



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS

LIDIANE ALVES DOS SANTOS

RELAÇÕES FILOGENÉTICAS DOS GÊNEROS *LECANORA* ACH. E
NEOPROTOPARMELIA GARIMA SINGH, LUMBSCH & I. SCHMITT
(LECANORALES, ASCOMYCOTA LIQUENIZADOS)

Recife
2019

LIDIANE ALVES DOS SANTOS

RELAÇÕES FILOGENÉTICAS DOS GÊNEROS *LECANORA* ACH. E
NEOPROTOPARMELIA GARIMA SINGH, LUMBSCH & I. SCHIMITT
(LECANORALES, ASCOMYCOTA LIQUENIZADOS)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Fungos.

Área de Concentração: Micologia Básica

Orientadora: Prof^a. Dra. Marcela Eugenia da Silva Caceres.

Coorientador: Dr. Robert Lücking.

Recife

2019

Catálogo na fonte
Elaine C Barroso (CRB4/1728)

Santos, Lidianne Alves dos

Relações filogenéticas dos gêneros *Lecanora* Ach. e *Neoprotomarmelia* Garima Singh, Lumbsch & I. Schmitt (Lecanorales, Ascomycota Liqueenizados) / Lidianne Alves dos Santos- 2019.

52 folhas: il., fig., tab.

Orientadora: Marcela Eugênia da Silva Cáceres

Coorientador: Robert Lücking

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.
Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Biologia de
Fungos. Recife, 2019.

Inclui referências

1. Fungos liquenizados 2. Filogenia 3. Metabólitos secundários I.
Cáceres, Marcela Eugênia da Silva (orient.) II. Lücking, Robert
(coorient.) III. Título

579.5

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2019-312

LIDIANE ALVES DOS SANTOS

RELAÇÕES FILOGENÉTICAS DOS GÊNEROS *LECANORA* ACH. E
NEOPROTOPARMELIA GARIMA SINGH, LUMBSCH & I. SCHIMITT
(LECANORALES, ASCOMYCOTA LIQUENIZADOS)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Fungos.

Aprovada em: 21/02/2019

BANCA EXAMINADORA

Marcela Eugenia da Silva Caceres (Orientadora)
Universidade Federal de Sergipe

Dra. Leonor Costa Maia
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Mônica Cristina Barroso Martins
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

A Deus por me permitir viver essa experiência de crescimento profissional e pessoal, sempre colocando as pessoas certas no meu caminho todas as vezes que pensei que seria impossível prosseguir. Gratidão!

À minha família por todo amor e força que sempre foi oferecida a mim. Em especial, minha mãe Maria Alves e minha irmã Lívia Santana pelas orações e palavras de encorajamento sempre.

À minha orientadora Dra. Marcela Eugenia da Silva Caceres pela confiança, carinho, respeito e, principalmente pela oportunidade, sem a qual não se chega a lugar algum.

Ao meu Co-orientador Dr. Robert LÜCKING, pelos ensinamentos e ajuda nas análises filogenéticas.

À Dra. Luciane Storti de Melo, pela colaboração que permitiu a utilização do laboratório de Genética Molecular, além das discussões sobre protocolos que otimizassem os resultados.

À Msc. Myrela Conceição Santos de Jesus, pela imensa ajuda e disposição durante as infinitas horas e dias no laboratório, por não ter me deixado desanimar mesmo quando nada dava certo, e sempre surgir com um “amanhã nós tentaremos esse”. Obrigada!

Ao Dr. Marcus Vinicius de Aragão Batista, pela disposição em ajudar sempre que precisei enviar material para sequenciamento.

Ao Dr. André Aptroot, pela ajuda nas identificações química e morfológica dos líquens, além de sua importante contribuição nas discussões sobre a filogenia, mostrando-se extremamente prestativo sempre que precisei. Obrigada!

Ao Colega Cléverton de Oliveira Mendonça, pela disposição sempre em ajudar desde o início do trabalho, compartilhando os mais variados protocolos, além das palavras de incentivo e auxílio na finalização da dissertação. Minha eterna gratidão!

Aos desbravadores do PARNA Catimbau, Indra Escobar, Joana Suassuna, Sílvio Romero, Renato Alvarenga e Vilma Santos pelo companheirismo durante as coletas nesses dias cansativos e memoráveis. Em

especial a Marco Aurélio pela carona de moto que possibilitou minha ida ao Catimbau.

À Dra. Ana Márcia Barbosa-Silva, pela recepção na Paraíba e por tornar possível a coleta na RPPN Fazenda Almas.

Ao Dr. Adriano Afonso Spielmann, pela disposição de sempre em ajudar na busca de literaturas antigas.

À Dra. Maria de Lourdes Lacerda Buriel, por ter disponibilizado seu tempo e conhecimento durante a realização das TLCs.

Aos professores Dr. José Luiz Bezerra, Dra. Mônica Cristina Barroso Martins, Dra. Leonor Costa Maia e Dra. Maria de Lourdes Lacerda Buriel, componentes da banca avaliadora, pelos importantes questionamentos e comentários emitidos.

A todos que fazem parte do laboratório GMBIO. Em especial aos companheiros de PCR, Everton Mota, Melina Alves, Gerlane Barros por tornar as horas no laboratório mais descontraídas e leves.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida de mestrado (Proc. 130385/2017-4) e apoio financeiro (Proc. 440619/2015-7).

À minha amiga-irmã Riclécia Fraga pela amizade, carinho, cuidado e paciência. Enfim, por ser esse ser de luz que tenho o privilégio de ter em minha vida.

À minha amiga-irmã Lilian Souza por toda a amizade dedicada sempre e conversas motivacionais, e a sua mãe Ângela Maria por sempre ter me recebido tão bem todas as vezes que precisei de abrigo nas idas e vindas de Recife. O apoio de vocês foi fundamental!

Às meninas da F03, pelo carinho, respeito e abrigo.

Aos amigos da UFS que levo para a vida. Em especial, Thamires Almeida, Ayslan Trindade, Mateus Matos, Flávia Barreto, Paula Makele, Ariel Dantas e Hugo Andrade.

À Janiele Naiara Dantas Ribeiro pela compreensão, amizade, respeito, companheirismo e força, além de ter me mantido firme e bem nesses difíceis últimos meses.

RESUMO

Lecanorales, considerada a maior ordem de fungos liquenizados, possui uma classificação controversa, com uma enorme variedade de caracteres morfológicos e representantes em todos os ecossistemas terrestres. Lecanoraceae e Parmeliaceae estão entre as principais famílias desta ordem, e ambas têm sido amplamente estudadas. Lecanoraceae abriga 25 gêneros, sendo *Lecanora* seu principal representante, com 550 espécies. Parmeliaceae foi, recentemente, subdividida em duas subfamílias: Parmelioideae e Protoparmelioideae, com o objetivo de classificar melhor os fungos liquenizados tropicais e subtropicais que estão agora no gênero *Neoprotoparmelia*. A pluralidade de critérios taxonômicos sempre dificultou a classificação desses grupos. Por outro lado, a combinação de caracteres morfológicos, químicos e moleculares das regiões ITS e mtSSU (rDNA) tem resolvido muitos problemas nessas classificações. No presente estudo, foi extraído o DNA genômico de amostras frescas de *Lecanora* e *Neoprotoparmelia*, amplificadas as regiões ITS e mtSSU e, posteriormente, os produtos enviados para sequenciamento. Foram obtidas 41 sequências de *Lecanora* e 16 de *Neoprotoparmelia* da região ITS, e 29 da região mtSSU de *Lecanora*. As sequências formaram novos clados e linhagens diferentes das existentes. Os espécimes identificados como *Lecanora tropica*, *Lecanora* spec. nov. LAS128, *Lecanora* spec. nov. LAS129 e *L. subalbellina* LAS130 agruparam com clados preexistentes. Dezesesseis espécies novas foram descritas, nove novos registros e três novas combinações. Dezoito metabólitos foram identificados e foram eficazes na determinação das espécies. Esses resultados demonstram a importância da combinação de vários critérios taxonômicos na identificação e classificação dos fungos liquenizados.

Palavras-chave: Fungos liquenizados. Lecanoraceae. Parmeliaceae. Filogenia. Metabólitos secundários.

ABSTRACT

Lecanorales, considered the largest order of lichenized fungi, has a controversial classification, with a huge variety of morphological characters and representatives in all terrestrial ecosystems. Lecanoraceae and Parmeliaceae are among the major families of this order, and both have been extensively studied. Lecanoraceae is home to 25 genera, with *Lecanora* as its main representative, with 550 species. Parmeliaceae was recently subdivided into two subfamilies, with the objective of better classifying the tropical and subtropical lichenized fungi that are now in the genus *Neoprotoparmelia*. The plurality of taxonomic criteria has always made it difficult to classify these groups. On the other hand, the combination of morphological, chemical and molecular characters of the ITS and mtSSU (rDNA) regions has solved many problems in these classifications. In the present study, the genomic DNA was extracted from fresh samples of *Lecanora* and *Neoprotoparmelia*, amplified the ITS and mtSSU regions and, later, the products sent for sequencing. 41 *Lecanora* and 16 *Neoprotopormelia* sequences were obtained from the ITS region and 29 from the mtSSU region of *Lecanora*. The sequences formed new clades and lineages different from the existing ones. Specimens identified as *Lecanora tropica*, *L. spec. nov.* LAS128, *L. spec. nov.* LAS129 and *L. subalbellina* LAS130 grouped with preexisting clades. Sixteen are new species, nine new records and three new combinations. Eighteen metabolites were identified and were effective in determining the speci. These results demonstrate the importance of combining several taxonomic criteria in the identification and classification of lichenized fungi.

Key-words: Lichenized fungi. Lecanoraceae. Parmeliaceae. Phylogeny. Secondary metabolites.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mapa de localização com os estados de origem dos espécimes estudados.....	20
Figura 2 – A. <i>Lecanora praeferenda</i> LAS256, B. <i>L. hypocrocina</i> LAS199, C. <i>L. spec. nova</i> LAS205, D. <i>L. tropica</i> s. lat. LAS127, E. <i>L. spec. nova</i> LAS128, F. <i>L. spec. nov.</i> LAS129. G. <i>L. subalbellina</i> LAS130, H. <i>L. spec. nov.</i> LAS131.....	25
Figura 3 – A. <i>Lecanora spec. nov.</i> LAS192, B. <i>Lecanora spec. nov.</i> LAS213, C. <i>L. stramineoalbida</i> LAS219, D. <i>L. kalbiana</i> LAS221. E. <i>Lecanora spec. nov.</i> LAS226, F. <i>Lecanora spec. nov.</i> LAS266, G. <i>L. hypocrocea</i> LAS233, H. <i>L. subimmersa</i> LAS269.....	26
Figura 4 – A. <i>Lecanora spec. nov.</i> LAS277, B. <i>Lecanora tropica</i> s. lat. LAS282, C. <i>L. vainioi</i> LAS283, D. <i>Lecanora spec. nov.</i> LAS284, E. <i>Lecanora</i> indet LAS285, F. <i>Lecanora spec. nov.</i> LAS546.....	27
Figura 5 – Relações filogenéticas do gênero <i>Lecanora</i> com o marcador molecular ITS.....	32
Figura 6 – Relações filogenéticas do gênero <i>Lecanora</i> com o marcador molecular mtSSU.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Locais de coleta.	20
Tabela 2 – Táxons identificados nesse estudo.....	27
Tabela 3 – Metabólitos secundários produzidos pelas espécies estudadas.....	30

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
2.1	Lecanoraceae.....	14
2.2	<i>Lecanora</i> Ach.....	16
2.3	Parmeliaceae	19
3	MÉTODO.....	20
3.1	Áreas de coletas.....	20
3.2	Coleta e processamento do material liquênico.....	21
3.3	Identificação das espécies de líquens.....	21
3.4	Extração, purificação e sequenciamento de DNA.....	22
3.5	Alinhamento das sequências e análise filogenética.....	23
4	RESULTADOS.....	24
4.1	Biodiversidade e química de <i>Lecanora</i> e <i>Neoprotoparmelia</i>	24
4.2	Filogenia.....	31
4.2.1	<i>Lecanora</i>	31
4.2.2	<i>Neoprotoparmelia</i>	38
5	DISCUSSÃO.....	38
5.1	Diversidade e química de <i>Lecanora</i> e <i>Neoprotoparmelia</i>	38
5.1.1	Filogenia.....	40
5.2	<i>Lecanora</i>	40
5.2.1	Clado Tropica.....	40
5.2.2	Clado Ursolica.....	41
5.2.3	Clado Parahelva	41
5.2.4	Clado Hipotécio.....	42
5.2.5	Clado Vainioi.....	43
5.2.6	Clado Caesiorubella.....	43
5.3	<i>Neoprotoparmelia</i>	44
5.3.1	Clado A	44
5.3.2	Clado B.....	45
5.3.3	Clado C.....	45
6	CONCLUSÕES.....	45
	REFERÊNCIAS.....	47

1 INTRODUÇÃO

Liquenização é o processo de associação simbiótica em que um fungo utiliza compostos produzidos por algas, cianobactérias ou ambos como fonte de carboidratos (WEDIN et al., 2005), estando presente em um quinto de todas as espécies conhecidas no Reino Fungi (LUTZONI et al., 2001). A estrutura resultante dessa associação, o líquen, é tão ecologicamente estável que, quando não liquenizados, os simbiontes diferem na forma de vida e comportamento (NASH, 2008).

Fungos formadores de líquens são encontrados nos dois grupos mais derivados do Reino Fungi, os filos Ascomycota e Basidiomycota (LÜCKING et al., 2016). Sipman e Aptroot (2001) estimaram que havia entre 13.500 a 20.000 espécies de líquens conhecidas mundialmente, sendo que análises biogeográficas indicavam que a maior parte das espécies ainda a serem descobertas estariam nos trópicos e no hemisfério sul. Estudos mais recentes mostram que o número de espécies já descritas é de 19.387, sendo 99% dessas espécies pertencentes ao Filo Ascomycota (LÜCKING et al., 2016).

Ascomycota representa cerca de 75% das espécies de fungos descritas (JAKLITSCH et al., 2016). Isto o torna não só o maior, mas também o mais diverso filo em termos de estilo de vida (WEBSTER; WEBER, 2007), sendo o processo de liquenização presente em 40% das espécies (WEBSTER; WEBER, 2007). Das 13 classes filogeneticamente alocadas em Ascomycota, sete possuem representantes liquenizados, sendo a mais numerosa a Lecanoromycetes com 701 gêneros e 15.131 espécies (LÜCKING et al., 2016). Nesta classe, sempre foram utilizados caracteres morfológicos, anatômicos e químicos para classificar ordens, famílias e gêneros (GUEIDAN et al., 2015). Entretanto com o avanço dos estudos moleculares, constatou-se que os sistemas tradicionais de classificação nem sempre refletiam a história evolutiva dessa classe de fungos, resultando em mudanças na delimitação de ordens e famílias (LUMBSCH et al., 1996, 1995; GUEIDAN et al., 2015; MALÍČEK et al., 2017; PAPONG et al., 2011; SINGH et al., 2015, 2018a, 2018b). Por exemplo, muitas famílias foram segregadas da ordem Lecanorales e elevadas para nível ordinal (GUEIDAN et al., 2015).

Lecanorales representa a maior ordem de fungos liquenizados com 6.231 espécies e 234 gêneros (LÜCKING et al., 2016). Em termos de caracteres morfológicos e ecológicos apresenta uma enorme variação, com o asco lecanoróide com talo apical bem desenvolvido e amiloide de várias formas e representantes ocupando todos os ecossistemas terrestres (JAKLITSCH et al., 2016). Apesar de apresentar menor diversidade nos

trópicos, inclui algumas das maiores famílias de fungos liquenizados, como Cladoniaceae, Ramalinaceae, Parmeliaceae e Lecanoraceae (JAKLITSCH et al., 2016), as duas últimas sendo amplamente estudadas ultimamente, o que tem refletido drasticamente em suas classificações (DIVAKAR et al., 2017; KRAICHAK et al., 2017; LUMBSCH et al., 1996, 1995; MALÍČEK et al., 2017; PAPONG et al., 2011; SINGH et al., 2015, 2018a, 2018b; SINGH; SINGH, 2017).

Lecanoraceae abriga, atualmente, 25 gêneros, dentre eles, *Lecanora* Ach. Considerado um gênero ultra diverso, com 550 espécies, abriga espécies de talo crostoso, ascosporos incolores e não septados, ascos contendo oito esporos, algas verdes como fotobiontes e margem do tipo lecanorina (LÜCKING et al., 2016). *Lecanora* tem sido alvo de muitos estudos ao redor do mundo por se tratar de um grupo com caracteres morfológicos e anatômicos altamente variáveis, química complexa e com dados filogenéticos indicando uma alta polifilia (ARUP; GRUBE 1998, 2000; GRUBE et al., 2004; LUMBSCH; ELIX, 2004; ZHAO et al., 2016).

