an editable version in preparation for typesetting. Articles submitted for first round peer review may be supplied in pdf format (read only) for simplicity.

For revised manuscripts, the core requirement is to supply **a single .TEX file marked as an "Article" on the system**. This should be **standalone**, meaning it can be compiled to a pdf without any additional .bib files, style sheets, or other dependencies.

To check this, please open the .TEX within your editor without providing read access to any other files. If it fails to compile, or sections are missing, please check to ensure it is truly standalone and no dependencies are required. If that has been checked, uploading the .TEX file to our submission system (as an "Article") without other files should allow a merged pdf to be generated. Note the most common issue is the the reference list is missing due to a reliance on a separate .bib/bbl. Please copy the reference list from the .bbl file, paste it into the main manuscript .tex file, and delete the associated `\bibliography{sample}` command.

Please do not compile your own pdf and upload it to system as we then have no guarantee the files will match, or confirmation the .tex will compile. Similarly, .zip files of associated files should also not be uploaded as the .tex file should be possible to compile to a complete, viable pdf without the requirement for additional files.

We do not provide, suggest or recommend the use of a LaTeX template so if you find a previous or legacy version of this via platforms such as Overleaf please do not use them as they may be out of date. Please do not use the LaTeX template of any other journal.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

The only formatting requirement are the headings listed in section 1, so copying these into a blank document and using any legible formatting style is acceptable for first and revised submissions. We recommend Computer Modern fonts. Non-standard fonts should be avoided. For the inclusion of graphics, we recommend graphicx.sty. Please use numerical references only for citations, and include the references within the manuscript file itself as explained. Exact reference formats are not important as long as these contain all the key information (a name, a title, a journal, and - most importantly - a DOI).

Please do not include any internal hyperlinks to sections, headers, figures or tables, via \cref, or similar. Just refer to these elements using free text (e.g. 'see Fig. 1', without linking). This is because all internal links are set by our house style and are created during typesetting, rather than using markup supplied in the .tex file.

Consortia authorships

A consortium author is the name of a group, rather than an individual, in the author list. These should only be used if a standard author list, naming all contributors directly in the paper, would be considered excessively long (e.g 100 or more people). Consortium authorships should not be used for small groups that could easily be accommodated into the main list, or for advertising or promoting projects.

If a consortium is included in the main author list, all members of the consortium are considered bona fide authors, and must be listed together with their affiliations at the end of the Author Contributions statement. The authors and affiliations for the consortium members are an extension of the main author list, used simply because there is no space for them at the start of the paper. Therefore any affiliations already included in the main author list should not be repeated in the Author Contributions statement and the numbering of the affiliations in the consortium should continue in numerical order from those in the main author list – they should not start again from 1. If a member of the consortium already appears as an individual name in the main author list, then his/her affiliations should be identical in the consortium author list. The consortia itself should be acknowledged with the footnote "A full list of members appears in the Author Contributions". If you need to give credit to a consortium, a project or a group of people who do not meet authorship criteria, you can add a mention in the Acknowledgements section or elsewhere (in which case, a full list of members can be provided as a Supplementary Note in the Supplementary Information, if desired). Please do not use consortia authorship to credit individuals who have not actively participated in the creation of the paper or new dataset. If you submitting a description of a secondary dataset compiled from previously published input data then authorship should not be typically granted to the data owner unless they have been actively involved in the (new) processing or compilation to create the secondary output. Instead, individuals should be credited via formal citation of the existing dataset, paper, or any other relevant works, in the same way as using any piece of prior art.

Scientific Data (*Sci Data*)

ISSN 2052-4463 (online)