

UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CÂMPUS DE BOTUCATU

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS

**APLICABILIDADE TAXONÔMICA DE VARIAÇÕES ANATÔMICAS EM
FUNGOS LIQUENIZADOS**

SUZANA BISSACOT BARBOSA

Tese apresentada ao Instituto de
Biotecnologia, Câmpus de Botucatu, UNESP,
para obtenção do título de Doutor em
Ciências Biológicas (Botânica), AC:
Morfologia e Diversidade Vegetal

BOTUCATU – SP

-2009-

UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CÂMPUS DE BOTUCATU

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

**APLICABILIDADE TAXONÔMICA DE VARIAÇÕES ANATÔMICAS EM FUNGOS
LIQUENIZADOS**

SUZANA BISSACOT BARBOSA

PROF DR MARCELO PINTO MARCELLI

ORIENTADOR

Tese apresentada ao Instituto de
Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP,
para obtenção do título de Doutor em
Ciências Biológicas (Botânica), AC:
Morfologia e Diversidade Vegetal

BOTUCATU – SP

-2009-

*O que
parece dificuldade
é um degrau para o sucesso*

Agradecimentos

Ao CAPES pela bolsa concedida durante a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Marcelo Pinto Marcelli pela orientação, pelos ensinamentos, pela tolerância e incentivo nos momentos difíceis e por me ensinar a desempenhar um trabalho de forma responsável e independente.

À coordenação do curso de Pós-Graduação em Ciência Biológicas – Botânica e ao departamento de Botânica, pela infra-estrutura oferecida.

À profa. Sílvia Rodrigues Machado, sempre presente durante minha formação, por estar sempre me incentivando, pelas oportunidades, ensinamentos e amizade.

À profa. Rita de Cássia Síndrônia Maimoni-Rodella e ao prof. Roberto Antônio Rodella por todas as oportunidades, por acreditarem em minha capacidade, por sempre me incentivarem e por sempre estarem disponíveis para compartilhar todo o seu conhecimento.

Ao prof. Luiz Roberto Hernandes Bicudo por acompanhar meu crescimento como pesquisadora e professora desde a época da graduação, por sempre me incentivar e acreditar em meu trabalho.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação, Sérgio, Luciene, Maria Helena e Erivaldo por todo o auxílio prestado durante esses anos e por estarem sempre dispostos a nos atender.

Aos funcionários do departamento de Botânica, Kleber, Inara e Adriana por estarem sempre disponíveis, por todos os auxílios prestados durante todos esses anos.

Aos técnicos do Centro de Microscopia Eletrônica da UNESP/Botucatu, Nivalde, Maria Helena e Claudete, pelo auxílio durante os estudos de microscopia eletrônica de varredura.

À Tatiana Maria Rodrigues por sua grande amizade, e por estar sempre disponível em ajudar em tudo o que for preciso, pelas conversas e incentivo.

Às amigas do departamento de Botânica, em especial à Shelly, Juliana, Yve e Letícia, por toda ajuda durante o desenvolvimento do meu trabalho.

Aos amigos líquenólogos, Adriano, Luciana, Patrícia, Michel, Iane e Marcos, pela disponibilidade em tirar minhas dúvidas, pela amizade e pelo material disponibilizado para a realização deste.

Em especial ao meu marido Rodrigo, por nunca, em hipótese alguma, me deixar desistir de alcançar meus objetivos, nem nos momentos mais difíceis; por estar sempre ao meu lado, me incentivando e me ajudando a ser uma pessoa melhor. E aos meus queridos e lindos filhos, Luiza e Pedro por serem a alegria e razão da minha vida. Amo vocês.

Suzana Bissacot Barbosa

SUMÁRIO

RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
1. INTRODUÇÃO GERAL	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	03
2.1 ASPECTOS MORFOLÓGICOS E ANATÔMICOS DOS LIQUENS	10
2.2 DESENVOLVIMENTO DO TALO, DEFINIÇÕES E TIPOS DE PLECTÊNQUIMAS	13
2.3. QUÍMICA DOS LIQUENS	19
2.4. A FAMÍLIA <i>PARMELIACEAE</i>	21
2.4.1. CONSIDERAÇÕES SOBRE A DEFINIÇÃO DE EPICÓRTEX	24
2.4.2. ESTUDOS FILOGENÉTICOS E MOLECULARES	27
ARTIGO 1 - Morfoanatomia comparada do talo de espécies de <i>Punctelia</i> (<i>Parmeliaceae</i> , Ascomycota liquenizados) e sua aplicação taxonômica	31
ARTIGO 2 - Morfoanatomia comparada do talo de espécies de <i>Parmotrema</i> (<i>Parmeliaceae</i> , Ascomycota liquenizados) com máculas reticulares	58
ARTIGO 3 - Morfoanatomia comparada do talo de três espécies de <i>Parmotrema</i> (<i>Parmeliaceae</i> , Ascomycota liquenizados) com rizinas dimórficas	81
ARTIGO 4 - Morfoanatomia comparada do talo de espécies de <i>Parmotrema</i> s. str. (<i>Parmeliaceae</i> , Ascomycota liquenizados)	99
CONSIDERAÇÕES FINAIS	125
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	128
ANEXO 1 - PROTOCOLO DE DESCRIÇÃO MORFOLÓGICA	139

BARBOSA, S.B. - **APLICABILIDADE TAXONÔMICA DE VARIAÇÕES ANATÔMICAS EM FUNGOS LIQUENIZADOS**. 2009. 140P. TESE (DOUTORADO) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.

RESUMO - Utilizando técnicas convencionais para estudos histológicos em microscopia de luz com auxílio de luz polarizada o presente trabalho tem como proposta estudar e delinear o padrão da anatomia do talo de espécies brasileiras de fungos liquenizados de dois gêneros da família *Parmeliaceae*: *Punctelia* e *Parmotrema* s.l. (incluindo espécies dos antigos gêneros *Rimelia* e *Canomaculina*) procurando por parâmetros que sirvam de subsídios à taxonomia desses grupos, além de acrescentar informações com relação aos caracteres observados. Os estudos anatômicos mostraram-se bastante eficazes na delimitação de espécies crípticas, principalmente através da análise da morfologia e ontogenia de estruturas de reprodução direta. Além disso, contribuiu para o entendimento da ontogenia de estruturas como pseudocifelas, e diferenciação e delimitação de estruturas como lóbulos, isídios e sorais. Este estudo permitiu concluir que as características anatômicas do córtex superior e do córtex inferior são constantes para os grupos estudados e possuem valor taxonômico para esses subgrupos da família *Parmeliaceae*. O córtex superior de *Parmotrema* s.str. pode ser caracterizado por possuir células mais alongadas com hifas compactadas e interstícios entre as hifas; o córtex de *Parmotrema* com máculas reticulares é caracterizado pela presença de máculas que originam quebras e hifas menos compactadas; o córtex do grupo de *Parmotrema* com rizinas dimórficas é caracterizado por possuir células menos alongadas, quase arredondadas, sem interstícios ou quebras mas acompanhados por aeroplectênquima, além disso o epicórtex nesse grupo de espécies é bem mais aderido ao córtex superior e possui coloração diferencial com azul de toluidina. Já em *Punctelia*, gênero considerado bem delimitado e grupo irmão de *Parmotrema*, o córtex é paraplectenquimático e bem distinto do córtex dos outros grupos de espécies estudados. Este estudo mostrou que essas características podem ser utilizadas na circunscrição de gêneros ou ao menos subgêneros.

Palavras-chave: aeroplectênquima, anatomia, histologia, *Canomaculina*, *Punctelia*, *Parmotrema*, *Rimelia*, *Parmeliaceae*

BARBOSA, S.B. - **APPLICABILITY TAXONOMY OF ANATOMICAL VARIATIONS IN LICHENIZED FUNGI**. 2009. 140P. TESE (DOUTORADO) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.

ABSTRACT - Conventional techniques for structural studies under conventional microscopy and polarizing light microscopy were employed to study and outline the pattern of thallus anatomy of Brazilian species of lichenized fungi of two genera of the family *Parmeliaceae*: *Punctelia* e *Parmotrema* s.l. (including species of the old genera *Rimelia* e *Canomaculina*) looking for parameters used as subsidies to the taxonomy of these groups, besides to add information regarding the characteristics observed. The anatomical studies were very effective in the delineation of sibling species, mainly through the analysis of morphology and ontogeny of vegetative propagules. In addition, it contributed to the understanding of the structures ontogeny such as pseudocyphellae, and differentiation and delineation of structures such as lobules, isidia and soralia. This study concluded that the anatomical characteristics of the upper cortex, lower cortex and rhizines are constant for the studied groups and have taxonomic value for these subgroups of family *Parmeliaceae*. The upper cortex of *Parmotrema* s.str. can be characterized by more elongated cells with compressed hyphae and interstices between hyphae; the upper cortex of *Parmotrema* with reticulate maculae is characterized by the presence of macules causing breaks and less compacted hyphae; the upper cortex of *Parmotrema* with dimorphic rhizinae is characterized by having less elongated cells, almost round, without interstices or breaks but accompanied by aeroplectenchyma, furthermore the epicortex in this group of species is much more adherent to the upper cortex and has differential staining with toluidine blue. In *Punctelia*, considered well-defined genera and sister group of *Parmotrema*, the upper cortex is paraplectenchymatous and clearly distinct from the cortex of other groups of species studied here. This study indicates that these characteristics could be used in the circumscription of genera, or at least subgenera.

Key words: aeroplectenchyma, anatomy, histology, *Canomaculina*, *Punctelia*, *Parmotrema*, *Rimelia*, *Parmeliaceae*

INTRODUÇÃO GERAL

A anatomia vegetal tem sido uma importante ferramenta para a taxonomia, fornecendo novos caracteres para a correta identificação das espécies (Cutler and Gregory 1998, Judd et al. 1999, Meira and Martins 2003, Metcalfe 1987, Metcalfe and Chalk 1950, 1979, 1983, Solereder 1908, Stace 1989).

Estudos de anatomia com enfoque taxonômico em vegetais superiores são comuns e em geral revelam bons resultados para a separação de espécies (Dickison 1975, Fryns - Claessens and Van Cotthem 1973, Metcalfe and Chalk 1979, 1983, Solereder 1908, Van Cotthem 1973, White 1974).

O estudo da anatomia vegetal é de fundamental importância para o conhecimento dos processos fisiológicos das plantas, a formulação de projetos de ecologia, os estudos de taxonomia vegetal, o entendimento das relações filogenéticas entre os diferentes táxons e a compreensão do uso farmacológico das plantas (Souza 2003).

Além disso, segundo Bezerra e Fernandes (1989), embora as características morfológicas constituam aspecto básico na caracterização e ordenação dos organismos, devido à facilidade de reconhecimento, análise e comparação, quando os dados anatômicos são adicionados aos morfológicos são de considerável importância no estabelecimento dos táxons em geral, principalmente nos casos mais duvidosos de delimitação de gêneros e separação de espécies.

Na associação líquênica, fungo e fotobionte só podem ser reconhecidos quando o talo é seccionado e analisado ao microscópio de luz ou eletrônico (Hale 1983).