Em *Lecanora*, classificada na família Lecanoraceae, além dos caracteres citados, são observados outros critérios taxonômicos, como a presença e tamanho dos cristais no epimênio e seus pigmentos, além da presença e tamanho dos cristais no anfitécio (LUMBSCH; ELIX, 2004; RYAN et al. 2004).

Os metabólitos secundários encontrados no gênero são altamente variáveis e podem ou não auxiliar na separação de espécies, (LUMBSCH, 1998). Especificamente, a presença, ausência ou quantidade do ácido atranorino e ácido úsnico é visto como um critério interessante na separação de espécies tropicais e não tropicais (PAPONG et al., 2012). Outro critério observado na separação de indivíduos de *Lecanora* é a pigmentação do hipotécio (LUMBSCH et al., 1996).

Existem vários trabalhos sobre *Lecanora* na América do Sul (GUDERLEY, 1999; GUDERLEY et al., 2000; DE LA ROSA et al., 2010), além de tratamentos monográficos mais amplos que mencionam coleções do Brasil (LUMBSCH et al., 1995, 1996, 1997). No entanto, nenhum trabalho específico sobre o gênero foi realizado no país, com exceção de um primeiro inventário de líquens do Nordeste brasileiro, por Cáceres (2007), e que incluiu espécies de *Lecanora*, porém com identificações baseadas apenas na morfologia e testes histoquímicos.

Neoprotoparmelia Garima Singh, Lumbsch & I. Schmitt, gênero pertencente à família Parmeliaceae, foi recentemente estabelecido por Singh et al. (2018b) para abrigar as espécies de fungos liquenizados tropicais e subtropicais que eram descritos nos gêneros

Protoparmelia ou *Maronina*. Com isso, novas combinações e descrição de novas espécies foram realizadas com base na morfologia, em sequências de DNA e nos metabólitos secundários, incluindo material proveniente do Nordeste brasileiro (SINGH et al., 2018b).

Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo analisar as relações filogenéticas dos espécimes de *Lecanora* e *Neoprotoparmelia* coletados no Brasil, assim como, descrever as novas espécies, combinando dados químicos, morfológicos e moleculares. Para isso, foram levantadas as seguintes hipóteses:

H1 Há uma diversidade de espécies brasileiras ainda a serem descobertas para ambos os gêneros;

H2 A identificação feita apenas pela observação de caracteres morfológicos é insuficiente para a separação de espécies de *Lecanora*, especialmente entre *L. helva* Stizenb., *L. achroa* Nyl. e *L. leprosa* Fée, e de *Neoprotoparmelia*.

H3 A identificação de metabólitos secundários é um critério taxonômico eficaz para separação dentro de *Lecanora*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Lecanoraceae Körb

Lecanoraceae é considerada a quinta maior família de fungos liquenizados. Os seus representantes apresentam talos crostosos a umbilicados, com algas verdes do tipo clorococóide como fotobionte; ascoma na forma de apotécio com a margem lecanorina ou lecidina; hamatécio formado por paráfises moderadamente ramificadas e ascos semifissitunicados, amiloides, cilíndricos ou clavados; ascos contendo de 8 a 32 ascosporos, geralmente não-septados, elipsoides, subglobosos ou baciliformes, hialinos e não amiloides; reprodução assexuada com produção de conídios não septados, baciliformes a filiformes e hialinos, em conidiomas do tipo picnídio (JAKLITSCH et al., 2016). Em relação aos metabólitos secundários, são formados antraquinonas, xantonas cloradas, depsidas, despídonas, dibenzofuranos, lichexantonas e terpenóides. São líquens considerados cosmopolitas, e encontrados em cascas de árvore, rochas e solo (JAKLITSCH et al., 2016).

A família foi descrita por Körber em 1855. Na ocasião, continha 108 espécies e 21 gêneros: *Acarospora* A. Massal. (4 espécies), *Amphiloma* Körb. (7 spp.), *Aspicilia* A. Massal. (13 spp.), *Calloposma* De Not. (10 spp.), *Candelaria* A. Massal. (2 spp.), *Gyalecta* Ach. (5 spp.), *Haematomma* A. Massal. (3 spp.), *Harpidium* Körb. (1 espécie), *Icmadophila* Trevis. (1 espécie), *Lecanora* Ach. (15 spp.), *Lecania* A. Massal. (1 espécie), *Massalongia* Körb. (1 espécie), *Ochrolechia* A. Massal. (2 spp.), *Pannaria* Delise ex Bory (7 spp.), *Placodium* Hill (10 spp.), *Pleopsidium* Körb. (1 espécie), *Phialopsis* Körb. (1 espécie), *Psoroma* Ach. (5 spp.), *Rinodina* (Ach.) Gray (11 spp.), *Urceolaria* Ach. (1 espécie), *Zeora* Fr. (7 spp.). Ainda neste trabalho, Lecanoraceae era subdividida em quatro subfamílias: Lecanorinae, Pannarinae, Placodinae e Urceolarinae (Körber, 1855). Na classificação de Zahlbruckner (1907) para Lecanoraceae, é apresentada uma chave de identificação para nove gêneros: *Calenia* Müll. Arg., *Candelariella* Müll. Arg., *Haematomma*, *Harpidium*, *Icmadophila*, *Lecanora*, *Lecania*, *Myxodictyon* A. Massal., *Ochrolechia*, *Placolecania* (J. Steiner) Zahlbr., *Phlyctella* Kremp., *Phlyctidia* Müll. Arg., *Phlyctis* (Wallr.) Flot. Dentre os gêneros citados nas duas classificações, apenas *Lecanora* permanece atualmente na família e cinco espécies de *Zeora* foram transferidas para *Lecanora*: *Z. orosthea* (*L. orosthea*), *Z. sordida* (*L. rupicola* var. *rupicola*), *Z. sulphurea* (*L. sulphurea*), e *Z. cenisia* (*L. cenisia*).

Nas circunscrições de Lumbsch e Huhndorf (2007, 2010), Lücking et al. (2016) e Wijayawardene et al. (2018), apesar de ainda estarem ocorrendo mudanças, observa-se que 19 gêneros permaneceram estáveis dentro da família: *Bryonora* Poelt, *Bryodina* Hafellner, *Cladidium* Hafellner, *Claurouxia* D. Hawksw., *Clauzadeana* Cl. Roux, *Edrudia* W.P. Jordan, *Japewiella* Printzen, *Lecanora*, *Protoparmeliopsis* M. Choisy, *Lecidella* Körb., *Miriquidica* Hertel & Rambold, *Myrionora* R.C. Harris, *Psorinia* Gotth. Schneid., *Punctonora* Aptroot, *Pyrrhospora* Körb., *Rhizoplaca* Zopf, *Sagema* Poelt & Grube, *Traponora* Aptroot, *Tylothallia* P. James & R. Kilius. As mudanças mais significativas entre as classificações analisadas ocorreram de Lumbsch e Huhndorf (2010) para Lücking et al. (2016), com a retirada de oito gêneros (*Arctopeltis* Poelt, *Calvitimela* Hafellner, *Diomedella* Hertel, *Maronina* Hafellner & R. W. Rogers, *Pycnora* Hafellner, *Ramalinora* Lumbsch, Rambold & Elix, *Ramboldia* Kantvilas & Elix, *Sipmaniella* Kalb) e a adição de quatro novos (*Ameliella* Fryday & Coppins, *Myriolecis* Clements, *Palicella* Rodr.Flakus & Printzen e *Sedelnikovaea* S.Y.Kondr., M.H.Jeong & Hur).

Na classificação de Lücking et al. (2016), Lecanoraceae aparece com 791 espécies, distribuídas em 25 gêneros: *Ameliella* (2 spp.), *Bryodina* (2 spp.), *Bryonora* (11 spp.), *Cladidium* (2 spp.), *Claurouxia*. (01 espécie), *Clauzadeana* (01 espécie), *Edrudia* (1 espécie), *Huea* C.W. Dodge & G.E.Baker (20 spp.), *Japewiella* Printzen (6 spp.), *Lecanora* (550 spp.), *Lecidella* Kröb. (80 spp.), *Miriquidica* Hertel & Rambold (25 spp.), *Myriolecis* Clements (syn.: *Arctopeltis* Poelt) (31 spp.), *Myrionora* (2 spp.), *Palicella* Rodr.Flakus & Printzen (3 spp.), *Protoparmeliopsis* Choisy (20 spp.), *Psorinia* Gotth.Schneid. (2 spp.), *Punctonora* Aptroot (01 espécie), *Pyrrhospora* Körb. (01 espécie), *Rhizoplaca* Zopf (11 spp.), *Sagema* Poelt & Grube (01 espécie), *Sedelnikovaea* S.Y.Kondr., M.H.Jeong & Hur (01 espécie), *Traponora* Aptroot (5 spp.), *Tylothallia* P.James & R.Kilius (3 spp.). *Vainionora* Kalb (9 spp.).

Muitos destes gêneros apresentam uma classificação problemática, como é o caso de *Huea*, que pertencia à família Teloschistaceae e, após a revisão de Fryday (2011) foi visto que este é um nome anterior para *Carbonea* e pertence a Lecanoraceae; já *Ameliella*, apesar de descrita e alocada em Lecanoraceae por Fryday e Coppins (2008) por causa do asco lecanorino e por compartilhar semelhanças com os gêneros *Bryonora* e *Miriquidica*, acredita-se que não pertence ao núcleo da família. Por outro lado, alguns gêneros resolveram problemas filogenéticos de grupos que agora formam clados monofiléticos bem suportados e bem caracterizados fenotipicamente nas análises, tais como: 1) *Lecanora dispersa* e *Arctopeltis*, que foram alocados em *Myriolecis*, confirmando um dado

anteriormente encontrado em Arup e Grube (1998) que já apontavam uma relação entre ambos; 2) o grupo *L. muralis* para *Protoparmeliopsis*; 3) *Rhizoplaca* foi incluído para dar suporte a três táxons placodióides, anteriormente classificados em *Lecanora* (*L. novomexicana*, *L. opiniconensis*, *L. phaedrophthalma*) e deixou de abrigar as duas espécies *R. aspidophora* e *R. peltata* (incluídas em *Protoparmeliopsis*) (ZHAO et al., 2016). Flakus e Printzen (2014) propuseram o gênero *Palicella* para acomodar *Lecidea glaucopa*. Foram propostas então três novas combinações: *Palicella filamentosa* (Stirt.) Rodr. Flakus & Printzen, *P. glaucopa* (Hook. f. e Taylor) Rodr. Flakus & Printzen e *P. schizochromatica* (Pérez-Ortega, T. Sprib. & Printzen) Rodr. Flakus e Printzen. A análise filogenética molecular confirma que *Lecidea hercynica* Hauck & Schmull é sinônimo de *Palicella filamentosa* (FLAKUS; PRINTZEN, 2014). Em estudo sobre a filogenia de fungos liquenizados placodióides, Kondratyuk et al., (2015), analisaram anatomicamente *Protoparmeliopsis baicalensis* (Zahlbr.) S.Y. Kondr., verificando que este táxon é caracterizado por um tipo de asco único que o coloca fora do gênero e muito distante de *Protoparmeliopsis*; consequentemente, foi proposto um novo gênero *Sedelnikovaea*, para essa espécie, *S. baicalensis*.

2.2 *Lecanora* Ach

Dentre todos já citados, *Lecanora* é um dos gêneros mais diversos, controversos e amplamente estudados da família. Zhao et al., (2016) ressaltam que, contrariamente à atual classificação de Lecanoraceae, resultado do posicionamento filogenético e circunscrição da família, a atual circunscrição do gênero não reflete o conhecimento sobre a filogenia deste grupo, com os estudos indicando que trata-se de um grupo altamente polifilético.

A grande heterogeneidade do grupo vem sendo observada desde trabalhos como o de Motyka (1996) que, ao analisar 248 espécies por meio de caracteres morfológicos, subdividiu o gênero em 14 seções, ou em trabalhos ainda mais antigos, como um estudo baseado nas características microscópicas dos ascomas (EIGLER, 1969), assim como em Hafellner (1984) que, após realizar um estudo com base nos tipos de ascos, verificou a grande heterogeneidade presente e excluiu muitas espécies.

A análise combinada dos metabólitos secundários e caracteres morfológicos sempre foi utilizada para separação dentro do gênero (PÉREZ-ORTEGA et al., 2010). Mesmo tendo uma química altamente variável, em alguns casos, esta é utilizada na separação de espécies que possuem poucas diferenças anatômicas, como em *L. campestris* (LUMBSCH, 1998). Já em outros casos, como em *L. caesiorubella*, é um critério difícil de ser aplicado,

pois essa espécie possui uma enorme variedade química (LUMBSCH, 1998). Papong et al., (2012) acreditam que há uma diferença substancial entre as espécies tropicais de *Lecanora* e extratropicais, sendo que alguns caracteres observados em espécies tropicais são raros ou ausentes nas extratropicais, como é o caso das espécies que contêm ácido úsnico em adição ou substituição a atranorina em *Lecanora sensu stricto*. Porém, os autores consideram que a presença do ácido úsnico em *Lecanora sensu stricto* não é suficiente para sustentar a monofilia do grupo, pois este metabólico evoluiu várias vezes dentro do grupo, indicando que há valor adaptativo deste pigmento em habitats tropicais e subtropicais (PAPONG et al., 2013). Este pigmento protege contra os raios ultravioletas (CULBERSON et al., 1993; BJERKE et al., 2005; MCEVOY et al., 2006), podendo ser esse o principal papel em espécies de *Lecanora* (PAPONG et al., 2012).

Em *Lecanora*, a pigmentação do hipotécio também é um caractere relevante na ecologia deste grupo (LUMBSCH et al., 1996). Estes autores verificaram que, em amostras tropicais deste gênero, assim como a presença do ácido úsnico, a pigmentação do hipotécio pode apresentar algum valor adaptativo nessas regiões e estar relacionada à ecologia da espécie. Apesar de se observar uma variação na coloração, as espécies com hipotécio escuro podem ser alocadas em *Lecanora sensu stricto*. Este dado foi posteriormente corroborado por Papong et al., (2012).

Por ser um gênero altamente polifilético e diverso, *Lecanora* geralmente é separado e estudado em grupos como, por exemplo, os representados pelas seguintes espécies: grupo *Lecanora dispersa*, grupo *L. polytropia*, grupo *L. rupicola*, grupo *L. subfusca*, grupo *L. varia*, entre outros (ŚLIWA et al., 2012). Estudos focados na filogenia do grupo tiveram início com Arup e Grube (1998), utilizando a região ITS como marcador. Neste caso, foi verificado que os grupos de espécies lobadas, *L. dispersa* e *L. polytropia* estavam intimamente relacionadas com o gênero *Arctopeltis* Poelt. Os autores já indicavam que muitas mudanças ocorreriam em Lecanoraceae com a integração de dados moleculares nos estudos. Posteriormente, Arup e Grube (1999), apoiados em dados químicos, morfológicos e moleculares concluíram que *L. demissa* era na verdade pertencente ao gênero *Caloplaca*, pois apresentou uma estreita relação com *C. variabilis*.

No ano subsequente, Arup e Grube (2000), em um estudo sobre o gênero *Rhizoplaca*, encontraram uma estreita relação com espécies do gênero *Lecanora*. Em mais um trabalho realizado por Grube et al. (2004), foi estudada a filogenia do grupo de espécies de *L. rupicola*, caracterizados por apresentar discos cobertos por pruína branco-amarelada. Os resultados sugeriram uma monofilia entre as espécies de *Lecanora* que

apresentam cromonas. Nesse trabalho também foi proposto uma nova combinação para *Lepraria flavescens*, *Lecanora rouxii*, devido à sua estreita relação com o subgrupo *Lecanora swartzii*.

Atualmente, com base em novos estudos moleculares, com os mesmos espécimes, tem sido confirmadas muitas das combinações sugeridas há quase 20 anos para espécies de *Lecanora*. Com base em caracteres fenotípicos e moleculares, Zao *et al.* (2016) propuseram novas combinações em *Lecanora* para *Rhizoplaca*, que passou a incluir espécies de três táxons placodióides previamente classificados em *Lecanora* (*L. novomexicana*, *L. opiniconensis*, *L. phaedrophthalma*). Neste mesmo trabalho foram sugeridas 30 novas combinações para *Myriolecis*, que passou a abrigar espécies de *Arctopeltis* e do grupo *Lecanora dispersa*. Śliwa *et al.* (2012) já consideravam que apenas caracteres morfológicos, anatômicos e químicos não eram consistentes na predição de limites de espécies dentro do grupo, pois espécies que eram fenotipicamente relacionadas, em seu estudo foram distribuídas em vários grupos. Ainda nesse contexto, Papong *et al.* (2012) em estudo sobre a filogenia do gênero, também verificaram que as *L. achroa*, *L. helva* e *L. leprosa*, conhecidas por terem uma morfologia muito parecida e sua distinção ser feita principalmente por meio da química, não estão intimamente relacionadas, mais uma vez evidenciando a importância da combinação de vários critérios na separação de espécies.