Em cultura, as hifas dos fungos liquenizados são iguais às dos fungos não liquenizados, isto é, são septadas e possuem poros típicos que fazem a comunicação citoplasmática entre as células adjacentes. Em simbiose, no entanto, as hifas variam consideravelmente em aparência e são modificadas de acordo com sua localização (Hale 1983).

Embora os estudos citológicos e anatômicos envolvendo fungos líquênicos sejam tradicionalmente considerados difíceis de serem realizados (Ozenda 1963), vários autores têm provado que os caracteres anatômicos possuem valor taxonômico em muitos grupos de líquens (Bowler 1981, Kärnefelt 1986, Moberg 1977, Modenesi and Vanzo 1986, Modenesi 1987).

O conceito morfológico tradicional da família *Parmeliaceae* inclui líquens foliosos ou fruticosos, com fotobionte trebouxíóide, presença de córtices superior e inferior, usualmente com rizinas, ascoma lecanorino, paráfises ramificadas, ascósporos hialinos não-septados, e conidiomas picnidiais (Kirk et al. 2001). Contudo, Crespo et al. (2007) consideram que o conceito filogenético atual inclui gêneros que não são consistentes com esse critério, já que os caracteres morfológicos são úteis apenas quando caracterizam e identificam grupos monofiléticos; além disso, a interpretação da diversidade morfológica encontrada dentro da família é muito superficial sendo claramente necessárias investigações mais detalhadas acerca da distribuição e do desenvolvimento de importantes características morfológicas, simultaneamente a estudos moleculares.

Nos últimos anos, vários estudos moleculares e filogenéticos têm sido realizados com gêneros da família *Parmeliaceae* e alguns desses gêneros foram recentemente combinados com bases em evidências morfológicas e/ou moleculares (Blanco et al. 2004a/b, Blanco et al. 2005, Crespo et al. 2007, Divakar et al. 2006, Elix 1997, 2003, Hawksworth and Crespo 2002). Entre eles, os gêneros *Rimelia* e *Canomaculina* foram sinonimizados com o grande gênero *Parmotrema*. O gênero *Punctelia*, grupo irmão de *Parmotrema*, tem sido considerado um gênero bem delimitado (Blanco et al. 2005).

Resultados obtidos anteriormente por Barbosa (2004) a partir de estudos anatômicos em quatro espécies de gêneros distintos da família *Parmeliaceae* demonstraram alto potencial de aplicação taxonômica dos caracteres anatômicos em líquens da família. Através de secções transversais analisadas em microscópio de luz, foram detectadas diferenças significativas no padrão de organização das hifas nos diferentes estratos do talo dessas espécies, principalmente no padrão do córtex superior.

O presente trabalho tem como proposta estudar e delinear o padrão da anatomia do talo de espécies brasileiras de fungos liquenizados de dois gêneros da família *Parmeliaceae*: *Punctelia* e *Parmotrema* s.l. (incluindo espécies dos antigos gêneros *Rimelia* e *Canomaculina*) procurando por parâmetros que sirvam de subsídios à taxonomia desses grupos, além de acrescentar informações com relação aos caracteres observados.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os fungos liquenizados são aqueles encontrados quase exclusivamente em associação simbiótica com organismos fotossintetizantes (algas ou cianobactérias) (Hawksworth et al. 1995). Aproximadamente 20% das espécies de fungos conhecidas são encontradas na natureza na forma liquenizada (Marcelli 2006).

A liquenização é considerada uma estratégia nutricional dos fungos, assim como o parasitismo ou o saprofitismo (Crespo et al. 2006). Assim, deve-se considerar que um líquen é um fungo, ainda que se associe de forma permanente a outro organismo (Hawksworth and Hill 1984). Por isso, no momento de sua classificação, os líquens se enquadram na sistemática dos fungos e seu nome científico corresponde ao do micobionte de acordo com o Código Internacional de Nomenclatura Botânica (Crespo et al. 2006, Marcelli 2006).

A grande maioria dos fungos liquênicos (98%) são ascomicetes, e 46% dos ascomicetes são liquenizados. A maioria dos 2% de líquens restantes são basidiomicetes, e apenas alguns poucos micobiontes são deuteromicetes (Marcelli 2006, Nash 2008).

Os caracteres utilizados para os estudos sistemáticos de líquens se referem aos do micobionte, já que os líquens estão integrados no sistema de classificação dos fungos (Crespo et al. 2006, Eriksson 2002). São utilizados desde os caracteres morfológicos, caracteres relativos ao hábito, formas de organização e padrão de crescimento, compostos químicos, caracteres ecológicos e geográficos, até dados moleculares (Crespo et al. 2006, Poelt 1973).

Os conceitos taxonômicos e sistemáticos aplicados ao estudo dos líquens refletem os métodos contemporâneos de estudo. Linné (1753) incluiu todas as espécies de líquens conhecidas naquela época em um único gênero *Lichen*. Algumas décadas depois Acharius (1803, 1810, 1814) elaborou o primeiro sistema de classificação considerando os líquens como um grupo separado.

Caracteres relativos ao hábito, formas de organização e padrão de crescimento do talo, tipos de corpos de frutificação e cor eram utilizados para a separação dos táxons nos primeiros sistemas de classificação (Lücking and Herreira-Campos 2006).

A utilização da microscopia de luz aplicada aos estudos liquenológicos teve seu início apenas no século XVII. Entretanto somente em 1860 Schwendener apresentou um estudo apurado das estruturas internas de vários líquens fruticosos a partir da utilização da microscopia de luz (Hale 1976a).

Caracteres como a anatomia dos ascomas e tipos de ascósporos passaram a ter maior importância na separação dos táxons nos estudos realizados por Fée, Massalongo, Krempelhuber, Müller Argoviensis e Vainio (Lücking and Herreira-Campos 2006). Atualmente os caracteres do asco e ascósporos têm fundamentado a maioria dos reagrupamentos genéricos e atuais conceitos de famílias (Crespo et al. 2006, Hawksworth and Sherwood 1981, Hawksworth et al. 1995).

Com o aperfeiçoamento dos sistemas de observação, através da utilização de microscopia de luz e microscopia eletrônica de transmissão e varredura, as observações morfológicas dos microcaracteres têm mostrado grande potencial de aplicabilidade taxonômica em muitos grupos de líquens (Crespo et al. 2006). Estudos relacionados à estrutura superficial dos líquens e sua organização interna, além dos recentes estudos filogenéticos e moleculares, podem oferecer caracteres adicionais para a revisão dos conceitos em sistemática ao nível de gênero e família (Hale 1976a).

Como consequência, os conceitos de família e de gêneros e suas circunscrições têm sofrido mudanças recentes e estão sujeitos a controvérsias de acordo com as opiniões particulares dos especialistas na área (Crespo et al. 2006).

Em relação ao nível de espécie, a sistemática tem-se baseado em informações morfológicas ou químicas, incluindo a anatomia dos tecidos corticais, a presença ou ausência do córtex, as características das rizinas e cílios, além dos tipos de propágulos vegetativos (Crespo et al. 2006).

A anatomia do córtex superior é considerada um caráter taxonômico válido em muitos grupos de líquens e utilizada da delimitação de famílias como em *Pyxinaceae* [*Physciaceae*] (Moberg 1977) e *Ramalinaceae* (Bowler 1981), na distinção de gêneros como em *Bryocaulon*, *Coelocaulon* e *Cornicularia* (Kärnefelt 1986), *Parmelia* e *Punctelia* (Modenesi 1987) e ainda para separação de espécies como *Parmelia saxatilis* e *P. caperata* (Modenesi and Vanzo 1986). Moberg (1977) utilizou as diferenças do córtex superior existentes entre as espécies de *Physciaceae* para distinguir *Physconia grisea* das outras espécies de *Physconia*. Os gêneros *Anaptychia* e *Physconia* foram separados com bases em diferenças na estrutura do córtex superior que pode ser composto por hifas alongadas formando um prosoplectênquima ou ser composto por células isodiamétricas formando um paraplectênquima.

Os gêneros da família *Ramalinaceae* também podem ser separados de acordo com o tipo de organização celular do córtex. Em *Ramalina*, *Trichoramalina* e *Fistulariella* o córtex é biestratificado, composto de uma camada externa de espessura variável e de uma camada

interna de tecido mecânico periclinalmente arranjado. Em *Dievernina* e *Ramalinopsis* o córtex é uniestratificado e falta o tecido mecânico; já nas espécies de *Niebla* o córtex é dividido em três camadas distintas (Bowler 1981).

Anglesea et al. (1982) estudaram os aspectos do córtex superior enfocando o arranjo das hifas, em quatro espécies de fungos liquenizados: *Parmelia saxatilis*, *Xanthoria parietina*, *Hypogymnia physodes* e *Lecanora muralis*. Através da remoção da matriz interhifal os autores puderam observar o arranjo das hifas do córtex superior das espécies estudadas e constatarem a existência de padrões distintos de ramificação das hifas da última camada do córtex superior e padrões distintos de crescimento das hifas dessa camada, os resultados obtidos indicam a possível utilização dessas características para a compreensão do crescimento talino dos líquens e das relações taxonômicas.

Vários outros estudos foram realizados com líquens de diferentes famílias através da utilização não só da microscopia de luz como também da microscopia eletrônica de transmissão (MET) e varredura (MEV) (Beltman 1978; Hale 1972, 1973, 1976a, 1981; Hawksworth 1969; Hannemann 1973; Henssen and Jahns 1974; Jacobs and Ahmadjian 1969; Moreau 1928; Ozenda 1963).

M. E. Hale utilizou a MEV em seus trabalhos de rearranjo da família *Parmeliaceae* e monografias dos diversos gêneros desde a década de 60 até a década de 90 (Hale 1965, 1972, 1973, 1974a-d, 1975a-b, 1976b-e, 1981, 1984a, 1985, 1990).

Em 1973, Hale publicou um trabalho importante sobre a estrutura fina do córtex na família *Parmeliaceae* onde 123 espécies de 12 gêneros da família foram analisadas através da MEV. Foram encontrados dois tipos gerais de córtex superior: um consistindo de hifas expostas e outro caracterizado por hifas cobertas por um fino epicórtex constituído por polissacarídeos. As espécies com epicórtex foram subdivididas em dois grupos: um grupo com epicórtex contínuo e compacto e outro com epicórtex porado. O tipo de epicórtex foi considerado um caráter constante ao nível de gênero e de seção e útil na taxonomia da família. Através da observação da presença ou ausência do epicórtex com poros foi possível reorganizar várias espécies da família em subgêneros mais apropriados (Hale 1973).

Em 1972 *Parmelia formosana* foi separada de *P. pustulifera* através do estudo do tamanho dos poros epicorticais (Hale 1972).

Krog (1973) detectou diferenças óbvias em relação à superfície superior do talo e tamanho das papilas corticais entre duas espécies de *Umbilicariaceae* (*Umbilicaria papulosa* e *U. pustulata*), redimensionando as espécies em estudo.

Beltman (1978) re-examinou um grande número de órgãos vegetativos e estruturais em *Parmeliaceae* através da utilização de MEV. A autora levantou algumas questões sobre as conclusões dos trabalhos realizados anteriormente e apresentou suas próprias conclusões para os resultados encontrados. A autora também considerou o grande potencial e significado taxonômico das estruturas vegetativas na sistemática da família, como os diferentes tipos de rizinas e cílios que podem ser encontrados.