Muitos estudos filogenéticos têm sido realizados, e contribuído para a resolução de problemas na classificação de *Lecanora*, que é formado por vários clados distintos. Em suas análises, Papong *et al.* (2012) estabeleceram um grupo monofilético para *Lecanora sensu stricto*, formado por clados com um alto valor de suporte: 1) clado *L. argentata*, incluindo *L. argentata*, *L. austrotropica*, *L. leproplaca*, *L. submergentes*, e *L. tropica*; 2) clado *L. wilsonii* com *L. ulrikii* e *L. wilsonii*; 3) clado *L. plumosa* incluindo *L. helva*, *L. plumosa* e *L. subimmersa*; 4) clado *L. gangaleoides* incluindo *L. californica*, *L. gangaleoides*, *L. hybocarpa*, *L. pacifica* e *L. paramerae*; 5) clado *L. queenslandica* constituído por *L. achroa*, *L. pseudogangaleoides ssp. verdonii* e *L. queenslandica*; 6) clado *L. vainioi* com *L. vainioi* e *Lecanora* sp. C; 7) clado *L. allophana* incluindo *L. allophana*, *L. campestris* e *L. toroyensis*; e 8) clado *L. caesiorubella* com amostras de *L. caesiorubella* e *L. farinacea*. Outro dado interessante nesse trabalho foi que, quando mais de uma amostra por espécie era adicionada, estas amostras formavam grupos monofiléticos, porém isso não ocorreu em *L. achroa*, *L. caesiorubella* e *L. helva*, indicando incerteza sobre a circunscrição destes táxons.

As descrições mais recentes de espécies estão sendo confirmadas por meio da filogenia. Recentemente, Malíček et al. (2017) descreveram *Lecanora substerilis* e verificaram que pertence ao grupo *L. subfusca* em seu sentido estrito, pois esta espécie é caracterizada por apresentar talo geralmente verrucoso, com margem do apotécio sorediada, epimênio com grânulos grossos nas pontas das paráfises, anfitécio com grandes cristais e presença de atranorina e ácidos graxos. Além disso, a avaliação do material tipo e dos dados moleculares indicaram que *L. caesiosora*, predominantemente saxícola, é uma forma com sorédios de *L. cenisia*. Dados moleculares confirmaram as identidades das formas sorediadas de *L. albella* e *L. allophana* que são coespecíficas com suas contrapartes férteis.

2.3 Parmeliaceae

Parmeliaceae é a maior família de fungos liquenizados, com aproximadamente 2.500–3.000 espécies (LUKING et al, 2016). Recentemente, foi subdividida em duas subfamílias: Parmelioideae, que reúne quase todos os gêneros e espécies, e Protoparmelioideae que aloca *Protoparmelia* e *Maronina*, ambos gêneros de líquens crostosos com cerca de 25 – 30 espécies (SINGH et al., 2015; DIVAKAR et al., 2017).

Após um estudo baseado em caracteres fenotípicos, como cor e anatomia do talo, metabólitos secundários, anatomia do excípulo e do tipo de asco, além das sequências de DNA dos locos ribossômicos mitocondriais e nucleares de algumas espécies, Papong et al. (2011) indicaram que *Maronina* deveria ser incluído em *Protoparmelia* e assim todas as espécies passaram a ser novas combinações para o gênero.

A nova classificação em Parmeliaceae foi resultado de um trabalho utilizando uma abordagem temporal baseada na calibração de cronogramas. Esse método identificou bandas temporais para posições específicas, e com os resultados foi proposta uma revisão para a família que incluiu todos os clados que compartilham um ancestral comum, 102,13–112,88 milhões de anos para famílias e uma janela de tempo de 29.45 a 32.55 milhões de anos para gêneros (DIVAKAR et al., 2017; KRAICHAK et al., 2017). Nesta nova classificação, *Maronina* agrega líquens tropicais e subtropicais, enquanto *Protoparmelia* s. str. abriga as espécies árticas, boreais, temperadas e mediterrâneas (SINGH et al., 2015, 2018c)

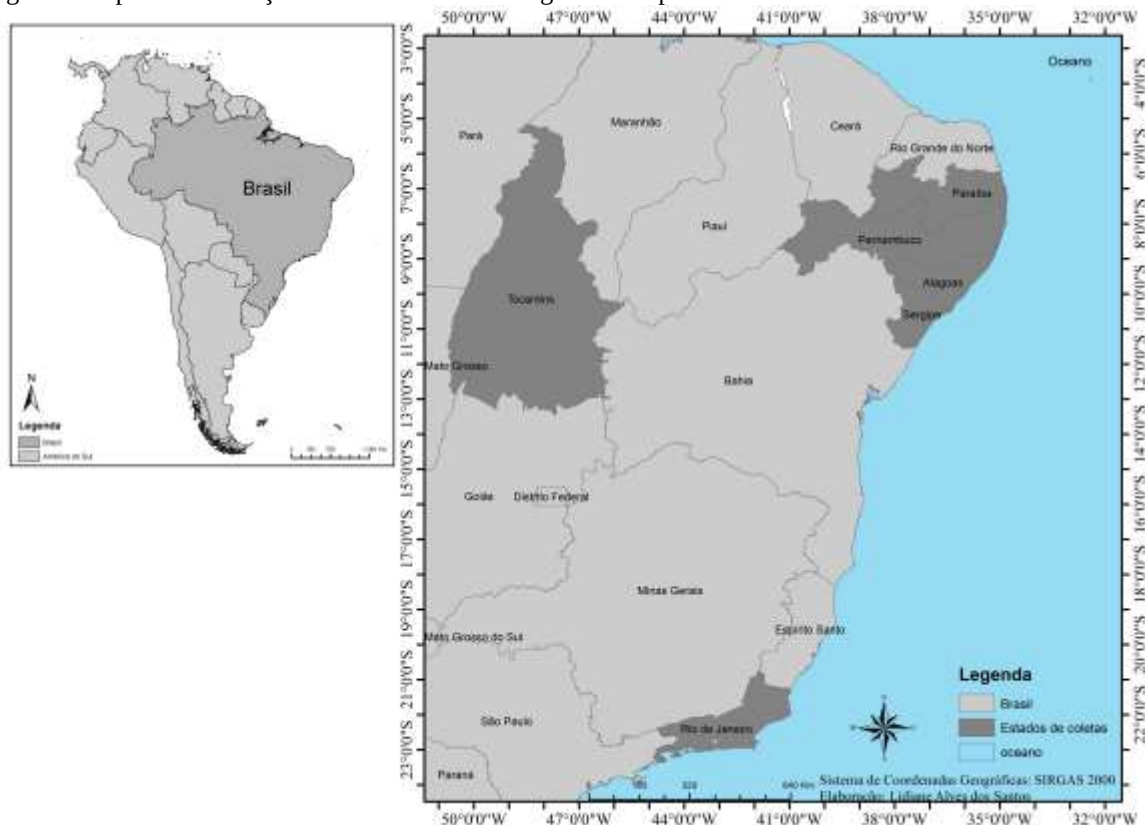
No estudo realizado por Singh et al. (2018b), foi sequenciado o espécime tipo do gênero *Maronina* (*M. australiensis*), e as análises mostraram que não há uma relação

filogeneticamente estreita entre o tipo e as espécies atualmente descritas em *Protoparmelia* e *Maronina*.. Neste caso, os autores então sugeriram o novo gênero *Neoprotoparmelia* para acomodar as espécies.

3 MÉTODO

3.1 Áreas de coleta

Figura 1 Mapa de localização com os Estados de origem dos espécimes estudados em cor escura.



Fonte: A autora.

Parte do material estudado já havia sido coletado nos estados do Rio de Janeiro, Tocantins e Pernambuco, e novas coletas foram realizadas em Sergipe, Pernambuco e Paraíba. Os espécimes estudados foram provenientes das seguintes áreas:

Tabela 1. Locais de coleta.

(Continua)		
Bioma	Área	Estado
Caatinga	Monumento Natural Grota do Angico, Poço Redondo (9°39'43" S, 37°40'18" O)	Sergipe
Caatinga	Povoado Niterói, Porto da Folha (9° 46' 00" S, 37° 25' 59" O)	Sergipe
Caatinga	Parque Nacional Vale do Catimbau, Buíque (8° 30' 57" S, 37° 20' 59" O)	Pernambuco
Caatinga	Reserva Particular do Patrimônio Natural Fazenda das Almas, São José dos Cordeiros (7°28'15"S, 36°53'51"O)	Paraíba
Cerrado	Município de Itaguatins, (5°44'58"S, 47°32'24"O)	Tocantins

Tabela 1. Locais de coleta.

		(Conclusão)
Mata Atlântica - Mangue	Área de Preservação Ambiental Sirinhaém, Sirinhaém	Pernambuco
Mata Atlântica	Reserva Biológica de Pedra Talhada, Quebrangulo (9° 15' S 36° 25' 35" O)	Alagoas
Mata Atlântica	Parque Nacional de Itatiaia, Itatiaia, Est. Agulhas Negras (22° 22' 31" S, 44° 39' 44" O)	Rio de Janeiro

Fonte: A autora

3.2 Coleta e processamento do material liquênico

Em cada área foram realizadas coletas durante quatro dias. Foi utilizada a técnica de coleta oportunista (CÁCERES et al., 2008; SIPMAN et al., 1996). Este método consiste na coleta em árvores selecionadas ao longo das principais trilhas dentro dos fragmentos da floresta, bem como penetrar na vegetação, quando possível, com base na análise e visualização dos talos liquênicos, (CÁCERES et al., 2008). Os talos liquênicos foram coletados com auxílio faca e martelo para remoção do líquen e parte do substrato, por serem liquens crostosos, depositando cada amostra em sacos de papel com a identificação de local e data de coleta.

As amostras foram levadas ao Laboratório de Liquenologia da Universidade Federal de Sergipe, prensadas e secas em temperatura de 27° C por uma semana, em prensa botânica. Em casos de expedições de coleta a regiões mais distantes, a secagem e prensagem das amostras foram feitas em campo. Após secagem, cada amostra foi colada em papel cartão de 15×9 cm para confecção da exsicata, registrando-se local e data de coleta no canto inferior direito, assim como o número do coletor no canto inferior esquerdo.

3.3 Identificação das espécies de liquens

Para a análise macroscópica, foram observadas: forma de crescimento do líquen, cor, forma e superfície do talo, presença, tipo e forma de estruturas reprodutivas sexuadas (ascomas) e assexuadas (sorédios e isídios).

Para a observação microscópica do material coletado foram feitos, com o auxílio de estereomicroscópio, cortes à mão livre com lâminas de aço dos apotécios e, quando necessário, de estruturas como sorédios e isídios, e do talo liquênico. Os cortes foram postos entre lâmina e lamínula em água destilada e observados no microscópio óptico o tipo de ascosporos (cor, tamanho, septação), metabólitos secundários, entre outros caracteres. Para a observação de reações químicas com determinados compostos secundários do fungo liquenizado aplicou-se uma ou duas gotas de solução aquosa de

hidróxido de potássio (KOH) a 10% à preparação. A solução de Lugol a 2% foi utilizada para verificar a reação amilóide (acinzentada, azulada ou violácea) ou dextrinóide (marrom-avermelhada) das paredes dos ascos e ascósporos, das hifas e de outras microestruturas no himênio. Foi aplicada luz ultravioleta, para verificar a presença de substâncias líquênicas que florescem na presença de UV. Os metabólitos secundários foram analisados por meio da técnica de cromatografia em camada delgada (TLC), utilizando o sistema de solvente C (tolueno e ácido acético) seguindo a metodologia exposta em White e James (1985), Orange et al. (2001), Hüneck e Yoshimura (1996).

Para a identificação do material estudado, foram utilizados principalmente os trabalhos de Cáceres (2007) e Lücking (2009). A nomenclatura foi atualizada após consulta às bases de dados *on-line* Index Fungorum (www.indexfungorum.org). Coleções de referência foram depositadas no herbário ISE e URM.

3.4 Extração, purificação e sequenciamento de DNA

Após a coleta dos líquens e processamento das amostras, pequenos fragmentos dos ascomas frescos ou previamente congelados foram retirados com o auxílio de lâmina de aço e pinça previamente limpos com álcool 70%, e recolhidos em microtubos de 1,5 mL e armazenados em freezer (-20 °C) até a extração do DNA.

Foi usado o Kit de extração de DNA Wizard® Genomic DNA Purification Kit, seguindo o protocolo de extração de DNA para tecidos vegetais, com apenas uma alteração no volume da solução de reidratação que foi de 50 µL. Após, foi utilizado um espectrofotômetro para quantificar o DNA, seguindo as especificações do aparelho e, em seguida o DNA foi acondicionado em Freezer a (-20 °C) até seu uso em reações de PCR (*Polymerase Chain Reaction*). O kit utilizado para obter o DNA amplificado foi o REDExtract-N-Amp Plant PCR da marca Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, EUA) seguindo as especificações do fabricante. Foram obtidos amplificados das regiões do Espaçador interno transcrito (ITS) e Pequena Subunidade Mitocondrial (mtSSU), utilizando combinações de primers fúngicos adequados (NELSEN et al., 2012). Para a região ITS foram utilizados os pares de primers ITS1f (GARDES; BRUNS, 1993) e ITS4a (Larena et al., 1999); para mtSSU - mrSSU1(VILGALYS; HESTER, 1990) e MSU7 (ZOLLER et al., 1999).

As condições de ciclagem para as reações de PCR foram as seguintes: mtSSU - desnaturação inicial de 10 min a 95°C, seguido de 34 ciclos de 45s a 95°C, 45s a 50°C, 1min 30s a 72°C, e uma extensão final de 10 min a 72°C; ITS – desnaturação inicial de 5

min a 95°C, seguido de uma fase de 10 ciclos – 30s a 95°C, 30s a 66°C, 1 min30s a 72°C; segunda fase de 34 ciclos - 30s a 95°C, 30s a 56°C, 1 min30s a 72°C.

O resultado da amplificação foi verificado por eletroforese em gel de agarose a 2% e os produtos das amplificações foram purificados com o kit Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up e enviados para sequenciamento no Laboratório de Genética da UFPE (Universidade Federal de Pernambuco). Todos os procedimentos, desde extração até envio das amostras, foram realizados no Laboratório de Genética Molecular e Biotecnologia da Universidade Federal de Sergipe.

3.5 Alinhamento das sequências e análise filogenética

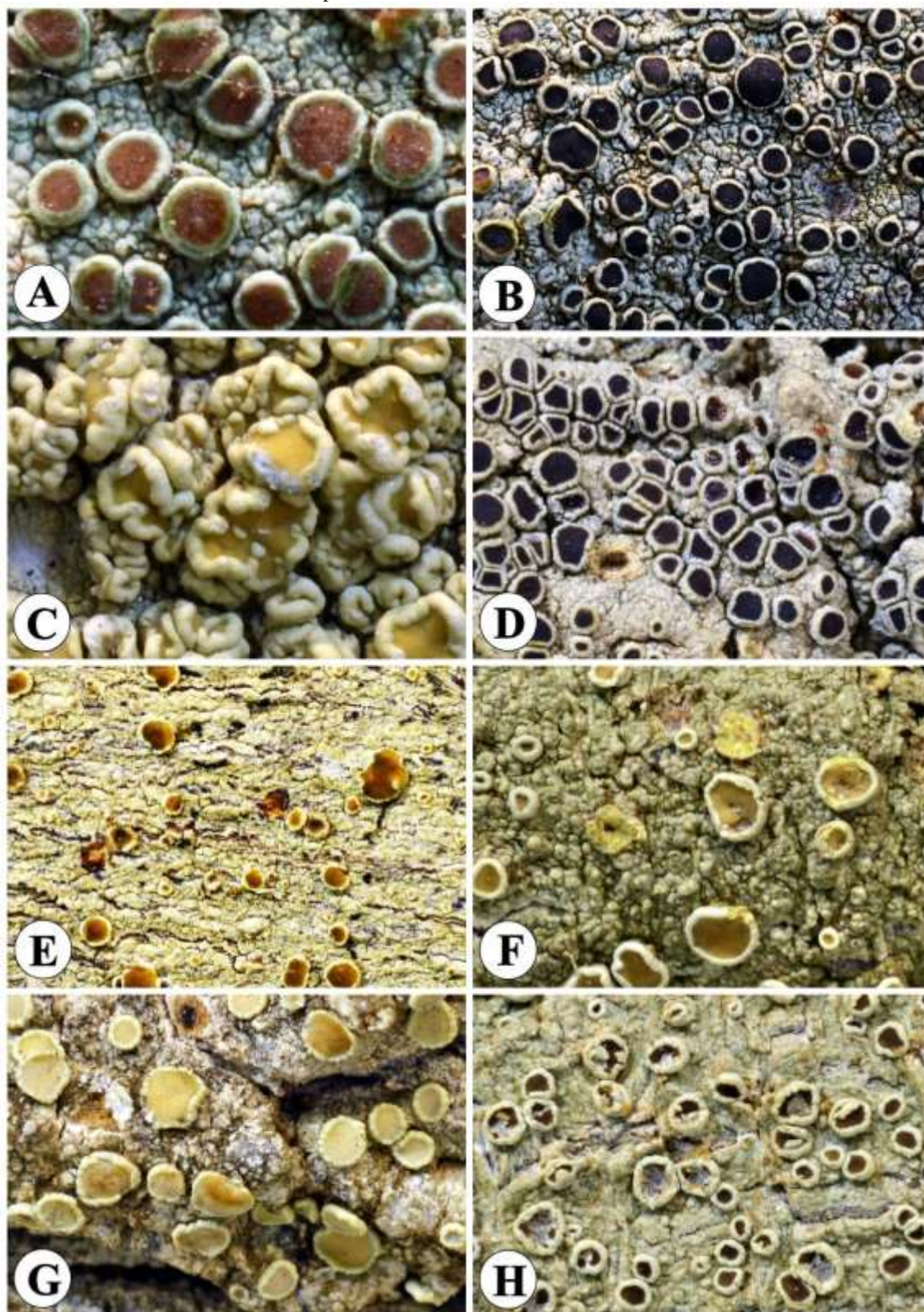
As sequências obtidas foram alinhadas com as sequências recuperadas do *GenBank* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), respectivamente com o auxílio do programa MAFFT 7 (KATO et al., 2009; KATO, 2013) e editadas usando o programa BioEdit 7.2.0 (Hall 1999). A caracterização molecular final foi realizada com a avaliação filogenética e construção de filogramas usando máxima verossimilhança (MV) no RAXML-HPC BlackBox v8.1.11 na plataforma *Cipres Scientific* (MILLER et al., 2010; STAMATAKIS, 2014). A árvore obtida foi visualizada por meio do programa *Figtree*.

4 RESULTADOS

4.1 Biodiversidade e química de *Lecanora* e *Neoprotoparmelia*

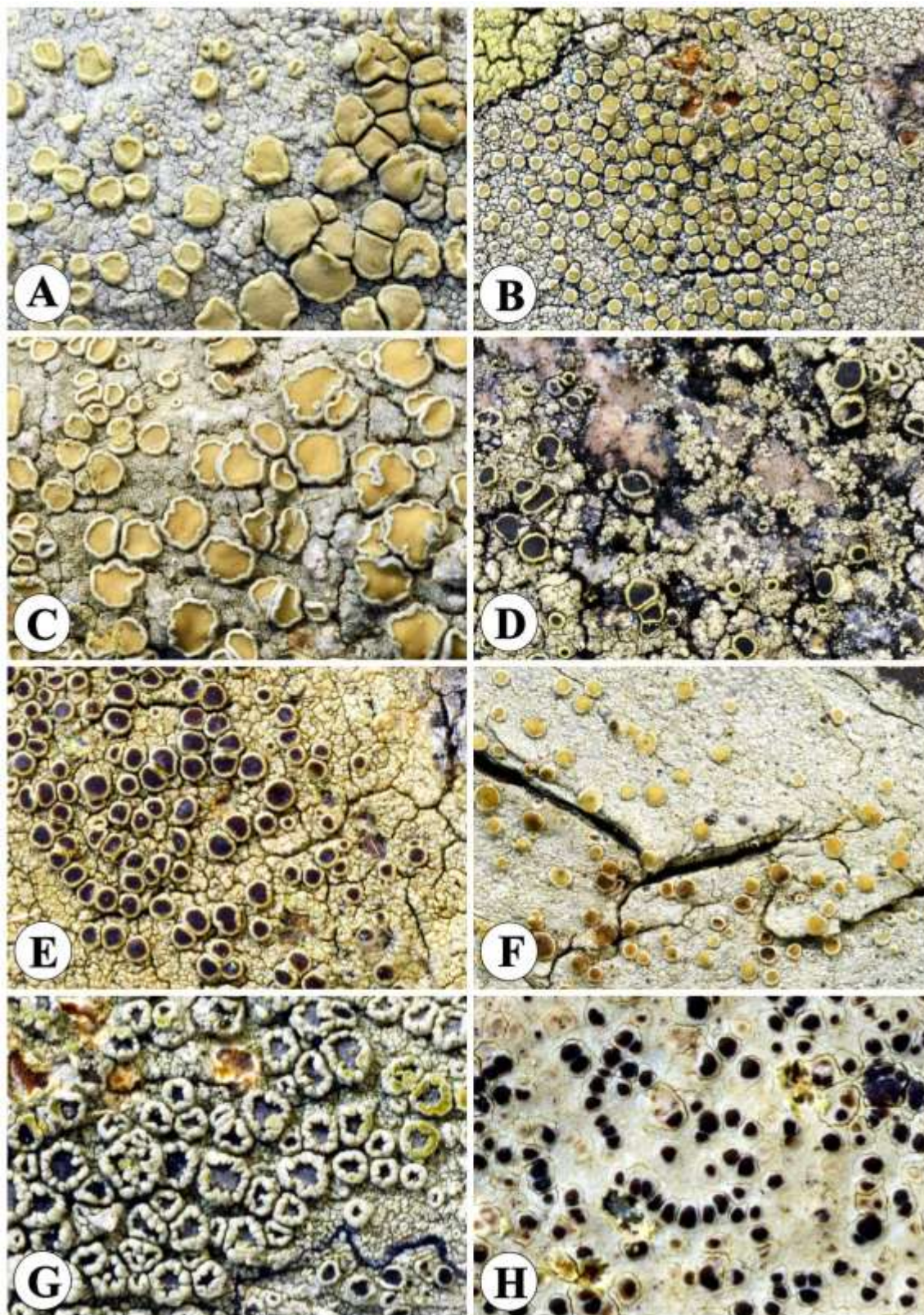
Foram obtidas 300 amostras nas coletas e analisado o material tipo presente nos herbários H e M dos espécimes identificados como *Neoprotoparmelia multifera*. Com isso, 28 espécies foram identificadas (Tabela 2). Destas, seis pertencem ao gênero *Neoprotoparmelia* (SANTOS et al. 2019) e 22 a *Lecanora* (Figura 2 – 4). Para o gênero *Lecanora*, são 10 espécies novas (A – L) (Tabela 2) e nove novos registros, sendo cinco para Alagoas (*L. subimmersa*, *L. vainioi*, *L. kalbiana*, *L. stramineoalbida*); *L. hypocrocea*, é registrada pela primeira vez para Sergipe e Alagoas; *L. praeferenda* para o Nordeste e *L. subalbellina* para o Rio de Janeiro. Com a adição das novas espécies, O número de *Lecanoras* registradas no Brasil passou a ser de 90. Para *Neoprotoparmelia*, são seis novas descrições e três novas combinações, conforme descrito em Santos et al. (2019). A taxonomia dos dois gêneros de certa forma não é fácil, pois os caracteres morfológicos do atual conceito de espécie (apotécio, tipos de esporos, morfologia do talo, etc.) são compartilhados por muitos dos espécimes encontrados, revelando muitas espécies crípticas, as quais são apenas diferenciadas pela química e filogenia.

Figura 2 - A. *Lecanora praefenda* LAS256, B. *L. hypocrocina* LAS199, C. *Lecanora* spec. nova LAS205, D. *L. tropica* s. lat. LAS127, E. *Lecanora* spec. nova LAS128, F. *Lecanora* spec. nov. LAS129. G. *L. subalbellina* LAS130, H. *Lecanora* spec. nov. LAS131.



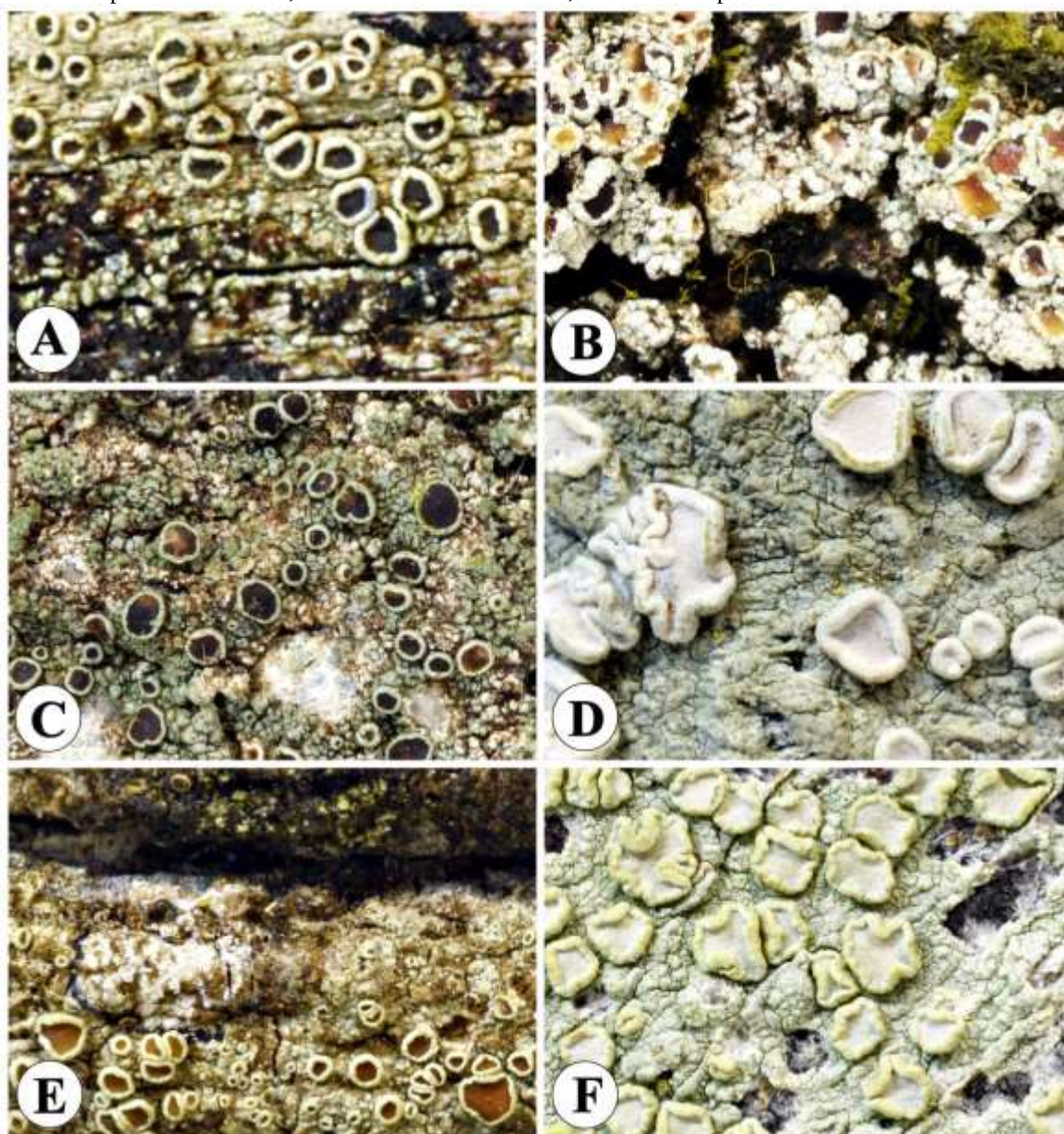
Fonte: A autora.

Figura 3. A. *Lecanora* spec. nov. LAS192, B. *Lecanora* spec. nov. LAS213, C. *L. stramineoalbida* LAS219, D. *L. kalbiana* LAS221. E. *Lecanora* spec. nov. LAS226, F. *Lecanora* spec. nov. LAS266, G. *L. hypocrocea* LAS233, H. *L. subimmersa* LAS269.



Fonte: A autora.

Figura 4. A. *Lecanora* spec. nov. LAS277, B. *Lecanora tropica* s. lat. LAS282, C. *L. vainioi* LAS283, D. *Lecanora* spec. nov. LAS284, E. *Lecanora* indet LAS285, F. *Lecanora* spec. nov. LAS546.



Fonte: A autora.

Tabela 2. Táxons identificados nesse estudo e espécimes estudados.

Espécie	Origem	ITS	mtSSU	Número ISE	Número de identificação das sequências de DNA
<i>Lecanora hypocrocea</i>	MONA Grota do Angico, Poço Redondo SE	S	S	46520	LAS233
<i>L. hypocrocea</i>	REBio de Pedra Talhada, Quebrangulo, AL	S	S	42608	LAS273
<i>L. hypocrocina</i>	Povoado Niterói, Porto da Folha, SE	S	-	46527	LAS199
<i>L. hypocrocina</i>	MONA Grota do Angico, Poço Redondo, SE	S	S	46535	LAS230
<i>L. hypocrocina</i>	MONA Grota do Angico, Poço Redondo, SE	S	-	46537	LAS236

Tabela 2. Táxons identificados nesse estudo e espécimes estudados.

(Continuação)					
<i>L. hypocrocina</i>	MONA Grota do Angico, Poço Redondo, SE	S	S	46542	LAS244
<i>L. hypocrocina</i>	Povoado Niterói, Porto da Folha, SE	S	-	46540	LAS251
<i>L. hypocrocina</i>	Povoado Niterói, Porto da Folha, SE	S	-	46543	LAS252
<i>L. kalbiana</i>	REBio de Pedra Talhada, Quebrangul, AL	S	S	42571	LAS221
<i>L. kalbiana</i>	REBio de Pedra Talhada, Quebrangulo, AL	S	S	42592	LAS268
<i>L. praeferenda</i>	PARNA Catimbau, Buíque, PE	S	-	46545	LAS167
<i>L. praeferenda</i>	PARNA Catimbau, Buíque, PE	S	S	46544	LAS204
<i>L. praeferenda</i>	PARNA Catimbau, Buíque, PE	S	S	46538	LAS256
<i>L. stramineoalbida</i>	REBio de Pedra Talhada, Quebrangulo, AL	S	S	42601	LAS219
<i>L. stramineoalbida</i>	REBio de Pedra Talhada, Quebrangulo, AL	S	S	42603	LAS270
<i>L. stramineoalbida</i>	REBio de Pedra Talhada, Quebrangulo, AL	S	S	42440	LAS281
<i>L. subalbellina</i>	PARNA Itatiaia, Est. Agulhas Negras, Rio de Janeiro, Brasil	S	S	38119b	LAS130
<i>L. subimmersa</i>	REBio de Pedra Talhada, Quebrangulo - AL	-	S	425xx	LAS269
<i>L. tropica</i> s. lat.	Itaguatins, TO	S	S	40533	LAS127
<i>L. tropica</i> s. lat.	REBio de Pedra Talhada, Quebrangulo, AL	S	S	42354	LAS282
<i>L. vainioi</i>	REBio de Pedra Talhada, Quebrangulo, AL	S	S	42425	LAS283
<i>Lecanora</i> indet. (química não realizada)	PARNA Itatiaia, Est. Agulhas Negras, Rio de Janeiro, Brasil	S	S	38119a	LAS285
<i>Lecanora</i> spec. nov.A	PARNA Catimbau, Buíque, PE	S	S	46521a	LAS546
<i>Lecanora</i> spec. nov.B	PARNA Catimbau, Buíque, PE	S	-	46528	LAS192
<i>Lecanora</i> spec. nov.B	MONA Grota do Angico, Poço Redondo, SE	S	-	46533	LAS533
<i>Lecanora</i> spec. nov.B	MONA Grota do Angico, Poço Redondo, SE	S	-	46522	LAS545
<i>Lecanora</i> spec. nov.C	APA do Sirinhaém, Sirinhaém, PE	S	S	46546	LAS266
<i>Lecanora</i> spec. nov.D	PARNA Catimbau, Buíque, PE	S	-	46523	LAS205
<i>Lecanora</i> spec. nov.D	PARNA Catimbau, Buíque, PE	S	S	46530	LAS239
<i>Lecanora</i> spec. nov.D	PARNA Catimbau, Buíque, PE	S	S	46532	LAS240
<i>Lecanora</i> spec. nov.D	PARNA Catimbau, Buíque, PE	S	S	46531	LAS241R
<i>Lecanora</i> spec. nov.E	REBio de Pedra Talhada, Quebrangulo, AL	S	S	42602	LAS277
<i>Lecanora</i> spec. nov.F	RPPN Fazenda Almas, São José dos Cordeiros, PB	S	S	46539	LASI226
<i>Lecanora</i> spec. nov.G	RPPN Fazenda Almas, São José dos Cordeiros, PB	S	-	46550	LAS213
<i>Lecanora</i> spec. nov.G	RPPN Fazenda Almas, São José dos Cordeiros, PB	S	-	46519	LAS224
<i>Lecanora</i> spec. nov.G	PARNA Catimbau, Buíque, PE	S	-	46529	LAS534
<i>Lecanora</i> spec. nov.H	PARNA Itatiaia, Est. Agulhas Negras, Rio de Janeiro, Brasil	S	S	38117	LAS128
<i>Lecanora</i> spec. nov.I	PARNA Itatiaia, Est. Agulhas Negras, RJ	S	S	38118	LAS129
<i>Lecanora</i> spec. nov.I	PARNA Itatiaia, Est. Agulhas Negras, Rio de Janeiro, Brasil	S	S	38121	LAS132

Tabela 2. Táxons identificados nesse estudo e espécimes estudados.