Sancho e Balaguer (1989) realizaram um estudo comparado da anatomia do talo de quatro espécies do gênero *Lasallia* Mérat (*Umbilicariaceae*) enfocando o desenvolvimento das pústulas encontradas no talo. As pústulas se comportam como estruturas dinâmicas cuja anatomia evolui durante seu desenvolvimento, apresentando características próprias de acordo com o estado de maturidade e funcionalidade.

Valladares (1994) estudou a textura da superfície superior do talo e suas relações higroscópicas em líquens da família *Umbilicariaceae*, analisando a anatomia e espessura do córtex superior através de secções transversais observadas em microscópio de luz e utilizando a MEV para a observação dos aspectos da textura da superfície. Foi observado que o córtex superior das vinte espécies estudadas é constituído por um tecido paraplectenquimático com células isodiamétricas. No entanto, as espécies com a superfície inferior coberta por rizomorfos apresentam córtex superior como uma superfície densa, contínua e delgada; já as espécies com a superfície inferior sem essas estruturas apresentam o córtex superior espesso e descontínuo desenvolvendo uma rede de fissuras que atuam na troca gasosa e absorção de água pelo talo.

Um estudo intensivo em 24 espécies de *Umbilicariaceae* foi realizado por Valladares e Sancho (1995), através da microscopia de luz para avaliar a variabilidade da medula. O estudo mostrou diferenças importantes no grau de coesão das hifas e orientação espacial dentro da medula. Foram analisadas as possibilidades de implicação dessas variações na ecofisiologia do talo e relevância taxonômica da anatomia deste estrato. Foram observados sete tipos de organização medular que puderam ser utilizados como caracteres secundários válidos para a taxonomia da família.

Souza-Egipsy et al. (2000) examinaram três espécies de líquens típicas de regiões semi-áridas através de SEM de baixa temperatura para avaliar os efeitos do método de hidratação na distribuição da água no talo hidratado, na distribuição das substâncias líquênicas e anatomia do talo. As espécies analisadas possuem talo folioso com diferentes estratégias de hidratação, que podem ser observadas através do padrão de distribuição da água

e micro-habitats preferenciais. A grande quantidade de água extracelular dentro do talo, como encontrada em *Xanthoria parietina*, pode ser explicada pelas diferenças de textura e características hidrofílicas do córtex superior. Nesta espécie, o córtex superior é reticulado, com poros, e com grande acúmulo de substâncias liquênicas higroscópicas que absorvem a água. Em contraste, em *Neofuscelia pokornyi* e *N. pulla* a entrada de água ocorre através de fissuras na superfície, as substâncias liquênicas nessas duas espécies ocorrem apenas na camada medular sendo a impermeabilidade do córtex superior relacionada a proteínas hidrofóbicas secretadas pelo fungo.

Barbosa (2004) estudou a anatomia do talo de quatro espécies da família *Parmeliaceae*: *Parmotrema tinctorum*, *Rimelia cetrata*, *Canoparmelia texana* e *Parmelinopsis minarum*. Através de secções transversais analisadas em microscópio de luz foram detectadas diferenças significativas no padrão de organização das hifas nos diferentes estratos do talo dessas espécies, principalmente no padrão do córtex superior. *Parmotrema tinctorum* e *R. cetrata* possuem o mesmo tipo de organização celular, com variações em espessura, considerado como sendo prosoplectênquimas paliçádicos caracterizados por células pequenas de paredes espessadas. O córtex superior de *C. texana* e *P. minarum* não possui organização plectenquimática. O córtex superior em *C. texana* é lacunoso com cavidades intercelulares grandes e freqüentes. O córtex superior em *P. minarum* não é considerado como sendo um tecido, já que é um arranjo descontínuo de hifas.

Em taxonomia de líquens, caracteres de desenvolvimento foram principalmente estudados pelas escolas de Maurice Chadeaud e Aino Henssen (Döring and Lumbsch 1998). O primeiro trabalho usando caracteres ontogenéticos para a revisão de famílias foi publicado em 1963 por Henssen (apud Döring and Lumbsch 1998).

A ontogenia do ascoma tem sido estudada por mais de um século, a partir do descobrimento do ascogônio por Stahl em 1877 (Hannemann 1973); no entanto, o uso dos caracteres ontogenéticos na sistemática dos ascomicetes não começou antes do trabalho básico de Nannfeldt (1932 apud Hannemann 1973).

Em 1966, Letrouit-Galinou publicou um trabalho sobre ontogenia e anatomia de apotécios de discolíquens. Em 1970 Janex-Favre publicou um trabalho sobre ontogenia e organização dos ascos em pirenolíquens.

Exemplos bem conhecidos de entidades naturais caracterizadas principalmente por sua ontogenia incluem as *Parmeliaceae*, com excípulo meristemático cupulado (Henssen and

Jahns 1973), e *Peltigeraceae*, com um tipo especial de ontogenia do ascoma (Letrouit-Galinou and Lallement 1971).

Segundo Döring e Lumbsch (1998), apesar dos estudos relacionados ao desenvolvimento do ascoma em numerosos grupos de líquens terem ajudado a circunscrever entidades naturais (Henssen and Jahns 1974, Letrouit-Galinou and Bellemère 1989) e apesar da ontogenia ter ocupado maior importância na classificação proposta por Henssen e Jahns em 1973, os caracteres ontogenéticos são raramente utilizados por outros autores.

Alguns autores criticaram a utilização de caracteres ontogenéticos na sistemática (Hammer 1993), ou ainda discutiram sobre seu uso limitado (Letrouit-Galinou and Bellemère 1989). No entanto, estudos têm mostrado a aplicação desses grupos de caracteres na sistemática da família *Agyriaceae* (Döring and Lumbsch 1998, Lumbsch et al. 1995, Lumbsch 1997), circunscrita principalmente pelo tipo de asco (Döring and Lumbsch 1998). O gênero *Xylographa* Fr. difere de outros da família por possuir apotécio lireliforme, enquanto os outros gêneros possuem apotécio orbicular; no entanto, através dos estudos realizados foi possível observar que o tipo de asco e o desenvolvimento do ascoma estão de acordo com o padrão observado para a família *Agyriaceae*. Em oposição, a ontogenia do ascoma encontrado em *Anamylospora pulcherrima* (Vain.) Timdal, classificada em *Agyriaceae* por Hafellner e colaboradores (1993 apud Döring and Lumbsch 1998), é bem distinta dos padrões observados em *Agyriaceae* (Döring and Lumbsch 1998, Lumbsch et al. 1995).

A aplicação dos caracteres ontogenéticos foi utilizada também na distinção de famílias como *Candelariaceae* e *Lecanoraceae* (Döring and Lumbsch 1998). Os caracteres anatômicos e ontogenéticos confirmam a inclusão de *Candelariaceae* em *Lecanoraceae*, já que o desenvolvimento do ascoma e a anatomia do apotécio maduro em *Candelaria fibrosa* mostram o mesmo tipo de padrão observado em *Lecanora* Ach., além disso, o tipo de conidióforo é idêntico em ambas as famílias (Döring and Lumbsch 1998). Os autores consideram que o desenvolvimento do ascoma e a estrutura do asco formam grupos de caracteres morfológicos chave para a classificação dos *Ascomycetes*.

Em 2005, Tetriach et al. publicaram um trabalho sobre a ontogenia dos isídios e seu efeito na troca de CO₂ e sua influência na capacidade assimilativa do talo de *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf.

Trabalhos recentemente desenvolvidos pelo Grupo de Estudos Liquenológicos (GEL) do Instituto de Botânica, em São Paulo, têm mostrado claramente como o estudo da ontogenia dos caracteres vegetativos ou de reprodução direta, tais como sorais, isídios e pústulas, podem

ser efetivamente utilizados na separação de espécies de *Parmeliaceae*. Muitas espécies têm sido criadas e várias retiradas de sinonímia devido a diferenças no desenvolvimento dessas estruturas, que normalmente estão associadas a diferenças químicas e/ou do tamanho dos esporos e outras características (Canêz 2005, Benatti 2005, Spielmann 2005, Jungbluth 2006, Marcelli et al. 2007).

2.1 ASPECTOS MORFOLÓGICOS E ANATÔMICOS DOS LIQUENS

O corpo do líquen (o conjunto de fungo e alga) é tradicionalmente denominado talo, pois é destituído de caules e folhas. Grande parte do talo (mais de 95% do volume do líquen) é formada pelo fungo e, na maioria dos casos, o fotobionte é responsável por apenas 5 a 15% do talo (Marcelli 2006).

Tanto o micobionte quanto o fotobionte (algas ou cianobactérias) perdem sua identidade morfológica e anatômica, e fungo e alga só podem ser reconhecidos quando o talo é seccionado e analisado ao microscópio de luz ou eletrônico (Hale 1983).

Os talos dos liquens se apresentam sob muitos aspectos (hábitos) que são típicos para cada espécie, embora não caracterizem grupos taxonômicos (Marcelli 2006). As várias formas encontradas são caracterizadas por um arranjo particular das camadas corticais, de alga e medula, e possuem diferentes maneiras de adesão ao substrato (Hale 1983).

Existem grandes variações nos hábitos dos liquens de acordo com as relações existentes entre micobionte e fotobionte. Em algumas espécies, o talo primitivo consiste em um micélio do fungo envolvendo alguns grupos de algas espalhadas pelo substrato. Este tipo de talo simples e anatomicamente pouco estruturado é chamado homômero e é característico de alguns gêneros crostosos e de alguns liquens foliosos onde o fotobionte é uma cianobactéria do gênero *Nostoc* (Hale 1983). O talo da maioria dos liquens apresenta estrutura estratificada, é dividido em camadas distintas, com as células de algas restritas a uma camada particular no talo, e é conhecido como talo heterômero, presente nas espécies foliosas como as da família *Parmeliaceae* (Jahns 1973).

A morfologia dos talos foliosos é muito variável quanto à dimensão, a consistência e o grau de relacionamento com o substrato. A estrutura anatômica apresenta certa unidade, já que o talo folioso normalmente é estratificado e constituído por quatro partes: um córtex

superior denso, uma camada de algas, uma medula constituída por hifas frouxamente arranjadas e um córtex inferior denso, com ou sem estruturas de fixação (Ozenda 1963).

Segundo Sanders (2001), a anatomia de muitos macroliquens apresenta semelhanças à estrutura das plantas, que são uma convergência anatômica relacionada à adaptação de um órgão folioso à fotossíntese, ocorrendo paralelamente em dois tipos de organismos totalmente diferentes.