					(Conclusão)
<i>Lecanora</i> spec. nov.J	PARNA Itatiaia, Est. Agulhas Negras, Rio de Janeiro, Brasil	S	S	38120	LAS131
<i>Lecanora</i> spec. nov.L	PARNA Itatiaia, Est. Agulhas Negras, Rio de Janeiro,	S	S	38146	LAS284
<i>Neoprotoparmelia</i> spec. nov. C-2	PARNA Catimbau, Buíque, PE	S	-	46525	LAS216
<i>Neoprotoparmelia</i> spec. nov. C-2	RPPN Fazenda Almas, São José dos Cordeiros, PB	S	-	46524	LAS245
<i>Neoprotoparmelia</i> spec. nov. C-1	PARNA Catimbau, Buíque, PE	S	-	46536	LAS530
<i>Neoprotoparmelia</i> spec. nov. C-1	PARNA Catimbau, Buíque, PE	S	-	43375	LAS201
<i>Neoprotoparmelia</i> spec. nov. C-2	RPPN Fazenda Almas, São José dos Cordeiros, PB	S	-	43264	LAS249
<i>Neoprotoparmelia</i> spec. nov. C-1	PARNA Catimbau, Buíque, PE	S	-	43266	LAS200
<i>Neoprotoparmelia</i> spec. nov. C-2	RPPN Fazenda Almas, São José dos Cordeiros, PB	S	-	43263	LAS198
<i>Neoprotoparmelia camptotheca</i> comb. nov. A	RPPN Fazenda Almas, São José dos Cordeiros, PB	S	-	43620	LAS196
<i>Neoprotoparmelia camptotheca</i> comb. nov. A	PARNA Catimbau, Buíque, PE	S	-	43217	LAS264
<i>Neoprotoparmelia camptotheca</i> comb. nov. A	RPPN Fazenda Almas, São José dos Cordeiros, PB	S	-	46526	LAS246
<i>Neoprotoparmelia camptotheca</i> comb. nov. A	RPPN Fazenda Almas, São José dos Cordeiros, PB	S	-	43436	LAS197
<i>Neoprotoparmelia camptotheca</i> comb. nov. A	PARNA Catimbau, Buíque, PE	S	-	43218	LAS259
<i>Neoprotoparmelia</i> spec. nov. B-1	PARNA Catimbau, Buíque, PE	S	-	43528	LAS202
<i>Neoprotoparmelia</i> spec. nov. B-1	PARNA Catimbau, Buíque, PE	S	-	43526	LAS255
<i>Neoprotoparmelia</i> spec. nov. B-2	PARNA Catimbau, Buíque, PE	S	-	43527	LAS263
<i>Neoprotoparmelia</i> spec. nov. B-2	PARNA Catimbau, Buíque, PE	S	-	43529	LAS203

* S = Sequência obtida.

Fonte: Dados da pesquisa.

No que diz respeito aos metabólitos secundários (tabela 3), foi possível identificar 18 metabólitos (atranorina, ácido alectorônico, ácido girofórico, ácidos graxos, ácido norstístico, ácido ursólico, ácido úsnico, ácido protocetrário, boriquinona, codatina, cloratranorina, dimetilcodatina, liquexantona, terpenóides, zeorina, '2-O-metilestenospórico, '2-O-metilperlatólico, α -colatólico).

O composto atranorina foi detectado em todas as amostras de *Lecanora*, com exceção de uma, que apresentou uma química incomum, com a presença de zeorina e

liquescentona. Em espécimes de *Neoprotoparmelia* foram detectados os ácidos alectorônico, atranorina, protocetrário, norstístico e graxos.

Tabela 3. Metabólitos secundários produzidos pelos espécimes estudadas.

Espécies	Metabólitos secundários	Número ISE	Molecular
<i>Lecanora hypocrocea</i>	Atranorina, terpenoides	46520	LAS233
<i>L. hypocrocea</i>	*	42608	LAS273
<i>L. hypocrocina</i>	*	46542	LAS244
<i>L. hypocrocina</i>	Atranorina, ácido girofórico	46527	LAS199
<i>L. hypocrocina</i>	Atranorina, ácidos graxos, boriquinona	46535	LAS230
<i>L. hypocrocina</i>	Atranorina, ácidos graxos, boriquinona	46537	LAS236
<i>L. hypocrocina</i>	Atranorina, ácidos graxos, boriquinona	46541	LAS250
<i>L. hypocrocina</i>	Atranorina, cloratanorina boriquinona	46540	LAS251
<i>L. kalbiana</i>	Zeorina, atranorina, terpenóides	42571	LAS221
<i>L. kalbiana</i>	Zeorina, atranorina, terpenóides	42592	LAS268
<i>L. praeferenda</i>	Atranorina	46545	LAS167
<i>L. praeferenda</i>	Atranorina, ácidos graxos	46544	LAS204
<i>L. praeferenda</i>	*	46538	LAS256
<i>L. stramineoalbida</i>	Protocetrário, atranorina	42601	LAS219
<i>L. stramineoalbida</i>	Codatina, atranorina	42603	LAS270
<i>L. stramineoalbida</i>	*	42440	LAS281
<i>L. subalbellina</i>	Zeorina, atranorina	38119b	LAS130
<i>L. subimmersa</i>	*	425xx	LAS269
<i>L. tropica</i> s. lat.	Zeorina, atranorina	40533	LAS127
<i>L. tropica</i> s. lat.	*	42354	LAS282
<i>L. Vainioi</i>	Zeorina, atranorina, terpenóides	42425	LAS283
<i>Lecanora</i> indet.	*	38119a	LAS285
<i>Lecanora</i> spec. nov.A	Protocetrário, atranorina	46521a	LAS546
<i>Lecanora</i> spec. nov.B	Protocetrário, atranorina	46528	LAS192
<i>Lecanora</i> spec. nov.B	Protocetrário, atranorina	46533	LAS533
<i>Lecanora</i> spec. nov.B	Protocetrário, atranorina	46522	LAS545
<i>Lecanora</i> spec. nov.C	Atranorina, ácidos graxos	46546	LAS266
<i>Lecanora</i> spec. nov.D	α -colatólico, alectorônico	46523	LAS205
<i>Lecanora</i> spec. nov.D	Atranorina, '2-O-metilestenospórico	46530	LAS239
<i>Lecanora</i> spec. nov.D	atranorina, '2-O-metilperlatólico, '2-O-metilestenospórico	46532	LAS240
<i>Lecanora</i> spec. nov.D	Atranorina, '2-O-metilestenospórico	46531	LAS241R
<i>Lecanora</i> spec. nov.E	Atranorina, '2-O-metilperlatólico	42602	LAS277
<i>Lecanora</i> spec. nov.F	Atranorina	46539	LAS1226
<i>Lecanora</i> spec. nov.G	Atranorina, ursólico, codatina	46550	LAS213
<i>Lecanora</i> spec. nov.G	Atranorina, ursólico, codatina, úsnico	46519	LAS224
<i>Lecanora</i> spec. nov.G	Atranorina, ácidos graxos	46529	LAS534

Tabela 3. Metabólitos secundários produzidos pelos espécimes estudadas.

			(Conclusão).
<i>Lecanora</i> spec. nov.H	Atranorina	38117	LAS128
<i>Lecanora</i> spec. nov.I	Atranorina, graxos, boriquinona	38118	LAS129
<i>Lecanora</i> spec. nov.I	Atranorina, dimetilcodatina	38121	LAS132
<i>Lecanora</i> spec. nov.J	Zeorina, liquexantona	38120	LAS131
<i>Lecanora</i> spec. nov.L	Atranorina, protocetrário, úsnico, cloratanorina	38146	LAS284
<i>Neoprotoparmelia</i> spec. nov. C-2	Terpenóides, alectorônico	46525	LAS216
<i>Neoprotoparmelia</i> spec. nov. C-2	Terpenóides, alectorônico	46524	LAS245
<i>Neoprotoparmelia</i> spec. nov. C-1	Alectorônico	46536	LAS530
<i>Neoprotoparmelia</i> spec. nov. C-1	Terpenóides, alectorônico	43266	LAS200
<i>Neoprotoparmelia</i> spec. nov. C-2	Atranorina, ácidos graxos, alectorônico	43263	LAS198
<i>Neoprotoparmelia</i> spec. nov. C-1	Alectorônico	43375	LAS201
<i>Neoprotoparmelia</i> spec. nov. C-2	Alectorônico	43264	LAS249
<i>Neoprotoparmelia</i> spec. nov. B-1	Ácidos graxos, alectorônico	43528	LAS202
<i>Neoprotoparmelia</i> spec. nov. B-1	Protocetrário, atranorina	43526	LAS255
<i>Neoprotoparmelia</i> spec. nov. B-2	protocetrário, norstístico, ácidos graxos, alectorônico	43527	LAS263
<i>Neoprotoparmelia</i> spec. nov. B-2	Protocetrário, graxos, alectorônico	43529	LAS203
<i>Neoprotoparmelia camptotheca</i> comb. nov. A	Alectorônico	43620	LAS196
<i>Neoprotoparmelia camptotheca</i> comb. nov. A	Alectorônico	43436	LAS197
<i>Neoprotoparmelia camptotheca</i> comb. nov. A	Protocetrário, atranorina, alectorônico	43218	LAS259
<i>Neoprotoparmelia camptotheca</i> comb. nov. A	Atranorina, protocetrário, norstístico, alectorônico	43217	LAS264
<i>Neoprotoparmelia camptotheca</i> comb. nov. A	Atranorina, ácidos graxos, alectorônico	46526	LAS246

* análise não realizada.

Fonte: Dados da pesquisa.

4.2 Filogenia

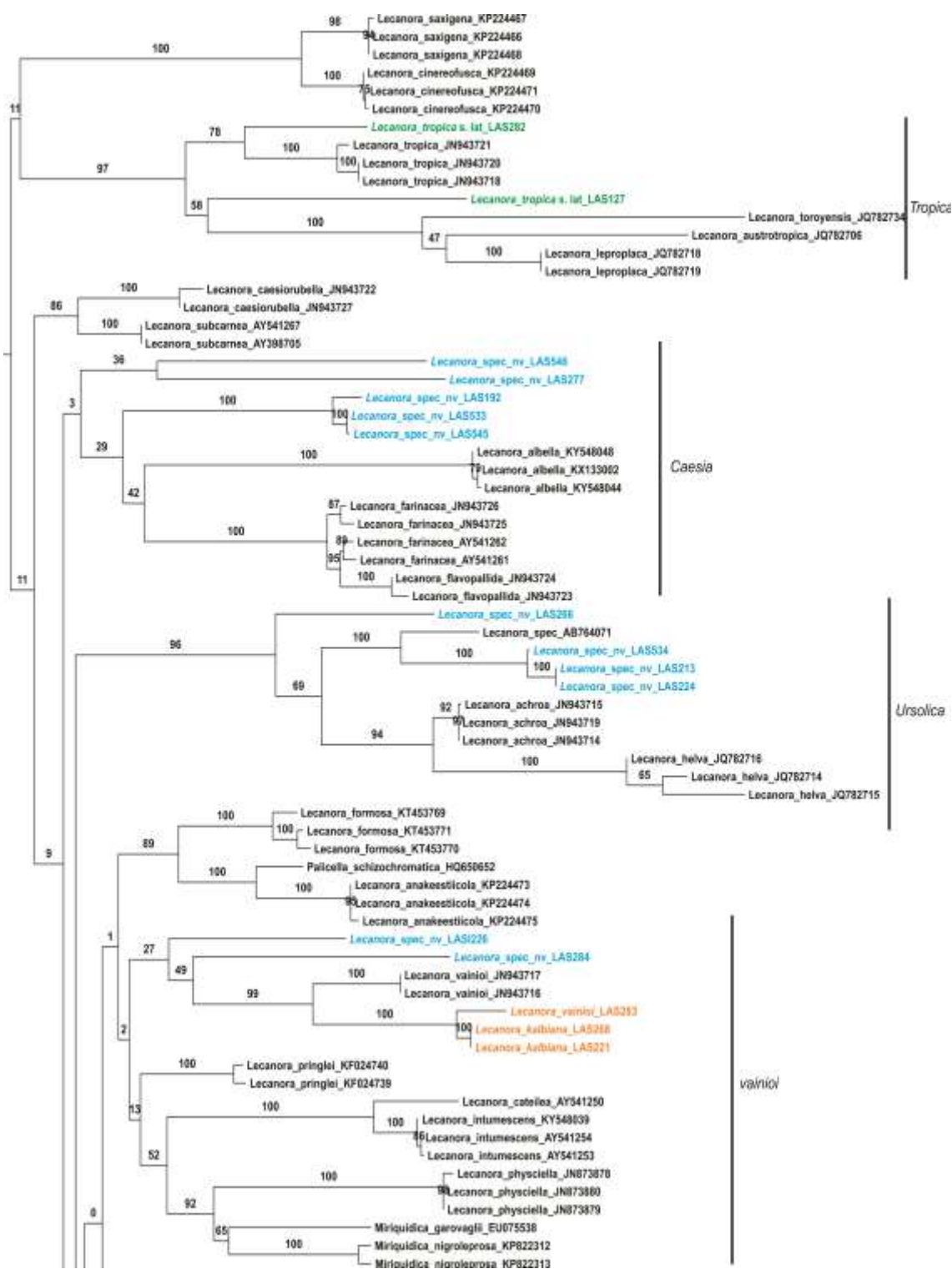
Das 300 amostras foram realizadas 173 extrações que resultaram em 197 amplificações, sendo 168 encaminhados para sequenciamento. Foram obtidas 58 novas sequências da região ITS (41 *Lecanora*, 16 *Neoprotoparmelia*) e 29 da região mtSSU do gênero *Lecanora* (Tabela 2).

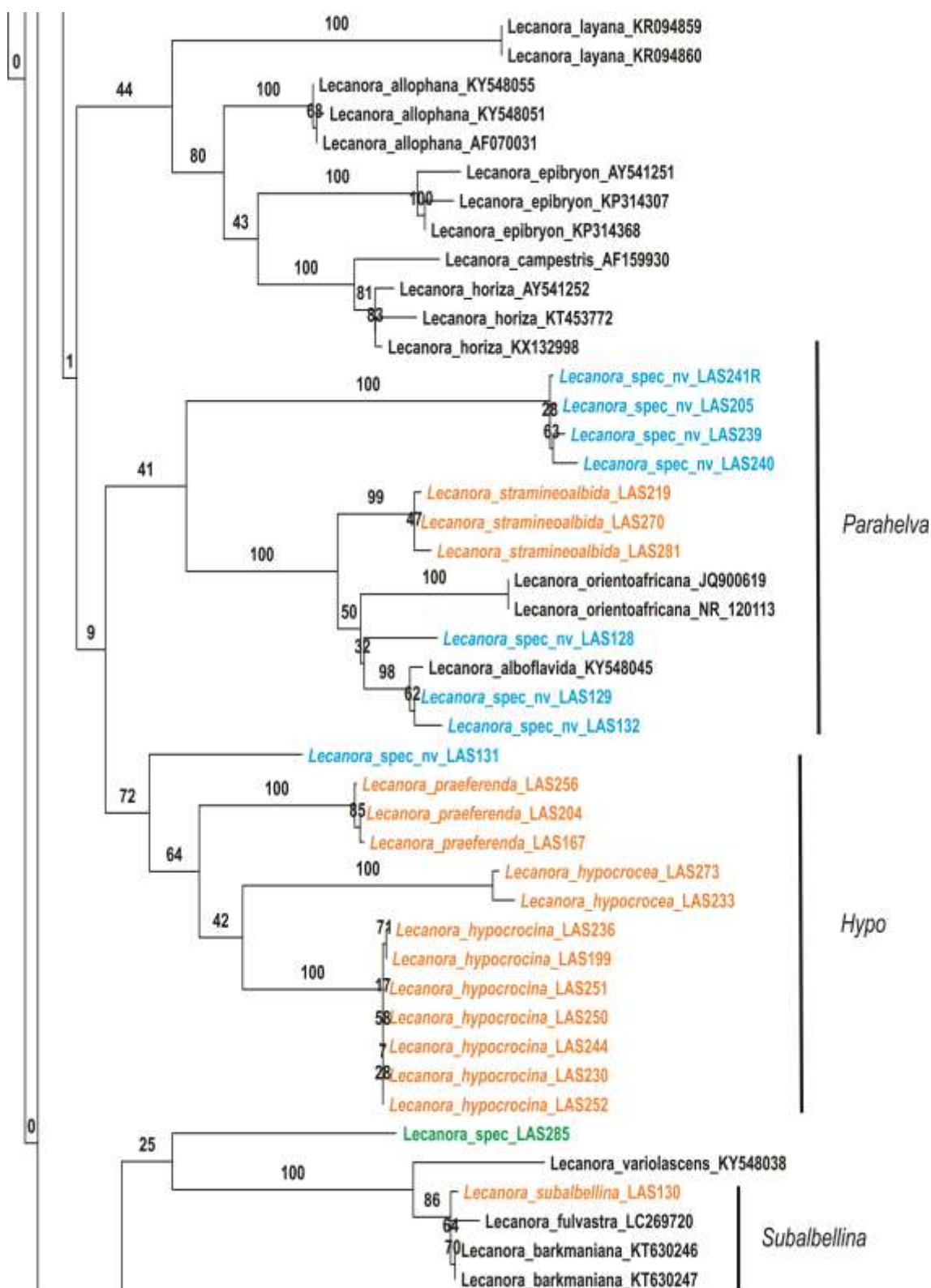
4.2.1 *Lecanora*

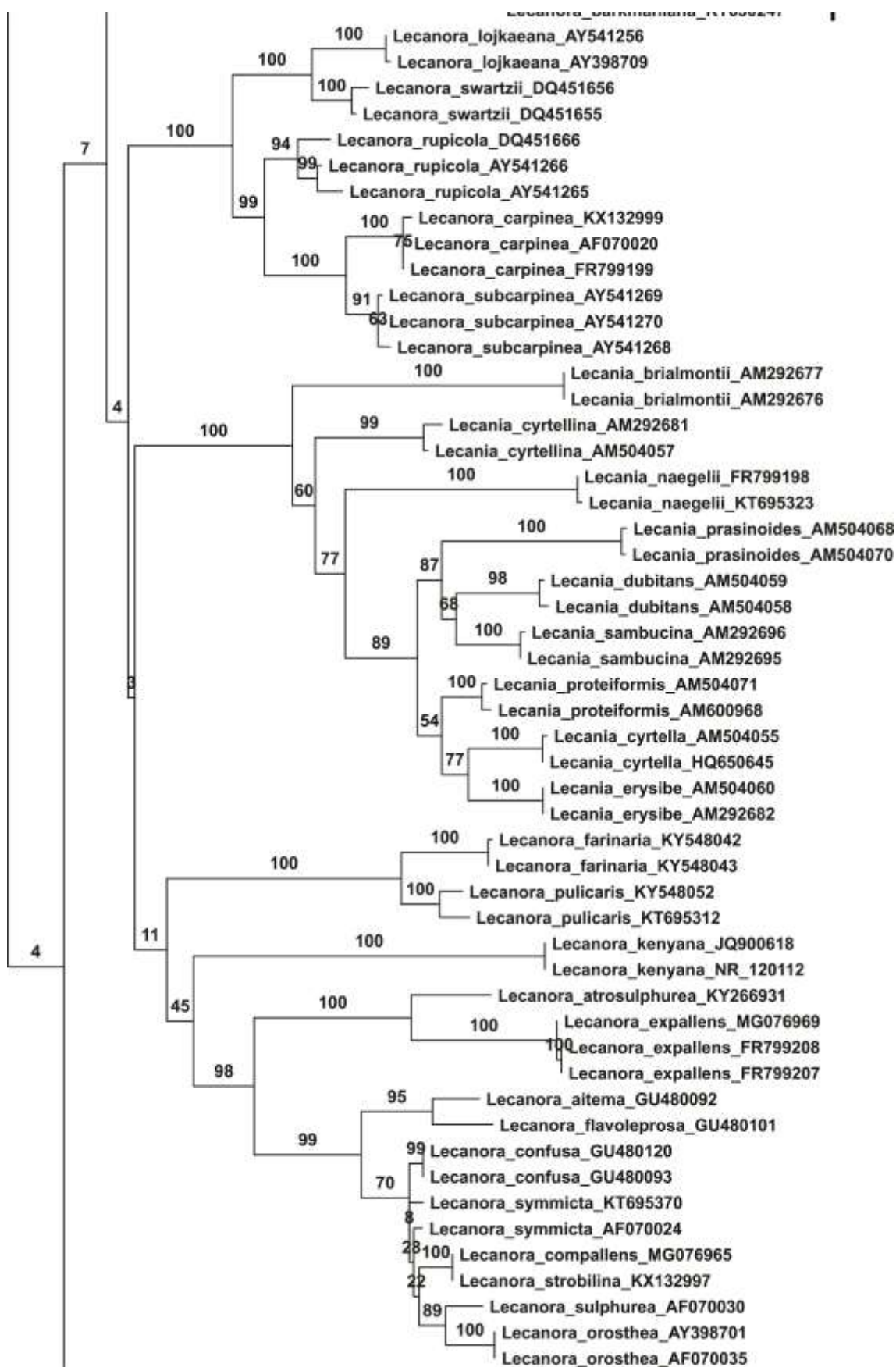
De acordo com os filogramas obtidos das regiões ITS e mtSSU (Figuras 5 e 6), as novas sequências tropicais adicionadas formaram novos clados e linhagens diferentes das já existentes (*Lecanora* spec. nov. LAS546, *Lecanora* spec. nov. LAS277, *Lecanora* spec. nov. LAS192, *Lecanora* spec. nov. LAS266, *Lecanora* spec. nov. LAS534, *Lecanora* spec. nov. LAS1226, *Lecanora* spec. nov. LAS284, *L. vainioi* LAS283, *L. kalbiana* LAS221,

Lecanora spec. nov. LAS241R, *L. stramineoalbida* LAS219, *Lecanora* spec. nov. LAS131, *L. praeferenda* LAS256, *L. hypocrocea* LAS273, *L. kalbiana* LAS221, *L. hypocrocina* LAS251, *L. spec* LAS285). Desta forma, muitas das identificações feitas previamente, baseadas na morfologia, foram rejeitadas e passaram a ser consideradas como espécies novas após posterior análise. Apenas os espécimes identificados como *Lecanora tropica*, *Lecanora* spec. nov. LAS128, *Lecanora* spec. nov. LAS129 e *L. subalbellina* LAS130 agruparam com clados preexistentes, muito embora apenas as sequências de *L. tropica* estejam diretamente relacionadas ao seu clado verdadeiro.

Figura 5. Relações filogenéticas do gênero *Lecanora* com o marcador molecular *Internal transcribed spacer* (ITS).







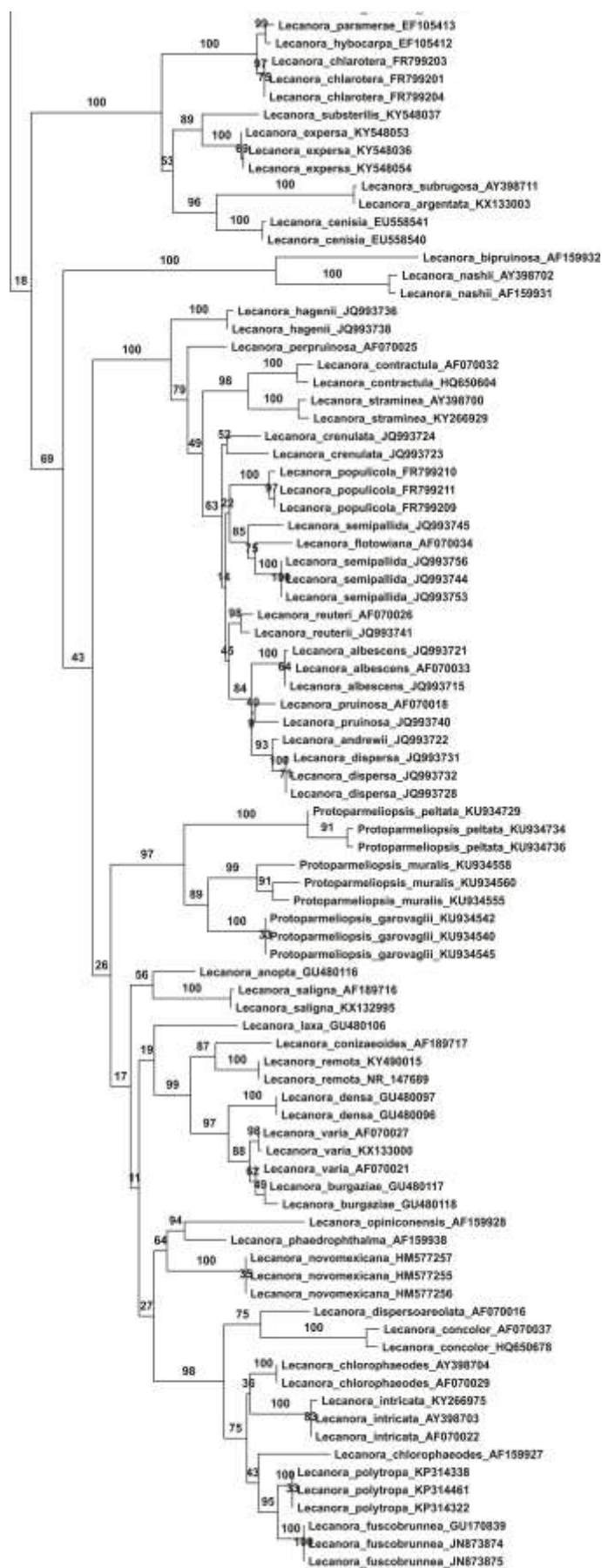
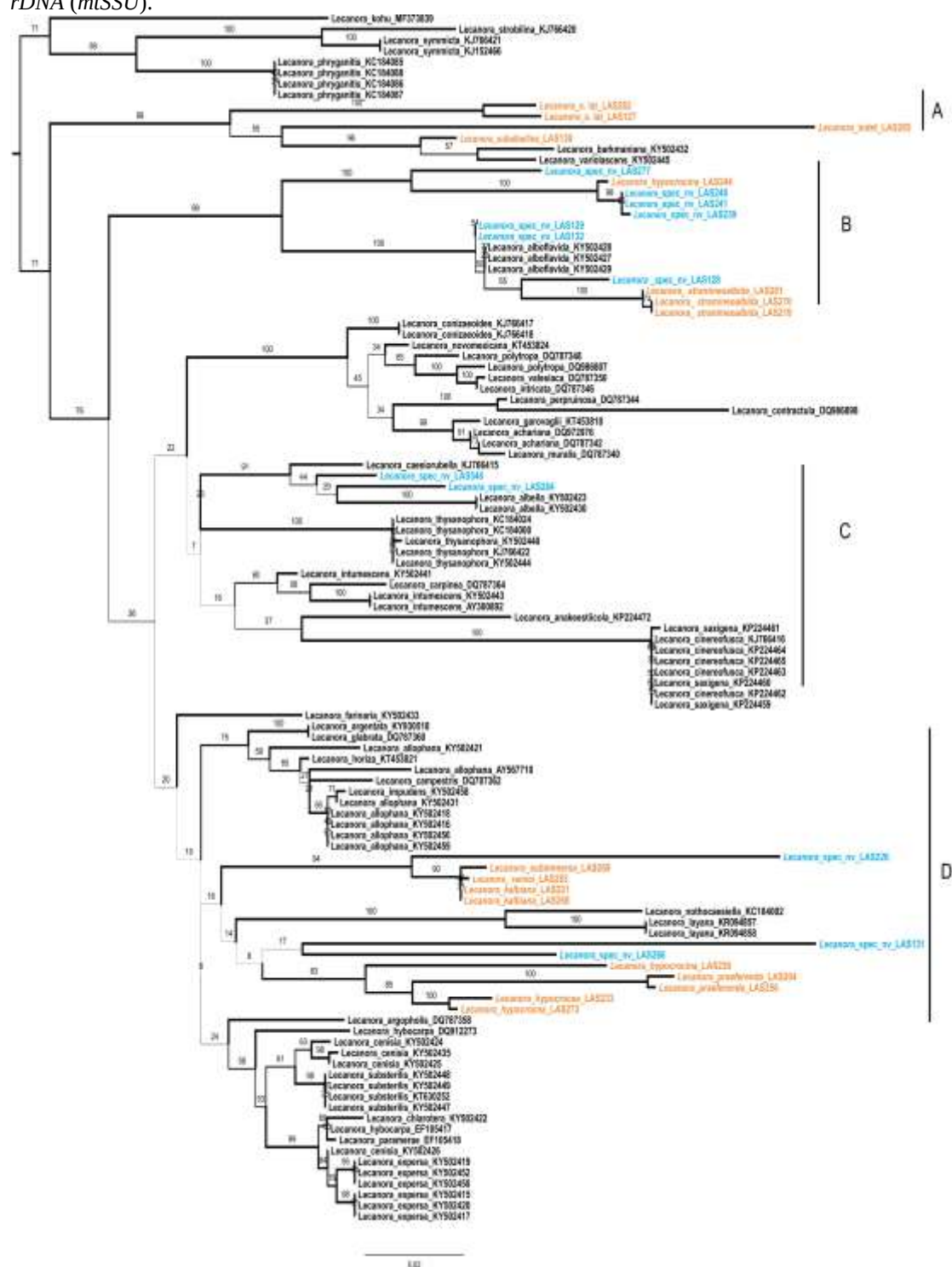


Figura 6. Relações filogenéticas do gênero *Lecanora* com o marcador molecular *mitochondrial small subunit rDNA (mtSSU)*.



4.2.2 *Neoprotoparmelia*

Da mesma forma que para *Lecanora*, as sequências obtidas de *Neoprotoparmelia* formaram novos clados e linhagens diferentes conforme descrito em Santos et al (2019).

5 DISCUSSÃO

5.1 Diversidade e química de *Lecanora* e *Neoprotoparmelia*

Sipman e Aptroot (2001) estimaram que havia entre 13.500 a 20.000 espécies de líquens conhecidas mundialmente, sendo a maior parte das espécies ainda a serem descobertas estariam nos trópicos e no hemisfério sul. Estudos mais recentes mostram que o número de espécies já descritas é de 19.387 (LÜCKING et al., 2016). Nos últimos 11 anos, o grupo de trabalho liderado por Marcela Cáceres, na Universidade Federal de Sergipe, realizou um número intensivo de coletas por várias partes do Brasil, resultando em cerca de 200 espécies novas para ciência, com apenas três descobertas para os gêneros em estudo neste trabalho (ALVES et al., 2014; APTROOT et al., 2015, 2018; APTROOT; CÁCERES, 2017; APTROOT; CÁCERES, 2018; CÁCERES, 2007; CÁCERES et al., 2013, 2014a, 2014b, 2017; PEREIRA et al., 2018; SOBREIRA et al., 2018).

Desde o registro da primeira espécie feito por Raddi em 1822 no Rio de Janeiro, ao longo de quase 200 anos, são cerca de 80 espécies de *Lecanora* reportadas para as regiões Sul, Sudeste, Norte, Centro-Oeste e Nordeste do Brasil em trabalhos, como Krempelhuber (1876), Vanio (1890), Zahlbruckner (1909b), Guderley (1999), Guderley et al. (2000), Lumbsch et al. (1996, 1997), Aptroot (2002), Spielmann (2006), Kalb (2008), Lima (2013), Käffer et al. (2014a), Cáceres et al. (2014c), entre outros. Grande parte das identificações foi feita apenas por morfologia e utilizando um conceito muito amplo de espécies; com isso, muitas foram alocadas em *L. achroa*, *L. helva*, *L. caesiorubella*, *L. hypocrocina*, *L. leproplaca*, *L. leprosa* e *L. tropica* Zahlbr. As identificações em *Neoprotoparmelia* (anteriormente *Maronina* e/ou *Protoparmelia*) seguiam a mesma perspectiva (CÁCERES et al., 2014b, 2017b; MENEZES et al., 2011a). Como citado, muitas espécies foram descobertas nos últimos anos. Para a Caatinga, por exemplo, foram aproximadamente 50 novas descrições para vários gêneros de 2007 a 2016 (ALVES et al., 2014; MENEZES et al., 2011b; APTROOT et al., 2015; CÁCERES, 2007, 2013, 2014a, 2014b).

Nesse sentido, os dados gerados no presente trabalho são extremamente significativos e confirmam a hipótese inicial de que ainda há muitas espécies a serem

descobertas no Brasil para ambos os gêneros que, notadamente, possuem espécies crípticas. É importante enfatizar que as novas espécies identificadas neste trabalho são o resultado dos espécimes recém-sequenciados. Os poucos espécimes tropicais de *Lecanora* sequenciados até agora são principalmente dos paleotrópicos. E assim como ocorria com os espécimes brasileiros, estes foram identificados usando o conceito bastante amplo de espécies de Lumbsch (1996) e Guderley et al. (1991). Com sequências adicionais do Brasil, descobrimos que algumas das identificações de espécies de sequências publicadas no *Genbank* podem estar erradas, viz. *Lecanora vainioi*.