Um corte transversal do talo de um líquen folioso típico mostra uma organização de tecidos comparável ao de uma folha (Sanders 2001). O córtex de tecido fúngico, como a epiderme foliar, protege as células fotossintéticas subjacentes de irradiação excessiva ou nociva, provavelmente por meio de pigmentos e compostos secundários (Hale 1983, Rikkinen 1995). Entretanto, o córtex liquênico não apresenta uma barreira impermeável à difusão de água, como é o caso na epiderme vegetal dotada de cutícula. Ao contrário, as superfícies do líquen têm de funcionar na absorção de água bem como de luz. O córtex liquênico saturado impede a difusão de CO₂ para a camada de algas; por isso, os macroliquens são geralmente providos de perfurações no córtex, as cifelas, pseudocifelas ou microporos epicorticais (Hale 1981). De maneira análoga aos estômatos, essas perfurações facilitam a troca gasosa (Green et al. 1981), mas não podem ser reguladas para conservar água como aqueles. Nos liquens, o movimento de água e CO₂ ocorre sem controle ativo. O talo liquênico é pecilohídrico, sobrevivendo às secas diárias e sazonais por tolerância fisiológica à dessecação e não por conservar água (Hale 1983, Sanders 2001).

Os córtices superior e inferior são constituídos por hifas compactadas, com diferentes padrões de orientação e espessura de parede. Essas hifas normalmente contêm substâncias liquênicas específicas, como pigmentos e outras substâncias coloridas, e possuem função de proteção (Purvis 2000). A espessura do córtex pode variar em diferentes gêneros de liquens e nem sempre a camada forma um estrato contínuo; em alguns gêneros o córtex pode se quebrar por fissuras ou pode se tornar mais fino nas partes mais próximas às algas (Jahns 1973).

A anatomia do córtex inferior pode diferir daquela encontrada no córtex superior de uma mesma espécie (Jahns 1973). Nas espécies onde o córtex inferior está presente podem existir estruturas de fixação do líquen ao substrato, como as rizinas, formadas por prolongamentos de hifas compactadas (Purvis 2000).

O formato das células externas do córtex pode influenciar no hábito dos liquens, e a superfície do talo é sempre recoberta por uma cutícula fina e homogênea (Jahns 1973). Em muitas espécies, as células mais externas tornam-se necróticas e dão ao talo a aparência de

descamação. Esses grânulos finos são chamados pruína e acumulam carbonatos e oxalatos (Jahns 1973).

As algas são freqüentemente distribuídas em uma camada distinta diretamente abaixo do córtex superior, como a camada de parênquima paliçádico nas folhas. A troca gasosa nesta camada de atividade fotossintética é facilitada pelos espaços no tecido frouxo da medula subjacente, como ocorre no mesofilo lacunoso da folha (Sanders 2001). No interior da camada de alga o contato entre os componentes da simbiose se estabelece e as relações entre alga e hifa podem variar consideravelmente (Jahns 1973).

Logo abaixo da camada de alga encontra-se a medula, composta por hifas com grande lúmen, fracamente compactadas em comparação com a camada cortical. As linhas das hifas se perdem dentro da camada fibrosa e por isso não evidenciam uma estrutura celular. A medula possui a capacidade de armazenamento de água e substâncias liquênicas e também pode apresentar depósitos de cristais de oxalato de cálcio (Jahns 1973). Alguns estudos têm demonstrado a relevância taxonômica da anatomia desse estrato, que pode mostrar diferenças importantes entre espécies de um mesmo gênero, tanto no grau de coesão das hifas quanto na orientação espacial. Outras características importantes são a existência de mais de uma camada homogênea dentro da medula, a freqüência de ramificação das hifas, a espessura das paredes celulares e lúmen e a abundância de um meio gelatinoso nos espaços intercelulares (Valladares and Sancho 1995).

Uma das características que mais chama a atenção na simbiose liquênica é a produção de uma grande variedade de diásporos vegetativos simbióticos que permitem a dispersão de ambos os simbiontes simultaneamente (Honegger 1998). Assim a simbiose liquênica contorna o problema que os ascósporos encontram para germinar, isto é, encontrar o fotobionte compatível para o estabelecimento do fenótipo simbiótico. Sorédios e isídios são os tipos de diásporos mais freqüentemente produzidos pelos líquens (Tretiach et al. 2005). Todas as estruturas vegetativas são de vital importância nos estudos taxonômicos (Jahns 1973).

2.2 DESENVOLVIMENTO DO TALO, DEFINIÇÕES E TIPOS DE PLECTÊNQIMAS

Após sua dispersão, os esporos dos fungos germinam e produzem hifas que são divididas através de septos em células cilíndricas e com paredes finas. Células de diferentes hifas podem se conectar secundariamente em pontos onde hifas adjacentes se tocam, quando as suas paredes se fundem e são formados poros interconectivos chamados anastomoses. Células conectadas por anastomoses são características de líquens com talo altamente diferenciado (Jahns 1973).

Em líquens com talo sem organização as células do fungo retêm a forma cilíndrica, em líquens com talo diferenciado a forma das células muda de acordo com seu crescimento e diferenciação. Se os septos das hifas se encontram mais próximos, as células parecerão quadradas em secção longitudinal, se os septos forem mais espaçados, as células parecerão retangulares (Jahns 1973).

O talo líquênico pode ser organizado em tecidos constituídos por hifas que se orientam em várias direções e se compactam dando a aparência de organização parenquimática. Este tipo de tecido é conhecido como plectênquima (ou pseudoparênquima), mas em fungos liquenizados a terminologia aplicada aos subtipos de plectênquima ainda não foi padronizada e varia de autor para autor (Barbosa 2004, 2005).

O termo parênquima é entendido aqui em seu sentido biológico, que é, por definição, o tecido originado pela divisão de células em todas as direções do espaço.

Em Anatomia Vegetal, o mesmo termo é utilizado para descrever aqueles parênquimas com células de paredes finas, muitas vezes grandes, isodiamétricas e com funções de preenchimento ou de reserva, interconectadas através de plasmodesmos (Appenzato-da-Glória and Carmello-Guerreiro 2003, Esau 1977, Fahn 1990, Mauseth 1988).

O desenvolvimento de um tecido parenquimático verdadeiro em líquens é raro, mas ocorre em alguns poucos gêneros. No estroma de alguns fungos ascoloculares e nos esporos muriformes de alguns gêneros de líquens as células se dividem em três planos distintos, característica dos parênquimas verdadeiros. Porém, com exceção desses casos especiais, todos os tecidos líquênicos são plectênquimas em origem, isto é, a célula se divide em uma única direção formando filamentos celulares: as hifas (Jahns 1973).

A nomenclatura dos tipos de plectênquimas aplicados aos líquens apresenta certa confusão, devido ao fato de que os mesmos termos são utilizados por certos autores para

definir um tipo morfológico de estrutura enquanto outros autores utilizam o mesmo termo para descrever regiões específicas do talo (Barbosa 2005, Ozenda 1963).

O próprio termo “plectênquima” possui definições diferentes de acordo com os diversos autores. Um plectênquima pode ser considerado como sendo desde um falso tecido formado por hifas entrelaçadas até um tecido formado pela compactação das hifas (Barbosa 2005).

As divergências entre as definições dos autores levam a problemas conceituais que interferem clara e diretamente na descrição técnica das diferentes camadas anatômicas existentes nos líquens (Barbosa 2005).

O termo plectênquima foi inicialmente utilizado por Lindau (1888) para descrever os micélios formados por hifas, ou filamentos celulares das algas, ou ainda para definir os falsos tecidos das talófitas.

Posteriormente o termo foi definido por P. Font-Quer (1953) como sendo o tipo de falso-tecido próprio dos fungos.

Ozenda (1963) utilizou o termo plectênquima para descrever os tecidos formados por filamentos celulares das talófitas em oposição aos tecidos verdadeiros, ou parênquimas dos vegetais superiores.

Jahns (1973) considerou que as hifas dos plectênquimas podem ser fracamente entrelaçadas, interconectadas por anastomoses ou firmemente compactadas.

Ferri (1978) utilizou o termo para descrever os falsos tecidos que formam o corpo dos fungos, pelo entrelaçamento de suas hifas, ou de uma alga pela reunião das células vizinhas.

Segundo o "Dictionary of the Fungi" (Hawksworth et al. 1995) plectênquima é um tecido compacto formado por hifas que se tornam entrelaçadas e compactadas.

Guerreiro & Silveira (1996) definiram plectênquima como sendo um termo geralmente empregado para designar os tipos de tecidos dos fungos.

Galloway (1999) considerou plectênquima como um tecido espesso formado por hifas que se tornam entrelaçadas e compactadas.

As várias definições aplicadas ao termo plectênquima desde falso tecido até tecido verdadeiro foram sumarizadas nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1: Definições de plectênquima como falso tecido

PLECTÊNQUIMA → FALSO TECIDO	
P. Font-Quer (Diccionario de Botanica, 1953)	falso tecido próprio dos fungos
P. Ozenda (Lichens: Traité d'anatomie végétale, 1963)	falsos tecidos formados por filamentos celulares das talófitas (plectênquimas de hifas livres e plectênquimas hifas compactadas)
H. M. Jahns (Anatomy, morphology and development. In: The Lichens, 1973)	hifas fracamente entrelaçadas, interconectadas por anastomoses ou firmemente compactadas
M. G. Ferri et al. (Glossário ilustrado de Botânica, 1978)	falsos tecidos que formam o corpo dos fungos, pelo entrelaçamento de suas hifas, ou de uma alga pela reunião das células vizinhas

Tabela 2: Definições de plectênquima como tecido verdadeiro

PLECTÊNQUIMA → TECIDO	
D. L. Hawksworth et al. (Dictionary of the Fungi, 1995)	tecido compacto formado por hifas que se tornam entrelaçadas e compactadas
R. T. Guerreiro & M. B. Silveira (Glossário ilustrado de fungos, 1996)	um termo geralmente empregado para designar os tipos de tecidos dos fungos
D. J. Galloway (Lichen Glossary, 1999)	tecido espesso formado por hifas que se tornam entrelaçadas e compactadas

Ao se entender plectênquima como sendo um falso-tecido formado por hifas entrelaçadas, é obrigatório considerar que todas as camadas liquênicas são formadas por tipos de plectênquimas distintos. No entanto, ao se assumir que um plectênquima é um tipo de tecido formado pela compactação das hifas, não é possível considerar que a medula seja formada por um tipo de plectênquima, já que é caracterizada por hifas frouxamente arrançadas. Pela definição básica de tecido (Mauseth 1988) as células são necessariamente posicionadas lado a lado, o que não ocorre nesse caso (Barbosa 2005).

A estrutura e o desenvolvimento dos plectênquimas dependem da forma das células e do tipo particular de contato entre elas, da aderência e gelatinização das paredes celulares e da formação de anastomoses. As hifas podem estar numa disposição paralela, resultando em um

arranjo fastigiado, ou serem irregulares produzindo um tecido entrelaçado. Nos líquens, o arranjo mais comum de tecido é uma estrutura em forma de rede composta por hifas ramificadas e anastomosadas. As células deste tecido normalmente possuem lúmen angular ou irregular (Jahns 1973).

Referindo-se justamente ao termo plectênquima, Dughi (apud Ozenda 1963) também relatou as dificuldades relacionadas ao estabelecimento de uma classificação para os tipos de tecidos dos líquens, já que ele é aplicado a todos os “falsos tecidos” das talófitas e àqueles encontrados na histologia dos líquens, incluindo os tecidos que se assemelham aos tecidos dos vegetais superiores (paraplectênquima e prosoplectênquima).

Assim, a terminologia usada para descrever os tecidos das plantas vasculares deveria ser revisada primeiro, já que exerce uma grande influência nos termos usados pelos liquenologistas (Hale 1976a).

As plantas superiores são formadas por tecidos celulares distintos, que diferem em ontogenia, histologia e fisiologia. Líquens consistem primariamente de hifas de fungos e os seus tecidos são formados ou determinados pela direção predominante de seu crescimento, ramificação, frequência de septação e espessura das paredes celulares (Honegger 2008). As comparações entre os tecidos dos vegetais superiores e os tipos de organização das hifas encontrados nos vários estratos liquênicos, principalmente nos córtices, levam a uma grande variedade de definições dos tipos de plectênquima de acordo com a orientação das hifas e compactação celular. No entanto, os mesmos termos são aplicados para definirem tipos de organizações celulares bastante distintos.

Ozenda (1963) classificou os plectênquimas de acordo com o grau de coesão das hifas, e considera a existência de dois tipos: os plectênquimas de hifas livres (como o encontrado na medula) e os plectênquimas de hifas compactadas (como os encontrados nos córtices, paraplectênquima e prosoplectênquima).

Existem divergências também quanto à definição dos tipos de plectênquima de acordo com a orientação das hifas e compactação celular. Alguns autores consideram os plectênquimas similares aos tecidos de plantas superiores e a nomenclatura que aplicam aos tipos de plectênquimas expressa essas semelhanças.

Se a estrutura celular de um plectênquima consiste em células bastante compactadas, irregularmente orientadas, lembrando o parênquima das plantas superiores, o tecido é dito pseudoparênquima ou paraplectênquima (Jahns 1973).

O pseudoparênquima ou paraplectênquima pode ser considerado também um tecido que impossibilita a visualização individual das hifas, isto é, possui o que anatomicamente se conhece como “organização celular”, em oposição ao prosênquima ou prosoplectênquima, que é definido como um tecido onde os elementos hifais se parecem com hifas (Hawksworth et al.1995).

Um paraplectênquima também pode ser um tecido composto por células isodiamétricas, enquanto o prosoplectênquima pode ser um tecido constituído por células de paredes espessadas com lúmen alongado onde os elementos hifais se parecem com hifas (Galloway 1999).

A diferença entre os dois tipos de tecido pode, ainda, ser definida pela organização das hifas: o paraplectênquima é caracterizado por hifas irregularmente arrançadas, com organização celular enquanto o prosoplectênquima é caracterizado por hifas com arranjo periclinal ou paralelo (Hale 1983), ou ainda ser considerado um tecido composto por hifas alongadas e orientadas em uma direção particular (Hawksworth and Hill 1984).

O paraplectênquima pode também ser considerado como um tecido constituído por células de forma alveolar, isodiamétricas, também chamado tecido celular. Quando ocorre a formação de um tecido denso onde o lúmen das células é menor do que a espessura da parede celular o tecido é dito prosoplectênquima (ou prosênquima), encontrado no córtex de *Ramalina*, em algumas *Parmelia* e em certas regiões do talo de *Usnea*. O prosoplectênquima possui função de proteção ou de sustentação, sendo que a tração freqüente das hifas explica provavelmente a tendência das hifas a se dispor paralelamente à direção de alongamento do talo (Ozenda 1963).

A disposição paralela das hifas não é limitada aos prosoplectênquimas, outro tecido fastigiado pode ser encontrado e observado nas rizinas ou nas hifas paralelas e mais ou menos compactadas dos tecidos fibrosos (Ozenda 1963).

Existe ainda um terceiro tipo de tecido cortical, reconhecido por Hannemann (1973) e Hale (1976a) como “plectênquima paliçádico”, com arranjo anticlinal das hifas. O plectênquima paliçádico pode ser considerado também um tecido constituído por hifas curtas que emergem da camada de alga, se tornando eretas e compactadas e formando uma camada mais ou menos anticlinal com interstícios entre as células (Galloway 1999).

Essa grande variedade de definições dos tipos de plectênquima de acordo com a orientação das hifas e compactação celular foi sumarizada, para melhor compreensão das

diferenças existentes entre as definições dos diversos autores, nas três tabelas subsequentes (Tabelas 3, 4 e 5).

Tabela 3: Definições de paraplectênquima

PARAPLECTÊNUQUIMA	
H. M. Jahns (Anatomy, morphology and development. In: The Lichens, 1973)	plectênquima com células bastante compactadas, irregularmente orientadas, lembrando o parênquima das plantas superiores
D. L. Hawksworth et al. (Dictionary of the Fungi, 1995)	tecido que impossibilita a visualização individual das hifas, possui “organização celular”
M. E. Hale (The Biology of Lichens 1983)	hifas irregularmente arranjadas, com organização celular
D. J. Galloway (Lichen Glossary, 1999)	tecido composto por células isodiamétricas

Tabela 4: Definições de prosoplectênquima

PROSOPECTÊNUQUIMA	
D. L. Hawksworth et al. (Dictionary of the Fungi, 1995)	elementos hifais se parecem com hifas
M. E. Hale (The Biology of Lichens 1983)	hifas com arranjo periclinal ou paralelo
Hawksworth, D. J. and Hill, D. J. (The Lichen Forming Fungi 1984)	hifas alongadas e orientadas em uma direção particular
D. J. Galloway (Lichen Glossary, 1999)	células de paredes espessadas com lúmen alongado onde os elementos hifais se parecem com hifas
P. Ozenda (Lichens: Traité d'anatomie végétale, 1963)	paredes celulares fortemente gelatinizadas, com arranjo periclinal ou paralelo das hifas e é similar a um prosênquima (colênquima) das plantas superiores

Tabela 5: Definições de plectênquima paliçádico

PLECTÊNQUIMA PALIÇÁDICO	
M. E. Hale (Lichen structure viewed with the scanning electron microscope, 1976)	tecido com arranjo anticlinal das hifas
D. J. Galloway (Lichen Glossary, 1999)	tecido constituído por hifas curtas que emergem da camada de alga, se tornando eretas e compactadas e formando uma camada mais ou menos anticlinal com interstícios entre as células

Esses tipos de tecidos compactados podem ser originados de diferentes formas celulares (Jahns 1973). O pseudoparênquima pode ser formado de células pequenas, arredondadas e com parede celular fina, de diferentes hifas, que são pressionadas ao mesmo tempo formando um tecido com células angulares e isodiamétricas. É impossível de se dizer se este tecido realmente consiste de hifas individuais. A maioria dos tecidos prosoplectenquimáticos desenvolve-se de um plectênquima com estrutura reticulada de células multiangulares e irregulares. As paredes celulares se gelatinizam e formam uma massa homogênea que impossibilita a diferenciação das hifas (Jahns 1973).

Desse modo, as diferentes camadas do talo estratificado da maioria dos líquens são formadas a partir de variações nos padrões de agrupamento das hifas.

2.3. QUÍMICA DOS LIQUENS

Os líquens são bem conhecidos pelo grande número de substâncias químicas que produzem e pela facilidade com que essas substâncias podem ser estudadas e utilizadas em taxonomia (Orange et al. 2001). São conhecidos, atualmente, mais de 800 metabólitos secundários produzidos por eles. Estes compostos são todos originários do fungo e ficam armazenados na forma de cristais na superfície das hifas ou podem estar dispersos ou armazenados dentro do talo. Muitas das substâncias liquênicas possuem importância taxonômica e/ou econômica, sendo utilizadas na fabricação de antibióticos, perfumaria, tinturas, etc. (Huneck and Yoshimura 1996, Nash 2008, Walker and James 1980).

Os metabólitos secundários são resultantes de rotas secundárias e são denominados substâncias liquênicas ou ácidos liquênicos. Atualmente, sabe-se que se tratam de derivados fenólicos e carboidratos exclusivos, sendo que estes metabólitos são os principais responsáveis por grande parte de sua bioatividade (Hale 1983, Elix and Stocker-Wörgötter 2008). A origem biossintética das substâncias liquênicas ocorre em quatro vias: via do acetato-polimalonato, onde são sintetizadas a maioria das substâncias típicas, como quinonas, depsídeos, depsidonas e ácidos graxos; via do ácido mevalônico, onde ocorre a formação dos terpenóides e esteróis; via do ácido chiquímico, que origina muitos dos pigmentos amarelos (Huneck 1973, Hale 1983); e a via dos carboidratos, onde se têm os sacarídeos e polióis, produtos da redução de açúcares (Elix and Stocker-Wörgötter 2008).

Pouco se sabe sobre as funções fisiológicas das inúmeras substâncias produzidas pelo talo liquênico; no entanto, várias teorias tentam explicar a existência dessas substâncias. Devido ao crescimento extremamente lento dos líquens, essas substâncias podem agir como inibidoras do crescimento de outras plantas, tendo então uma ação antibiótica. Segundo Rundel (1978) e Lawrey (1986) as substâncias liquênicas aromáticas absorvem luz ultravioleta e protegem as algas da radiação solar intensa.

De acordo com diversos autores, as substâncias liquênicas afetam a permeabilidade das paredes celulares do ficobionte, proporcionando um importante mecanismo para o equilíbrio da simbiose (Rundel 1978, Honegger 1986).

Essas substâncias são consideradas também poderosos repelentes contra insetos e outros animais (Lawrey 1986).

Outros autores citam que as propriedades hidrofóbicas das substâncias liquênicas excretadas na medula seriam essenciais para prevenir a saturação de água pela medula e manter a troca gasosa com a atmosfera (Honegger 2008).

Autores como Huneck & Yoshimura (1996) consideram que muitas das substâncias liquênicas são produzidas como respostas a ambientes extremos.

No córtex superior das espécies de *Parmeliaceae* encontram-se substâncias como atranorina, cloroatranorina e ácido úsnico (Elix 1993a), enquanto outras substâncias como antraquinonas, xantonas e derivados do ácido pulvínico podem ser encontradas na medula. A presença ou ausência dessas substâncias é comumente utilizada na delimitação de vários gêneros e espécies da família (Elix 1993a).

2.4. A FAMÍLIA *PARMELIACEAE*

A família *Parmeliaceae* foi proposta por Zenker em 1827 em um sentido amplo e artificial, compreendendo líquens foliosos, não gelatinosos, heterômeros, com apotécios planos em forma de prato ou moeda. A família incluía, além do gênero *Parmelia* s. lat., os gêneros *Cetraria* Ach., *Sticta* Schreb. e *Peltigera* Hoffm. (Krempelhuber 1869), hoje pertencentes a outras famílias (Eliasaro 2001).

A família foi criada a partir do gênero *Parmelia*, descrito por Acharius em 1803, também com uma circunscrição muito ampla, abrangendo muitos líquens foliosos de apotécio lecanorino, que posteriormente foram separados em diversos outros gêneros, alguns atualmente pertencentes a outras famílias (Hale 1987).

Nas décadas de 1960 a 90 vários estudos, principalmente os trabalhos de Hale (1965, 1973, 1974a-d, 1975a/b, 1976b-e, 1984a/b, 1985, 1986, 1987, 1990), foram responsáveis pelo rearranjo da família. A circunscrição da família ainda está sendo discutida, particularmente no que diz respeito às características estruturais, principalmente por causa das informações moleculares e anatômicas serem incompletas (Feuerer 1998).