Em relação aos novos registros, quase todas as espécies são novas ocorrências. Cinco para Alagoas, todas provenientes de área de Mata Atlântica (*L. subimmersa*, *L. vainioi*, *L. kalbiana*, *L. stramineoalbida*, *L. hypocrocea*). *Lecanora subimmersa*, havia sido coletada no Cerrado e na Caatinga; *L. stramineoalbida* e *L. vainioi* – na Caatinga (APTROOT; CÁCERES, 2018); *L. hypocrocea*, é registrada pela primeira vez para Sergipe (Caatinga) e Alagoas (Mata Atlântica), e recentemente foi encontrada na Bahia (APTROOT; CÁCERES, 2018); *L. praeferenda* para o Nordeste – Caatinga; e *L. subalbellina* para o Rio de Janeiro – Mata Atlântica, anteriormente coletada em Minas Gerais e São Paulo por Guderley (1999). Sete espécies novas são originárias da Caatinga e seis da Mata Atlântica, incluindo uma de área de Manguezal.

Em relação aos metabolitos secundários, foram registrados 18 tipos. Detectados e identificados por meio de cromatografia de camada delgada (CCD), utilizando o sistema de solventes C, o qual se mostrou totalmente eficaz para a detecção das substâncias para os gêneros *Lecanora* e *Neoprotoparmelia*. Os testes foram realizados em quase todos os espécimes e obtivemos resultados considerados de boa qualidade. O ácido úsnico, conhecido por ter um valor adaptativo para espécies de líquens por promover proteção contra raios ultravioletas, além de ter um valor taxonômico na separação de *Lecanoras* tropicais e extratropicais (CULBERSON et al., 1993; BJERKE et al., 2005; MCEVOY et al., 2006; LUMBSCH et al., 1995; PAPONG et al., 2012), foi detectado em dois espécimes que constituem espécies novas, coletadas na Caatinga e na Mata Atlântica, respectivamente. Outro metabólito secundário importante na taxonomia é a atranorina, encontrada em todas as espécies de *Lecanora* sensu stricto (BRODO, 1984) e foi encontrada em todos os espécimes analisados, com apenas uma exceção.

O grupo químico de *L. hypocrocina* ficou bem delimitado, sendo encontrados os principais metabólitos que caracterizam a espécie: atranorina, boriquinona e cloratranorina. A boriquinona é um metabólito fácil de ser identificado e é amplamente usado para definir

a espécie, ao seccionar o ascoma e tratar com KOH, o hipotécio fica rapidamente roxo (LUMBSCH, 1996; NASH, 2008). O composto liquexantona detectado em LAS131 é um metabólito incomum em *Lecanora*, sendo relatado anteriormente em *L. lichexanthona* (GUDERLEY et al., 2000).

Muitas vezes a única forma de prosseguir na identificação de um líquen é através dos metabólitos secundários. O espécime LAS285, por exemplo, não pode ser identificado por ausência de dados a respeito dos metabólitos que produz. Isto confirma a necessidade de utilizar a caracterização química dos espécimes de *Lecanora* como um critério taxonômico importante.

5.1.1 Filogenia

O avanço dos estudos utilizando ferramentas moleculares e o aumento na disponibilidade de sequências de DNA, tem resultado em muitas mudanças. Mas também tem permitido compreender melhor a diversidade dentro de ambos os gêneros apresentados nesse estudo. Os dados obtidos, evidenciam claramente isso.

5.2 *Lecanora*

Lecanora ainda precisa de muitos estudos com uma ampla amostragem de material, para se tentar estabelecer mais grupos monofiléticos e a relação entre eles. As mudanças têm ocorrido de forma rápida no gênero, Pérez-Ortega et al. (2010) com base na filogenia, propuseram uma nova combinação, *Lecanora filamentosa* (Stirt.) Elix & Palice e descreveram *Lecanora schizochromatica*. Algum tempo depois, foi visto que em ambos os casos, as espécies não poderiam continuar alocadas em *Lecanora*, com isso *Palicella* foi proposto e as espécies realocadas (FLAKUS; PRINTZEN, 2014). Outro exemplo significativo foi a criação do gênero *Myriolecis* por Zao et. al (2016), para acomodar *Lecanora dispersa* e *Arctopeltis*.

5.2.1 Clado *Tropica*

Os espécimes 127-282, eram identificados como *Lecanora tropica*. O espécime 127 parece uma típica *Lecanora tropica* e o 282 pode ser um espécime danificado, assim podemos classificar esse grupo como *L. tropica* s.lat.. De fato, também é importante levar em consideração a geografia, pois o clado com os três acessos do *GenBank* são do Quênia, Tailândia e Fiji (Paleotrópicos) (SCHOCH et al., 2012).

Outro fator importante é a utilização do nome *tropica*. Este é presumivelmente um nome que foi utilizado como substituição por Zahlbruckner (1928) para *subcrenulata* Nyl. 1889 (não Müll. Arg. 1888). No entanto, *subcrenulata* Nyl. não existe, mas é baseado em *subfusca* var. *subcrenulata* Nyl. 1867. Assim, o nome de substituição de Zahlbruckner está correto, porém a distinção da origem do nome é importante para a tipificação. Em 1867, Nylander inclui apenas dois espécimes da Colômbia, um corticícola e outro saxícola, enquanto em 1889 ele menciona apenas exemplares da África. Logo, o tipo é definitivamente da América do Sul (Colômbia) e o espécime corticícola foi escolhido como lectótipo por Lumbsch em 1993. Com isso, podemos definitivamente chamar 127 *tropica* s.str., enquanto que o espécime 282 seria *Lecanora* aff. *tropica* e as três sequências GB paleotropicais são um táxon diferente para o qual um sinônimo paleotropical de *tropica* pode ser aplicado.

5.2.2 Clado *Ursolica*

Este clado agrupou sequências do *GenBank* identificadas como *L. helva*, *L. achroa* e quatro das novas sequências. Três sequências 534, 213 e 224 representam uma nova espécie com ácido ursólico em adição à atranorina e codatina. Morfologicamente, os espécimes apresentam um disco amarelo com margem branca bastante crenulada. A outra sequência 266, também uma espécie nova, morfologicamente poderia ser confundida com *L. achroa*, mas sua posição filogenética deixa claro que se trata de outra espécie. Ambos espécimes poderiam facilmente, pela morfologia, ser identificados erroneamente como *L. helva*, *L. achroa* e/ou *L. leprosa*. Quase todo material coletado no Brasil referente a essas espécies foi identificado apenas por morfologia comparativa, isso abre um precedente de que pode haver muitas identificações equivocadas e um número substancial de espécimes que podem ser novas para a ciência.

5.2.3 Clado *Parahelva*

Nesse clado foram formados três subgrupos. O primeiro é formado por quatro sequências 205 – 239 - 240 – 241R, pertencentes a uma nova espécie com uma morfologia próxima aos caracteres relacionados com *Lecanora helva*. As sequências geradas se agruparam de forma consistente, com um alto valor de suporte. Porém, muito distante filogeneticamente das três sequências identificadas como *L. helva* disponíveis no *GenBank*, originárias da Tailândia e Fiji. O tipo de *L. helva* é da África e esta espécie não possui muitos sinônimos. Não sendo possível inferir se há ou não erro de identificação, nos dados

disponíveis, propomos uma nova espécie para acomodar as novas sequências brasileiras. Semelhante ao que ocorreu no Clado Ursolica, nas identificações de *L. helva* das coletas brasileiras foram empregados apenas caracteres morfológicos. A filogenia desse grupo deixa claro que apenas a morfologia não é eficaz na identificação e separação das espécies. Os outros dois subclados serão discutidos a seguir, no grupo das espécies de hipotécio escuro.

5.2.4 Clado Hipotécio

Este clado é formado por espécies de hipotécio escuro, uma característica que é exclusivamente observada em líquens tropicais, sendo grande parte dessas espécies encontradas na América do Sul (LUMBSCH et al., 1996). São 16 espécies que se alocaram em clados próximos, todos eles posicionadas em ramos bem suportados, discutidos a seguir:

O subclado Stramineoalbida é formado por três táxons - 219, 270 e 281, com morfologia, filogenia e química bem definidos para *L. stramineoalbida*. Essa espécie possui apotécios bem característicos, de até 1,3 mm de diâmetro, com discos amarelados a alaranjados-marrons e por vezes, cinza-escuros, e uma margem proeminente, inteira, flexuosa a verrucosa. As principais substâncias anteriormente detectadas são a atranorina, ácido 2'-O-metilperlatólico, cloroatranorina, ácido 2'-O-metilestenospórico (LUMBSCH et al., 1996; ŚLIWA et al., 2014). Em um levantamento realizado na Bolívia, Śliwa et al. (2014) registraram essa espécie pela primeira vez para a América do Sul; no material examinado, os autores encontram vestígios de ácido úsnico, além de atranorina e ácido 2'-O-metilperlatólico, e acreditam que devido à cor pálida de seus discos, do apotécio, e sua química, *L. stramineoalbida* pode ser confundida com *L. helva*, porém esta última difere em ter um hipotécio hialino (ŚLIWA et al., 2014). Os espécimes analisados nesse trabalho apresentam atranorina, codatina e ácido protocetrário. Outra sequência, a 277, gerada nesse trabalho, é uma nova espécie, irmã de *L. stramineoalbida* apesar de se posicionar em um clado um pouco distante, pois apresenta a química (atranorina, ácido 2'-O-metilperlatólico) e a morfologia característica da espécie, com exceção da margem do apotécio que, nessa, é extremamente regular, diferindo da margem característica de *L. stramineoalbida*.

No próximo clado, as sequências foram agrupadas com *L. alboflavida*. Porém, ao comparar as morfologias, foi visto que 128, 129 e 132 apresentam uma morfologia similar, mas se dividem em duas linhagens distintas com *L. alboflavida* entre elas. Assim, fica

evidente que são duas espécies novas e distintas, 129 e 132 sendo a mesma espécie, e 128 outra espécie, todas com o hipotécio escuro.

O espécime 131 é uma espécie nova, com evidências tanto químicas como filogenéticas. A amostra se posicionou em um ramo distinto dos demais, e apresenta uma química única, com a presença de xantonas. *L. hypocrocina* formou um grupo consistente com alto valor de suporte, assim como *Lecanora hypocrocea*. Dentro do grupo de espécies de hipotécio escuro, foi formado um subclado com três sequências de amostras com hipotécio pálido, morfologicamente identificadas como *Lecanora praeferenda* 167, 204 e 256.

5.2.5 Clado Vainioi

Grande parte do material utilizado nesse trabalho é cortícola, mas existem algumas amostras saxícolas, todas de Alagoas, e se agrupam na filogenia. O clado diz respeito às espécies identificadas como *L. kalbiana*, *L. vainioi* e *L. subimmersa*. Juntas formam um grupo bem definido (Figura 6). A relação entre estas espécies não está totalmente resolvida. A morfologia destes táxons é bastante diferente, e especialmente a presença de *L. subimmersa* dentro deste aglomerado é morfologicamente surpreendente, pois é uma espécie muito característica, sem margens do apotécio claras e com discos planos a côncavos que estão no mesmo nível do talo.

Neste clado, é possível perceber e esclarecer um possível erro de identificação. A espécie depositada no *Genbank* como *Lecanora vainioi* JN943717 e JN943716 não se agrupou à sequência de *L. vainioi* gerada aqui. É provável que as sequências do banco de dados sejam de uma espécie nova ou outra *Lecanora*, pois o tipo de *L. vainioi* foi descrito baseado em um espécime de hábito saxícola do Brasil, e as duas espécies do *GenBank* são da Tailândia. O espécime brasileiro de *L. vainioi* identificada neste trabalho possui as características morfológicas e químicas de acordo com o espécime tipo brasileiro.

A sequência 226 é uma nova espécie, e parece formar um grupo irmão com as sequências geradas de *L. kalbiana*, *L. vainioi* e *L. subimmersa*. Esta espécie possui a margem do apotécio do tipo crenado, disco marrom e atranorina como química principal.

5.2.6 Clado Caesiorubella

As espécies apresentadas aqui como *Lecanora caesiorubella* possuem problemas em algumas definições, pois morfologicamente são muito parecidas, porém a filogenia indica espécies diferentes. De acordo com os acessos do *GenBank* de *caesiorubella*, estes

são dos EUA e da Austrália. A espécie tipo é da América do Norte (EUA). O espécime 284 possui a típica morfologia de *caesiorubella*, porém apresenta uma nova química, desta forma será descrito como nova espécie. Já os espécimes 192, 533 e 545 são cinza-claros, areolado em vez de talo farinoso, distintamente amarelo claro, também descritos como novas espécies. E, por último, o espécime 546 também diferente pelas distintas margens amareladas, muito irregulares, e apotécio muito menor, sendo considerado nova espécie. A química de *Lecanora caesiorubella* é extremamente variável, com ácido atranorino, connorstictico conprotocetrárico, norstictico, protocetrárico, ácido salazínico, stictico, virénsico, entre outros (NASH, 2008).

5.3 *Neoprotoparmelia*

Por meio das sequências obtidas da região ITS foi possível construir o filograma (Figura 8). Os espécimes analisados possuíam morfologia similar à de *Maronina multifera*, segundo critérios mencionados por Hafellner & R.W. Rogers (1990) e Cáceres (2007). Porém a análise morfológica e química do lectotipo e do ITS mostrou que se tratava de espécimes de espécies diferentes, conforme descrito em Santos et al. (2019). O extinto gênero *Maronina* foi novamente restabelecido por Divakar, (2017) para abrigar espécimes tropicais, anteriormente alocadas em *Protoparmelia*. Recentemente, Singh et al. (2018b) observaram que as espécies tropicais e subtropicais de fungos liquenizados não poderiam ser circunscritas em *Protoparmelia* ou *Maronina*, e com isso, foi necessário estabelecer o novo gênero *Neoprotoparmelia*.

As sequências obtidas nesse trabalho se distribuíram na árvore de forma a apresentar uma relação com o novo gênero recentemente estabelecido por Singh et al. (2018), formando três clados (A – C), um com apenas uma espécie e dois com duas espécies intimamente relacionadas conforme descrito em Santos et al. (2019).

5.3.1 Clado A

Os espécimes do primeiro clado (A) ficaram agrupados de modo separado e bem suportado e não estão relacionados com nenhuma sequência disponível no *GenBank*. Essa espécie, muito provavelmente, seria erroneamente identificada morfológicamente como *N. multifera* por possuir ascos multiesporados com a quantidade de esporos semelhantes. Porém diferem claramente na filogenia. Como relatado em Santos et. al (2019), a comparação com o material do tipo revelou que esse clado é específico com o tipo de *Lecanora camptotheca* Fée do Rio de Janeiro, que já havia sido identificado anteriormente

como sinônimo de *N. multifera* (Staiger & Kalb 1995: 132). Foi, portanto, introduzida como nova combinação, *Neoprotoparmelia camptotheca* que é caracterizada por ascos de 32 esporos, ácido alectorônico, com a base do apotécio pálida e negativa em K e apotécio com margem espessa e lisa e disco marrom-arroxeadado escuro.

5.3.2 Clado B

Assim como nos demais clados formados na árvore, os espécimes sequenciados formaram um grupo distinto, bem suportado e sem uma relação filogenética direta com nenhuma outra sequência do banco de dados. O Clado B foi formado por duas novas espécies de *Neoprotoparmelia*, bem definidas pela química, morfologia e filogenia e, foram descritos em Santos et. al (2019).

5.3.3 Clado C

As sete novas sequências foram agrupadas em um clado com três sequências do *GenBank* que são de espécimes coletados no Brasil. O clado (C) consiste em dois subclados (C-1, C-3) e uma classe (C-2), com os subclados C-1 e C-2 reciprocamente monofiléticas, mas o subclado C-3 aninhado dentro da classe C-2; todos os subclados apresentam um alto valor de suporte. Assim, como os demais espécimes analisados, a morfologia os colocaria em *Maronina*. Com a extinção do gênero por Papong et. al (2011), os espécimes passaram a ser identificados em *Protoparmelia*, gênero restabelecido por Divakar (2017) para abrigar espécimes tropicais. A criação de *Neoprotoparmelia* por Singh et al. (2018), o uso combinado da morfologia, metabólitos secundários e DNA por Santos et. al (2019) nos novos espécimes e nos espécimes das sequências do genbank, além da revisão feita no material tipo disponível nos herbários M e H, possibilitou a descoberta de caracteres que os diferencia dos táxons disponíveis.