O uso de novas tecnologias como microscópio eletrônico e diferentes métodos de análises cromatográficas, além dos modernos estudos filogenéticos e moleculares, permitiu a evolução dos estudos liquenológicos, agregando-se novos caracteres que modificaram e ainda modificam as delimitações das famílias, gêneros e espécies. Assim, a família *Parmeliaceae* têm sofrido redelimitações com a exclusão de gêneros que passaram a constituir novas famílias, e ainda hoje não possui uma delimitação fixa e clara (Eliasaro 2001).

A família *Parmeliaceae* é uma das maiores famílias de fungos liquenizados, compreendendo mais de 80 gêneros com cerca de 2000 espécies (Kirk et al. 2001), sendo também a família com maior diversidade e abundância na paisagem líquênica do Brasil (Marcelli 1998). Constitui uma das famílias mais complexas do ponto de vista estrutural e químico, sendo a diferenciação das espécies relacionada a um grande número de estruturas morfológicas e em ácidos líquênicos (Ribeiro 1998).

Para o Brasil são mencionados 19 gêneros e 275 espécies de *Parmeliaceae* (Marcelli 2004, Benatti 2005).

Em *Parmeliaceae* os talos são principalmente foliosos, apresentando variações no tamanho e espessura e no grau de relacionamento com o substrato. Encontram-se desde talos fortemente adnatos, considerados como subcrostosos (Elix et al. 1986) até talos frouxamente

adnatos, desprendendo-se facilmente do substrato. A família é representada por líquens que apresentam estrutura heterômera, córtex superior e inferior, rizinas, cílios presentes ou ausentes, clorofíceas como fotobiontes, apotécios lecanorinos, ascosporos simples, hialinos e elipsóides, picnídios imersos e conídios de diversas formas (Fleig 1997). *Parmeliaceae* é definida por líquens de apotécios com estrutura complexa, camada hialina abaixo do hipotécio, com entrelaçamento de hifas conectivas que formam um excípulo meristemático cupuliforme (Calvelo 1998).

O córtex superior pode ter uma ou mais camadas de células, com padrões de orientação distintos e diferentes espessuras de parede de acordo com gêneros e espécies. Em certos casos, o córtex paraplectenquimático pode ser organizado em duas camadas, uma superior contínua e uma inferior, descontínua, caracterizada por projeções que dividem a camada de algas, dando uma aparência efigurada-maculada ao talo dessas espécies. Neste caso, as células do fotobionte não estão arranjadas num estrato contínuo e sim em locais especialmente destinados a elas. Essa maneira de organização das algas confere ao talo um padrão de manchas, de aparência pontilhada ou em forma de rede, causadas pelas falhas de continuidade da camada de algas, e que revelam a coloração da medula. Estas manchas são denominadas máculas, e possuem relevante valor taxonômico (Barbosa 2004, Marcelli 2006).

O córtex superior pode possuir, ainda, dois estratos distintos: uma camada superior paraplectenquimática e uma inferior prosoplectenquimática (Hale 1985, Kärnefelt 1979 apud Elix 1993a). Em certos gêneros ou espécies, existem falhas na continuidade do córtex, que podem aparecer como fissuras ou poros (pseudocifelas) (Elix 1993a).

Na camada superficial do córtex, as paredes das hifas se fundem dando ao talo líquênico uma superfície aparentemente lisa. Em 1973, Hale descreveu uma fina camada com menos de 1 μm de espessura recobrimdo o córtex superior de algumas espécies de *Parmeliaceae*. Essa camada, o epicórtex (Hale 1973, 1981), está acima e é em parte livre do córtex superior, aparecendo como uma camada delgada e amorfa possivelmente constituída por polissacarídeos secretados pelas hifas corticais (Anglesea et al. 1982). O epicórtex pode ou não possuir poros que favorecem a troca gasosa e possuem valor taxonômico em nível de gênero (Hale 1981, Elix 1993a).

O epicórtex com poros (dito porado) é facilmente distinguível, através de análises em microscopia eletrônica de varredura, pelas perfurações numerosas e mais ou menos regulares, com 15 a 25 μm de diâmetro. O córtex dessas espécies é descrito como contínuo, sem perfurações, fino, com 2–3 camadas de células, pouco aglutinado e pouco compactado. A

menor compactação leva à formação de numerosos interstícios intercelulares pelos quais podem ocorrer trocas gasosas (Elix 1993a).

Pseudocifelas estão presentes em apenas dois gêneros da família, *Parmelia* s. str. (não ocorre no Brasil) e *Punctelia*. São formadas inicialmente como poros no córtex e continuam a distender-se através de uma desintegração periférica. A maioria das espécies com pseudocifelas possui córtex paraplectenquimático bem desenvolvido, com 3–7 camadas de espessura e paredes celulares gelatinizadas, sendo as células fortemente compactadas, sem a presença de interstícios que possam participar na troca gasosa (Elix 1993a).

Ozenda (1963) apontava que variações anatômicas do córtex ocorriam inclusive entre espécies de um mesmo gênero, como em *Parmelia* Ach., onde se observavam sensíveis diferenças principalmente na estrutura do córtex inferior. Essas características interfeririam na sistemática do gênero, podendo dividi-lo em subgêneros de acordo com as características do córtex inferior e presença, tipo e distribuição de estruturas de fixação. Efetivamente, desde então o gênero *Parmelia* foi subdividido em mais de 80 gêneros, baseados nas estruturas discutidas por Ozenda e naquelas apresentadas nos parágrafos anteriores.

As rizinas são compostas por arranjos mais ou menos paralelos de hifas alinhadas e aglutinadas, normalmente descrito (em *Parmeliaceae*) como um prolongamento direto do tecido cortical inferior. Quando o topo das rizinas alcança o substrato, as hifas em crescimento se espalham e formam um disco, constituído por hifas e partículas do substrato, que fixa firmemente o talo do líquen (Jahns 1973).

Beltman (1978) considera que as rizinas da família *Parmeliaceae* podem ser constituídas tanto por tecido cortical quanto por hifas medulares. A autora cita três tipos de rizinas para a família, de acordo com o seu modo de desenvolvimento: as formadas apenas a partir do tecido cortical, aquelas formadas a partir do tecido cortical e das hifas medulares (o mais freqüente na família), e as formadas somente pelas hifas da medula, que seriam as rizinas típicas do gênero *Anzia*.

Rizinas sempre crescem do lado de baixo do talo. Estruturas vegetativas emergindo da margem do talo e que se assemelham a rizinas são chamadas cílios. O hábito das rizinas e cílios varia entre os gêneros; os tipos mais simples são constituídos por um cordão de hifas não ramificado. Existem, por exemplo, rizinas e cílios ramificados ou esgarçados e ainda, cílios curtos com base bulbada (Jahns 1973), sendo estas diferenças características de gêneros e espécies.

Tradicionalmente se considera que o desenvolvimento evolutivo em *Parmeliaceae* ocorreu principalmente na morfologia e anatomia talinas, e menos nas características dos ascomas (Elix 1993a). No entanto, a importância taxonômica das características dos ascomas em *Parmeliaceae* tem sido demonstrada através de análises cladísticas (Elix 1993a).

Ainda segundo Elix (1993a), a posição dos apotécios no talo é uma característica distintiva entre os gêneros da família. Apotécios marginais ou submarginais ocorrem em gêneros cetrarióides, em contraste com *Parmelia* s.l. onde os apotécios são laminais. A presença de apotécios com discos perfurados na maturidade também é uma característica de alguns gêneros em *Parmeliaceae* (Elix 1993a). Os discos perfurados ocorrem apenas em *Cetrelia*, *Parmotrema* e *Rimelia* e não aparecem na maioria dos gêneros (Elix 1993a).

Henssen e Jahns (1974) consideram a ontogenia do apotécio como uma característica importante em *Parmeliaceae*. A classificação da estrutura abaixo do himênio e sub-himênio é decisiva na identificação do tipo de apotécio, que na família *Parmeliaceae* é do tipo lecanorino (Adler 1990, Henssen and Jahns 1974, Nash et al. 1990, 1995). Caracteres como tipos diferentes de ascos têm sido utilizados na diferenciação genérica em alguns estudos (Thell et al. 1992 apud Elix 1993b, Kärnefelt et al. 1992, 1998). A estrutura da margem do anfitécio e o tamanho e forma dos esporos também constituem bons caracteres em nível genérico (Elix 1993b).

Em estudos realizados com vegetais superiores as características morfológicas são consideradas aspecto básico na caracterização e ordenação dos organismos, devido à facilidade de reconhecimento, análise e comparação de suas particularidades. Os dados anatômicos, em adição aos morfológicos, são de considerável importância no estabelecimento dos táxons em geral, principalmente nos casos mais duvidosos, envolvendo a delimitação de gêneros e a separação de espécies (Bezerra and Fernandes 1989).

2.4.1. CONSIDERAÇÕES SOBRE A DEFINIÇÃO DE EPICÓRTEX

Em 1973 Hale separou as espécies de *Parmeliaceae* em dois grandes grupos dependendo da presença ou ausência de uma fina camada de polissacarídeos acima da camada cortical. Hawksworth propôs o nome “epicórtex” para essa camada que pode ser comparada em certos aspectos ao “kiittsubstanz” (substância que cimenta) de Peveling (1970) (Hale 1973). Um grupo de líquens não possui o epicórtex, as hifas do córtex são expostas diretamente a superfície, e eles podem ser chamados de “não epicorticados” e é característico

do gênero *Pseudevernia* e de algumas espécies de *Graphidaceae* e *Thelotre mataceae*. O outro grupo, maior, possui a camada de epicórtex recobrimdo as hifas do córtex, e as espécies são principalmente as da família *Parmeliaceae* (Hale 1973).

Nas espécies com epicórtex, o córtex superior é completamente ou parcialmente coberto por uma fina camada amorfa com 0,6–1,0 μm de espessura. Essa camada não celular é secretada pelas hifas e é aparentemente similar, em composição, à camada externa espessa de polissacarídeos encontrada envolvendo as hifas nos líquens. Existem dois tipos de epicórtex que podem ou não ser morfogeneticamente relacionados, um sem poros e outro com poros (Hale 1973).

Nas espécies que possuem epicórtex não porado, toda a superfície superior é recoberta por uma fina membrana de epicórtex. Essa camada, cerca de 1 μm de espessura, é intimamente unida à camada de polissacarídeos das paredes das hifas e, assim, todo o contorno das hifas é facilmente distinguível. Como resultado, a superfície das espécies com epicórtex não porado vistas de cima aparece como estrutura nodular ou mamilada, e de uma vista oblíqua, ondulada ou sinuosa. As espécies pseudocifeladas possuem epicórtex não porado (Hale 1973).

Nas espécies com epicórtex porado, a estrutura básica é de uma camada amorfa não celular com 0,6–0,8 μm de espessura e ocorre acima e em parte livre da camada de hifas logo abaixo. A estrutura tridimensional dessa camada sobressai nitidamente nas fotografias em MEV que mostram bordas livres da camada. As espécies com epicórtex porado não produzem pseudocifelas (Hale 1973).

No entanto, em 1976 Hale assumiu que sua interpretação prévia sobre a origem do epicórtex não porado provavelmente estava errada. Disse que a fina camada aderente de polissacarídeos acima do córtex não poderia ser comparada em origem ao epicórtex com poros. Em outras palavras, considerou que o epicórtex não porado era provavelmente uma camada contínua secretada pelas hifas corticais mais externas, e não simplesmente um epicórtex porado que perdeu seus poros e se tornou conglutinado com as hifas logo abaixo (Hale 1976a).

Em 1981 Hale não utilizou mais o termo epicórtex não porado. Ele usou o termo “roof” (“telhado”) para se referir à camada de polissacarídeos encontrada acima do córtex das espécies pseudocifeladas e o termo epicórtex ficou restrito para as espécies sem pseudocifelas e com poros epicorticais. Sua justificativa era baseada na confusão semântica dos termos e porque ele concluiu que ambos são formados a partir de polissacarídeos excretados pelas

células mais externas do córtex superior. Também afirmou que no grupo *Parmelia saxatilis* e em *Platismatia* esse “roof” persiste acima das pseudocifelas e desenvolve perfurações com a maturidade formando as marcas brancas angulares características dessas espécies. Em outras espécies, do grupo *Parmelia borrieri* e *Cetrelia olivetorum*, a camada de polissacarídeos se quebra e as hifas são empurradas acima da superfície carregando restos do córtex e deixando às vezes uma margem que pode desaparecer. O autor ainda fez um comentário sobre as máculas de espécies com epicórtex porado e reforça que essas são resultados de agrupamentos irregulares de colônias de algas não relacionados com a espessura do córtex, que não contém pseudocifelas (Hale 1981).

Em 1983 Galloway e Elix consideraram que as espécies de *Parmelia* possuíam superfície superior pseudocifelada e que as pseudocifelas eram recobertas por uma camada de polissacarídeos perfurada (atribuindo essas palavras a Hale 1981, ver acima e adiante). E consideraram que nas espécies de *Punctelia* as pseudocifelas não possuíam essa cobertura de polissacarídeos.

Em 1986 Modenesi e Vanzo fizeram um estudo histoquímico para esclarecer a natureza do epicórtex de *P. caperata* e da camada de polissacarídeos na espécie pseudocifelada *P. saxatilis*. Encontraram diferenças químicas entre esses dois tipos de estruturas. Na espécie com epicórtex porado (*P. caperata*), o epicórtex possui a mesma natureza química dos polissacarídeos excretados pelas células do córtex superior, apesar de serem parcialmente livres do córtex. Em *P. saxatilis*, espécie com pseudocifelas, a camada de polissacarídeos é aderente as células do córtex superior, mas a natureza química é diferente, os polissacarídeos são neutros. Eles propuseram o termo “sincórtex” para essa camada. O sincórtex é definido como uma camada discreta de mucopolissacarídeos acima e aderente ao córtex de *P. saxatilis*.

Em 1987, em sua monografia do gênero *Parmelia*, Hale considerou que o córtex superior das espécies de *Parmelia* é perfurado por pseudocifelas que são poros originados pela desintegração do córtex, formando canais de 10 µm de diâmetro, que se alargam deixando as hifas medulares expostas. Essa estrutura é bem diferente do epicórtex, que é uma camada de polissacarídeos com poros recobrindo e mais ou menos livre do córtex parenquimático paliádico (Hale 1973, 1981). Essa duas estruturas diferem consideravelmente em tamanho: pseudocifelas são essencialmente macroscópicas e visíveis em baixos aumentos (0,1–2 mm), mas os poros epicorticais podem ser vistos apenas em MEV, com 15–40 µm de diâmetro.

Hale (1987) considerou ainda que muitas espécies de *Parmelia* possuem máculas com orientação característica, aparecendo como marcas esbranquiçadas irregulares e efiguradas. Essas marcas de máculas são marginais e laminais e se fundem em uma rede; com o tempo, o córtex tende a se rachar ao longo das máculas servindo de pontos para origem de isídios e sorédios.

Em *Parmelia* as máculas podem ser explicadas, quando observadas em MEV, pela presença de uma fina camada persistente de polissacarídeos com poros acima da área porada abaixo (ou seja, uma camada que possui poros apenas acima da pseudocifela). Essa camada de polissacarídeos faz parte da camada que reveste o resto da superfície, mas no restante do talo a camada não possui poros. Hale diz ainda que essa camada pode ser persistente acima da pseudocifela ou pode se desintegrar, deixando o poro (a pseudocifela) aberto (Hale 1981, 1987).

Em 1987 Modenesi fez um estudo sobre a delimitação genérica e histoquímica de *Parmelia* e *Punctelia*. Em todas as espécies o córtex superior é paraplectenquimático e coberto por uma camada contínua e muito aderente formada por polissacarídeos ácidos (sulfatados) contendo ácido hialurônico. Em *Parmelia* essa camada é facilmente distinguível histoquimicamente da matriz interhifal subjacente e é formada por polissacarídeos neutros. Por causa da diferenciação histoquímica é considerada como um traço morfológico distinto do córtex. Então, o termo sincórtex pode ser estendido para as outras espécies de *Parmelia*.

Em *Punctelia*, embora a camada amorfa tenha composição química análoga ao sincórtex, não pôde ser histoquimicamente diferenciada da matriz interhifal subjacente. Em muitos casos apresenta polissacarídeos fortemente acidificados. Por causa da ausência de diferenciação histoquímica essa camada amorfa não pode ser definida como sincórtex, mas na opinião do autor, representa uma produção indiferenciada de mucopolissacarídeos. Isto está de acordo com o observado por Hale (1981), que definiu o epicórtex não porado de parmélias pseudocifeladas como provavelmente acumuladores de polissacarídeos (Modenesi 1987).

2.4.2. ESTUDOS FILOGENÉTICOS E MOLECULARES

Utilizando-se apenas de caracteres fenotípicos, Tehler (1988) introduziu a cladística na sistemática dos fungos, incluindo os líquens.

Durante as últimas décadas, com as novas técnicas disponíveis para análises moleculares, ocorreu um grande interesse pelo estudo da filogenia dos líquens (Rambold e Hagedorn 1998).

Muitos estudos filogenéticos têm sido realizados com as espécies da família *Parmeliaceae*, com base em caracteres morfológicos e macromoleculares (Crespo et al. 2001). Assim, muitas hipóteses não muito bem suportadas têm surgido acerca das relações entre os gêneros. A aérea com maiores controvérsias e dificuldades, se refere às interpretações taxonômicas dos líquens incluídos em *Parmelia* s.l., que compreende cerca de 1500 espécies aceitas e mais de 4000 nomes (Hale and De Priest 1999).

Considerando o tamanho da família, a controvérsia a respeito de sua classificação é esperada. O número dos gêneros em *Parmeliaceae* aumentou significativamente nas últimas décadas, em parte devido à conceitos genéricos mais estreitos (Hale 1984b, Louwhoff and Crisp 2000).

Inicialmente, Hale propôs uma classificação infragenérica para o grande e polifilético gênero *Parmelia* s. lat. Nos anos subseqüentes, com base em caracteres morfológicos, anatômicos e químicos muitos novos gêneros foram elevados a partir dos subgêneros propostos (Culberson and Culberson 1981, Elix 1993a, Elix and Hale 1987, Elix et al. 1986, Hale 1974a-c, 1984b, 1986, Krog 1982, Kurokawa 1991). Muitos desses gêneros não foram bem aceitos por um grande número de liquenologistas europeus, e vários desses têm sido recentemente combinados com bases em evidências morfológicas e/ou moleculares. Entre esses podemos citar a combinação de *Rimeliella* e *Canomaculina* e a combinação de *Chondropsis*, *Paraparmelia* e *Neofuscelia* com *Xanthoparmelia* (Elix 1997, 2003, Hawksworth and Crespo 2002, Blanco et al. 2004b).

Alguns estudos filogenéticos têm sido realizados com os gêneros próximos a *Parmotrema*, os chamados gêneros parmotremóides (Blanco et al. 2005). Crespo et al. (1999) realizaram uma análise estatística em parmélidas usando caracteres morfológicos e químicos mas o estudo não foi conclusivo em demonstrar as relações entre os gêneros parmotremóides. Logo depois, Louwhoff e Crisp (2000) fizeram um estudo cladístico baseado em caracteres morfológicos e químicos de 43 espécies de *Parmotrema* e incluíram representantes de outros gêneros próximos como *Rimelia*, *Canomaculina* e *Parmotremopsis*. Os autores incluíram *Canomaculina* e *Rimelia* no gênero *Parmotrema* e concluíram que seria mais apropriado que esses dois gêneros fossem tratados em um nível subgenérico de *Parmotrema*.

Usando marcadores moleculares e morfológicos (incluindo ITs nuclear e SSU mitocondrial), Crespo e Cubero (1998), Crespo et al. (1999) e Crespo et al. (2001) concluíram que *Parmotrema* e *Rimelia* formam um grupo monofilético e que *Parmotrema* seria parafilético se *Rimelia* continuasse como um gênero segregado.

Recentemente, Blanco et al. (2005) realizaram um estudo molecular com esses gêneros e incluíram mais alguns outros gêneros da família. Seus resultados permitiram concluir que *Punctelia* é um gênero monofilético e grupo irmão dos outros grupos de *Parmeliaceae* incluídos na análise. Os autores consideraram que os gêneros *Canomaculina*, *Concamerella* e *Rimelia* deveriam ser rejeitados como gêneros independentes e sugeriram que esses gêneros sejam sinonimizados com *Parmotrema*. Além disso, afirmaram que seus estudos moleculares estão de acordo com as análises morfológicas realizadas por Louwhoff e Crisp (2000).

Ainda segundo Blanco et al. (2005), a separação desses gêneros é baseada em diferenças na largura dos lobos, máculas e tipos de cílios e rizinas no caso de *Canomaculina* e em diferenças nas rizinas, conídios, tamanho de esporos e química medular considerando *Rimelia*. Os autores consideram esses caracteres inapropriados para o reconhecimento de grupos monofiléticos em líquens. Em relação a *Concamerella*, os autores afirmam que apesar das diferenças marcantes no tamanho e forma dos lobos, o gênero deve ser sinonimizado com *Parmotrema*, pois consideram que as espécies de *Parmotrema* possuem uma grande variedade de formas e tamanhos de lobos o que justificaria a inclusão de *Concamerella* nesse gênero.

De acordo com as normas para apresentação de Dissertações e Teses do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica) do IBB – UNESP, os resultados desta pesquisa são apresentados em artigos Artigo(s) seguindo todas as normas da revista selecionada para publicação.

Nas páginas a seguir encontram-se os artigos resultantes desta pesquisa. Todos os artigos foram escritos de acordo com as normas a revista *Canadian Journal of Botany*.

No entanto, aqui as tabelas são apresentadas no corpo do texto e as legendas das figuras são apresentadas na mesma página da figura para facilitar a compreensão, pelo leitor, das imagens apresentadas.

ARTIGO 1

Morfoanatomia comparada do talo de espécies de *Punctelia* (*Parmeliaceae*: Ascomycota liquenizados) e sua aplicação taxonômica

Barbosa, S.B.^{a*} & Marcelli, M.P.^b

^a Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Caixa Postal 510, 18618-000, Botucatu-SP, Brazil. Phone: 55 (14) 3811 6053. E-mail: suzibissacot@yahoo.com.br.