6 CONCLUSÕES

- A diversidade de *Lecanora* e *Neoprotoparmelia* é subestimada no Brasil;
- *Lecanora helva*, *L. achroa* e *L. leprosa* só podem ser identificadas corretamente com pelo menos o auxílio da química e da morfologia;
- O gênero *Neoprotoparmelia* possui uma grande diversidade críptica conforme descrito em Santos et al. (2019).

- Os metabólitos secundários de *Lecanora* são importantes critérios taxonômicos para a classificação no grupo.
- A combinação das análises morfológicas, químicas e moleculares torna o processo de identificação dos espécimes dos gêneros analisados mais rápido e eficiente.
- A inserção de novas sequências tropicais evidenciou novas linhagens e melhorou a delimitação de alguns clados e de novas espécies.

REFERÊNCIAS

- ALVES, Marília Muryel Estevam; APTROOT, André; LACERDA, Sírléis Rodrigues; *et al.* A new *Eschatogonia* species and two new *Gassicurtia* species from Chapada do Araripe, Ceará, NE Brazil. **The Bryologist**, v. 117, n. 1, p. 50–53, 2014.
- APTROOT, André; ANDRADE, Dannyelly Santos; MENDONÇA, Cléverton; *et al.* Ten new species of corticolous pyrenocarpous lichens from NE Brazil. **Phytotaxa**, v. 197, n. 3, p. 197–206, 2015.
- APTROOT, André; CÁCERES, Marcela Eugenia da Silva. New Arthoniales from Amapá (Amazonian North Brazil) show unexpected relationships. **The Lichenologist**, v. 49, n. 6, p. 607–615, 2017.
- APTROOT, André; DA SILVA CÁCERES, Marcela Eugenia. New lichen species from Chapada Diamantina, Bahia, Brazil. **The Bryologist**, v. 121, n. 1, p. 67–79, 2018.
- APTROOT, André; SIPMAN, Harrie J. M.; DIAZ, Joel Alejandro MERCADO; *et al.* Eight new species of Pyrenulaceae from the Neotropics, with a key to 3-septate Pyrgillus species. **The Lichenologist**, v. 50, n. 1, p. 77–87, 2018.
- ARUP, Ulf; GRUBE, Martin. Is *Rhizoplaca* (Lecanorales, lichenized Ascomycota) a monophyletic genus? **Canadian Journal of Botany**, v. 78, n. 3, p. 318–327, 2000.
- ARUP, Ulf; GRUBE, Martin. Molecular Systematics of *Lecanora* Subgenus *Placodium*. **The Lichenologist**, v. 30, n. 4–5, p. 415–425, 1998.
- ARUP, Ulf; GRUBE, Martin. Where does *Lecanora Demissa* (Ascomycota, Lecanorales) Belong? **The Lichenologist**, v. 31, n. 5, p. 419–430, 1999.
- BJERKE, Jarle W.; ELVEBAKK, Arve; DOMÍNGUEZ, Erwin; *et al.* Seasonal trends in usnic acid concentrations of Arctic, alpine and Patagonian populations of the lichen *Flavocetraria nivalis*. **Phytochemistry**, v. 66, n. 3, p. 337–344, 2005.
- CÁCERES, Marcela Eugenia da Silva. The Corticolous Crustose and Microfoliose Lichens of Northeastern Brazil - Diversity, Ecology, and Conservation. ResearchGate. Disponível em:
<https://www.researchgate.net/publication/36449892_The_Corticolous_Crustose_and_Microfoliose_Lichens_of_Northeastern_Brazil_Diversity_Ecology_and_Conservation>.
Acesso em: 10 set. 2018.
- CÁCERES, Marcela Eugenia da Silva; APTROOT, André; DE OLIVEIRA MENDONÇA, Cléverton; *et al.* Sprucidea, a further new genus of rain forest lichens in the family Malmideaceae (Ascomycota). **The Bryologist**, v. 120, n. 2, p. 202–211, 2017.
- CÁCERES, Marcela Eugenia da Silva; APTROOT, André; ERTZ, Damien. New species and interesting records of Arthoniales from the Amazon, Rondônia, Brazil. **The Lichenologist**, v. 46, n. 4, p. 573–588, 2014.

CÁCERES, Marcela Eugenia da Silva; JÚNIOR, Narla Mota; SANTOS, Lidiane Alves dos; *et al.* New records to Brazil and Southern Hemisphere of corticolous and saxicolous lichens from the semiarid region in Ceará Stat. **Iheringia. Série Botânica.**, v. 72, n. 2, p. 239–245, 2017.

CÁCERES, Marcela Eugenia da Silva; LIMA, Edvaneide Leandro de; APTROOT, André. A new *Opegrapha* with submuriform ascospores from Brazil. **The Lichenologist**, v. 45, n. 3, p. 375–378, 2013.

CÁCERES, Marcela Eugenia da Silva; NASCIMENTO, Edvaneide Leandro de Lima; APTROOT, André; *et al.* Liquens brasileiros: novas descobertas evidenciam a riqueza no Norte e Nordeste do país. **Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão**, v. 0, n. 36, 2014. Disponível em: <<https://doaj.org>>. Acesso em: 23 jan. 2019.

CULBERSON, Chicita F.; CULBERSON, William Louis; JOHNSON, Anita. Occurrence and Histological Distribution of Usnic Acid in the *Ramalina siliquosa* Species Complex. **The Bryologist**, v. 96, n. 2, p. 181–184, 1993.

DIVAKAR, Pradeep K.; CRESPO, Ana; KRAICHAK, Ekaphan; *et al.* Using a temporal phylogenetic method to harmonize family- and genus-level classification in the largest clade of lichen-forming fungi. **Fungal Diversity**, v. 84, n. 1, p. 101–117, 2017.

DOS SANTOS, Lidiane Alves *et al.* High diversification in the *Neoprotoparmelia multifera* complex (Ascomycota, Parmeliaceae) in northeast Brazil revealed by DNA barcoding and phenotypical characters. **The Bryologist**, v. 122, n. 4, p. 539–552, 2019.

FLAKUS, Pamela RODRIGUEZ; PRINTZEN, Christian. Palicella, a new genus of lichenized fungi and its phylogenetic position within Lecanoraceae. **The Lichenologist**, v. 46, n. 4, p. 535–552, 2014.

FRYDAY, Alan M. How should we deal with the Antarctic and Subantarctic taxa published by Carroll William Dodge? p. 10, 2011. (Opuscula Philolichenum).

FRYDAY, Alan M.; COPPINS, Brian J. Ameliella, a new genus of lichen-forming fungi from north-west Europe and western Canada. **The Lichenologist**, v. 40, n. 5, p. 387–397, 2008.

GARDES, M.; BRUNS, T. D. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes--application to the identification of mycorrhizae and rusts. **Molecular Ecology**, v. 2, n. 2, p. 113–118, 1993.

GRUBE, Martin; BALOCH, Elisabeth; ARUP, Ulf. A phylogenetic study of the *Lecanora rupicola* group (Lecanoraceae, Ascomycota). **Mycological Research**, v. 108, n. Pt 5, p. 506–514, 2004.

GUDERLEY, Roland; LUMBSCH, H. Thorsten; ELIX, John A. Four New Species of *Lecanora* sensu stricto (Lecanorales, Ascomycotina) from Tropical South America. **The Bryologist**, v. 103, n. 1, p. 139–144, 2000.

GUEIDAN, Cécile; HILL, David J.; MIADLIKOWSKA, Jolanta; *et al.* 4 Pezizomycotina: Lecanoromycetes. In: **Systematics and Evolution**. [s.l.]: Springer, Berlin, Heidelberg, 2015, p. 89–120. (The Mycota). Disponível em: <https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-662-46011-5_4>. Acesso em: 29 maio 2018.

JAKLITSCH, Walter; BARAL, Hans-Otto; LÜCKING, Robert; *et al.* Syllabus of plant families-A. Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien Part 1/2. 2016.

KONDRATYUK, S. Y.; JEONG, M.-H.; GALANINA, I. A.; *et al.* Molecular phylogeny of placodioid lichen-forming fungi reveal a new genus, *Sedelnikovaea*. Disponível em: <<https://www.ingentaconnect.com/content/mtax/mt/2015/00000129/00000002/art00008>>. Acesso em: 22 jul. 2018.

KÖRBER, Gustav Wilhelm. Systema lichenum germaniae. Die Flechten Deutschlands (insbesondere Schlesiens) Mikroskopische Geprüft, kritisch Gesichtet, charakterisch Beschrieben und systematisch Geordnet. [s.l.]: Breslau, Trewendt & Granier, 1855. Disponível em: <<http://archive.org/details/systemalichenumg00krbe>>. Acesso em: 4 jun. 2018.

KRAICHAK, Ekaphan; CRESPO, Ana; DIVAKAR, Pradeep K.; *et al.* A temporal banding approach for consistent taxonomic ranking above the species level. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, 2017. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41598-017-02477-7>>. Acesso em: 28 maio 2018.

LARENA, I.; SALAZAR, O.; GONZÁLEZ, V.; *et al.* Design of a primer for ribosomal DNA internal transcribed spacer with enhanced specificity for ascomycetes. **Journal of Biotechnology**, v. 75, n. 2–3, p. 187–194, 1999.

LÜCKING, Robert; HODKINSON, Brendan P.; LEAVITT, Steven D. The 2016 classification of lichenized fungi in the Ascomycota and Basidiomycota – Approaching one thousand genera. **The Bryologist**, v. 119, n. 4, p. 361–416, 2016.

LUMBSCH, H. Thorsten. The Use of Metabolic Data in Lichenology at the Species and Subspecific Levels. **The Lichenologist**, v. 30, n. 4–5, p. 357–367, 1998.

LUMBSCH, H. Thorsten; FEIGE, G. Benno; ELIX, John A. A Revision of the Usnic Acid Containing Taxa Belonging to *Lecanora sensu stricto* (Lecanorales: Lichenized Ascomycotina). **The Bryologist**, v. 98, n. 4, p. 561–577, 1995.

LUMBSCH, H. Thorsten; GUDERLEY, Roland; ELIX, John A. A Revision of Some Species in *Lecanora sensu stricto* with a Dark Hypothecium (Lecanorales, Ascomycotina). ResearchGate. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/250066748_A_Revision_of_Some_Species_in_Lecanora_sensu_stricto_with_a_Dark_Hypothecium_Lecanorales_Ascmycotina>. Acesso em: 9 nov. 2018.

LUMBSCH, H. Thorsten; HUHNDORF, Sabine M. Myconet Volume 14. Part One. Outline of Ascomycota—2009. Part Two. Notes on Ascomycete Systematics. Nos. 4751–5113. **Fieldiana Life and Earth Sciences**, p. 1–64, 2010.

MALÍČEK, Jiří; BERGER, Franz; PALICE, Zdeněk; *et al.* Corticolous sorediate *Lecanora* species (Lecanoraceae, Ascomycota) containing atranorin in Europe. **The Lichenologist**, v. 49, n. 05, p. 431–455, 2017.

MCEVOY, Maria; NYBAKKEN, Line; SOLHAUG, Knut Asbjørn; *et al.* UV triggers the synthesis of the widely distributed secondary lichen compound usnic acid. **Mycological Progress**, v. 5, n. 4, p. 221–229, 2006.

MENEZES, Aline Anjos de; LEITE, Amanda Barreto Xavier; OTSUKA, Amanda Yumi; *et al.* New records of crustose and microfoliose corticolous lichens in Caatinga vegetation of the semi-arid region in Alagoas. **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n. 4, p. 885–889, 2011.

MILLER, M.A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: **Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)**. New Orleans. [s.l.: s.n.], 2010, p. 1–8.

NASH, III, T. (Ed.). Lichen Biology. **Cambridge: Cambridge University Press**. 2008. doi:10.1017/CBO9780511790478

NYLANDER, 1867. *Annls Sci. Nat., Bot.*, sér. 5 7: 310

NYLANDER, 1889. *Lich. Ins. Guineens*.

PAPONG, K.; KANTVILAS, G.; LUMBSCH, H. T. Morphological and molecular evidence places *Maronina* into synonymy with *Protoparmelia* (Ascomycota: Lecanorales). **The Lichenologist**, v. 43, n. 6, p. 561–567, 2011.

PAPONG, Khwanruan; BOONPRAGOB, Kansri; PARNMEN, Sittiporn; *et al.* Molecular phylogenetic studies on tropical species of *Lecanora sensu stricto* (Lecanoraceae, Ascomycota). **Nova Hedwigia**, p. 1–13, 2012.

PEREIRA, Thamires Almeida; PASSOS, Paula de Oliveira; SANTOS, Lidiane Alves dos; *et al.* Going extinct before being discovered? New lichen fungi from a small fragment of the vanishing Atlantic Rainforest in Brazil. **Biota Neotropica**, v. 18, n. 1, 2018. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1676-06032018000100212&lng=en&nrm=iso&tlng=en. Acesso em: 29 maio 2018.

PÉREZ-ORTEGA, Sergio; SPRIBILLE, Toby; PALICE, Zdeněk; *et al.* A molecular phylogeny of the *Lecanora varia* group, including a new species from western North America. **Mycological Progress**, v. 9, n. 4, p. 523–535, 2010.

SCHOCH, Conrad L.; SEIFERT, Keith A.; HUHNDOERF, Sabine; *et al.* Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 16, p. 6241–6246, 2012.

SINGH, Garima; APTROOT, André; RICO, Víctor J.; *et al.* *Neoprotoparmelia* gen. nov. and *Maronina* (Lecanorales, Protoparmelioideae): species description and generic

delimitation using DNA barcodes and phenotypical characters. **MycoKeys**, v. 44, p. 19–50, 2018.

SINGH, Garima; GRANDE, Francesco Dal; DIVAKAR, Pradeep K.; *et al.* Coalescent-Based Species Delimitation Approach Uncovers High Cryptic Diversity in the Cosmopolitan Lichen-Forming Fungal Genus *Protoparmelia* (Lecanorales, Ascomycota). **PLOS ONE**, v. 10, n. 5, p. e0124625, 2015.

SINGH, Garima; GRANDE, Francesco Dal; SCHNITZLER, Jan; *et al.* Different diversification histories in tropical and temperate lineages in the ascomycete subfamily Protoparmelioideae (Parmeliaceae). **MycoKeys**, v. 36, p. 1–19, 2018.

SINGH, Garima; APTROOT, André; ICO, Víctor J.; *et al.* *Neoprotoparmelia* gen. nov. and *Maronina* (Lecanorales, Protoparmelioideae): species description and generic delimitation using DNA barcodes and phenotypical characters. **MycoKeys**, n. 44, p. 19–50, 2018.

SINGH, Pushpi; SINGH, Krishna Pal. New combinations in the family Graphidaceae (lichenized Ascomycota: Ostropales) from India. **The Lichenologist**, v. 49, n. 5, p. 527–533, 2017.

SIPMAN, Harrie J. M.; APTROOT, André. Where are the missing lichens? **Mycological Research**, v. 105, n. 12, p. 1433–1439, 2001.

ŚLIWA, Lucyna; MIADLIKOWSKA, Jolanta; REDELINGS, Benjamin D.; *et al.* Are widespread morphospecies from the *Lecanora dispersa* group (lichen-forming Ascomycota) monophyletic? **The Bryologist**, v. 115, n. 2, p. 265–277, 2012.

ŚLIWA, Lucyna; WILK, Karina; FLAKUS, Adam; *et al.* New Records of *Lecanora* for Bolivia. II. **Polish Botanical Journal**, v. 59, n. 1, p. 97–103, 2014.

SOBREIRA, Priscylla Nayara Bezerra; CÁCERES, Marcela Eugenia Da Silva; MAIA, Leonor Costa; *et al.* *Flabelloporina*, a new genus in the Porinaceae (Ascomycota, Ostropales), with the first record of *F. squamulifera* from Brazil. **Phytotaxa**, v. 358, n. 1, p. 67–75, 2018.

STAMATAKIS, Alexandros. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. **Bioinformatics (Oxford, England)**, v. 30, n. 9, p. 1312–3, 2014.

VILGALYS, R.; HESTER, M. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. **Journal of Bacteriology**, v. 172, n. 8, p. 4238–4246, 1990.

WEBSTER, John; WEBER, Roland. **Introduction to Fungi**. [s.l.]: Cambridge University Press, 2007.

ZHAO, Xin; LEAVITT, Steven; ZHAO, Zun; *et al.* Towards a revised generic classification of lecanoroid lichens (Lecanoraceae, Ascomycota) based on molecular, morphological and chemical evidence. **Fungal Diversity**, v. 78, n. 1, p. 293–304, 2016.

ZOLLER, Stefan; SCHEIDEGGER, Christoph; SPERISEN, Christoph. Pcr Primers for the Amplification of Mitochondrial Small Subunit Ribosomal DNA of Lichen-forming Ascomycetes. **The Lichenologist**, v. 31, n. 5, p. 511–516, 1999.