^b Instituto de Botânica, Seção de Micologia e Liquenologia, Caixa Postal 3005, 01061-970, São Paulo-SP, Brazil.

* Corresponding author

RESUMO – (Morfoanatomia comparada do talo de espécies de *Punctelia* (*Parmeliaceae*, Ascomycota liquenizados) e sua aplicação taxonômica). Utilizando técnicas convencionais para estudos histológicos em microscopia de luz com auxílio de luz polarizada, se descreve e compara a anatomia do talo de 5 espécies de *Punctelia*. O córtex superior, em todas as espécies, é paraplectenquimático e existe sempre uma primeira camada de células pequenas e arredondadas localizada logo abaixo do epicórtex; abaixo existem as outras camadas, que variam de acordo com a espécie. As principais diferenças específicas são relacionadas principalmente ao tipo de formação das pseudocifelas, presença ou ausência de epicórtex recobrindo-as e à organização e estrutura do córtex superior. Outras diferenças são relacionadas aos tipos de propágulos vegetativos encontrados, à presença de córtex recobrindo as rizinas e a orientação das hifas medulares. Além disso, este trabalho descreve um novo tipo de tecido para a família *Parmeliaceae*, o aeroplectênquima, caracterizado pela presença de grandes lacunas preenchidas de ar entre as células do fungo e localizado logo abaixo da camada de algas.

Palavras-chave: aeroplectênquima, anatomia, histologia, pseudocifelas, *Punctelia*.

1. Introdução

Punctelia é um gênero relativamente pequeno em *Parmeliaceae*, e compreende cerca de 30 espécies (Egan and Aptroot 2004) das quais 16 são reportadas para o Brasil (Marcelli 2004). O gênero foi proposto por Krog (1982) a partir de um conjunto de espécies de *Parmelia* senso Esslinger (1978) e Hale (1980) e tem sido caracterizado principalmente com base no desenvolvimento de pseudocifelas, na química das substâncias medulares, no centro geográfico de distribuição e na forma dos conídios (Modenesi 1987). As espécies possuem superfície superior cinza com pseudocifelas puntiformes e produzem conídios unciformes a filiformes. O centro de especiação localiza-se na América do Sul e África (Elix 1993, Crespo et al. 2004).

Pseudocifelas podem ser definidas como poros de 0,1 a 2 mm de diâmetro que ocorrem na superfície do talo de muitos líquens foliosos; esses poros podem ser preenchidos por hifas medulares ascendentes que crescem e podem se projetar acima da superfície do talo. Nos locais do talo onde a troca gasosa é insuficiente o córtex começa a se rachar e forma um poro que restaura a relação ideal entre a troca gasosa e as necessidades metabólicas do líquen (Hale 1981).

De acordo com Hale (1981), nas espécies pseudocifeladas da família *Parmeliaceae* a camada cortical é completamente uniforme e não ocorre nenhuma outra modificação além da formação do poro. Essas espécies possuem córtex paraplectenquimático típico bem desenvolvido, com 3 a 7 células de espessura, dependendo do tamanho do talo. As células corticais, cuja parede celular é espessada e muito gelatinizada, são invariavelmente aglomeradas e não deixam interstícios ou passagens finas que possam participar ou atuar na troca gasosa. No entanto, estudos ontogenéticos detalhados ainda são necessários para providenciarem detalhes completos sobre o desenvolvimento dessas estruturas.

Nos últimos anos, vários estudos moleculares e filogenéticos têm sido realizados com gêneros da família *Parmeliaceae* (Elix 1997, 2003; Hawksworth and Crespo 2002; Blanco et al. 2004 a/b; Blanco et al. 2005; Divakar et al. 2006; Crespo et al. 2007). Crespo et al. (2004) consideraram a hipótese do gênero *Punctelia* ser polifilético, relatando a necessidade de estudos mais aprofundados. Posteriormente, Blanco et al. (2005) consideraram *Punctelia* um gênero bem delimitado, grupo irmão de *Parmotrema*.

Este trabalho é a continuidade de um projeto iniciado em 2003 como parte da dissertação de mestrado de Barbosa (2004) que teve como objetivo a descrição de um protocolo para estudos anatômicos em espécies da família *Parmeliaceae* (Barbosa et al.

2009).

No presente estudo foram analisados os aspectos anatômicos e o desenvolvimento das pseudocifelas de cinco espécies de *Punctelia*. Os resultados apresentados aqui são parte da tese de doutorado do primeiro autor (Barbosa 2009), que visou estudar a aplicação dos dados anatômicos como auxiliares na definição taxonômica em gêneros e espécies de *Parmeliaceae*.

2. Material e métodos

O material estudado foi obtido de amostras depositadas no Herbário Científico Maria Eneyda P. Kauffmann Fidalgo (SP) do Instituto de Botânica de São Paulo, conforme a tabela 01.

Tabela 01: Lista dos indivíduos do gênero *Punctelia* estudados com respectivos coletores, numero de coletor e local de procedência.

Espécies	Material	Município / Estado
<i>Punctelia colombiana</i>	L.S. Canêz & A.A. Spielmann 964a	Vacaria/RS
	A.A. Spielmann & L.S. Canêz 1000	Sinimbu/RS
<i>P. constantimontium</i>	L.S. Canêz & A.A. Spielmann 1038	Vacaria/RS
	A.A. Spielmann & L.S. Canêz 978	Sinimbu/RS
<i>P. graminicola</i> s.l.	L.S. Canêz & A.A. Spielmann 150	Vacaria/RS
	L.S. Canêz & A.A. Spielmann 151	Vacaria/RS
	L.S. Canêz & A.A. Spielmann 430	Vacaria/RS
<i>P. imbricata</i>	P. Jungbluth 1079	Campo Limpo Paulista/SP
<i>P. roseola</i>	M.P. Marcelli et al. 17575	Jurumirim/SP

Foram estudadas secções transversais e longitudinais de lobos, obtidas a partir de amostras retiradas das regiões jovem (próxima da margem) e desenvolvida do talo (próxima ao centro do talo). Foram preparados 3 blocos para cada região do talo amostrada e feitas pelo menos quatro lâminas de cada bloco.

Microscopia de luz – o material foi preparado de acordo com o protocolo estabelecido por Barbosa et al. (2009) para estudos anatômicos de líquens da família *Parmeliaceae*. Amostras com $0,5 \times 1 \text{ cm}^2$ provenientes de material herborizado foram desidratadas em série etílica (70%, 95%, 100%, 2 horas cada) e incluídas em resina metacrilato (Leica®) (5 horas) a temperatura ambiente. Os blocos foram seccionados em micrótomo de rotação semi-

automático com navalha descartável; os cortes obtidos, com 2 a 5 μm de espessura, foram corados com Azul de Toluidina 0,05%, pH 4,7 (O'Brien et al. 1965) e montados entre lâmina e lamínula com resina sintética Permount®. As imagens foram obtidas em microscópio Zeiss acoplado em câmera Olympus, com e sem filtro polarizador. Foram tomadas medidas das células com auxílio de retículo de ocular.

A descrição das espécies segue o protocolo desenvolvido pelo Grupo de Estudos Liquenológicos do Instituto de Botânica, São Paulo/SP, e adaptado para estudos anatômicos por Barbosa (2004) (Anexo 1).

Nas descrições anatômicas do corte transversal dos lobos apresentadas abaixo, são consideradas as seguintes definições:

- **Plectênquima:** falso-tecido formado por hifas entrelaçadas, interconectadas por anastomoses ou firmemente compactadas (Jahns, 1973);
- **Tecidos:** constituído de células posicionadas lado a lado;
- **Plectênquima paliçádico:** plectênquima composto por hifas paralelas com organização semelhante a paliçada;
- **Paraplectênquima:** plectênquima composto por hifas com paredes delgadas que perdem a aparência de hifas, com organização celular (Hawksworth et al. 1995);
- **Prosoplectênquima:** plectênquima de hifas com paredes espessadas, facilmente reconhecíveis (Hawksworth et al. 1995).

3. Resultados

Punctelia colombiana Sérusiaux

Nordic Journal of Botany 4: 717. 1984.

Figura 1

EPICÓRTEX 0,60–2,50 μm alt. (Fig. 1B), sem brilho em luz polarizada. **CÓRTEX SUPERIOR** com 4–6 células (15,50–25,00 μm) alt., estruturado em 3 camadas distintas: a superior é uniestratificada e composta de células pequenas e arredondadas (2,50–5,00 μm diâm.) com parede pouco espessada, a intermediária é multiestratificada com 2–4 células (7,50–20,00 μm) alt., com células alongadas verticalmente, 2,50–5,00 $\times$ 1,30–2,50 μm , e com parede espessada, a inferior é uniestratificada e formada por células mais ou menos

arredondadas 2,50–5,00 μm diâm. e que correspondem ao topo das hifas que partem da medula e atravessam a camada de algas para formar o córtex superior; no centro do talo o córtex superior torna-se mais espesso, com 4–15 células (15,50–125,00 μm) alt., abaixo do qual formam-se grandes lacunas constituindo um “aeroplectênquima”, principalmente na região de contato com as células de algas (Figs. 1B, 1C, 1D). **CAMADA DE ALGAS** 1–4 células (10,00–25,00 μm) alt., com células arredondadas 2,50–5,00 μm diâm., conteúdo celular heterogêneo; hifas com células alongadas 7,50–17,50 $\times$ 2,50–3,75 μm , às vezes se ramificam no ápice (Figs. 1B, 1D). **PSEUDOCIFELAS** laminais, formadas a partir do rompimento e desintegração das células do córtex superior expondo as hifas da medula (Fig. 1E). **LÓBULOS** presentes na região central do talo, achatados, simples ou ramificados, caracterizados pela estrutura dorsiventral, às vezes com rizinas (Figs. 1A, 1G). **LACÍNULAS** ausentes. **MEDULA** 80,00–130,00 μm alt. na região jovem do talo; 250,00–500,00 μm (larg.) na região central do talo, hifas horizontais predominantes, hifas verticais principalmente na metade superior da medula, hifas 1,25–3,75 μm larg, com células alongadas 7,50–17,50 $\times$ 1,25–3,75 μm , com cristais granulares revestindo a superfície das hifas da maior parte da medula (Fig. 1D). **SORAIS** ausentes. **ISÍDIOS** ausentes na região jovem do talo, presentes principalmente na região central do talo (Figs. 1A, 1F). **CÓRTEX INFERIOR** paraplectenquimático com paredes espessadas, 1–3 células (7,50–17,50 μm) alt., (Figs. 1D, 1E), formado a partir da justaposição de hifas horizontais longitudinais; **rizinas** simples a ramificadas, corticadas, 50,00–100,00 μm larg., equivalente a 10–30 hifas paralelas de 1,25–3,75 μm larg., formadas a partir do tecido cortical e de hifas medulares (Fig. 1H).

***Punctelia constantimontium* Sérusiaux**

Nordic Journal of Botany 3(4): 517. 1983.

Figura 2

EPICÓRTEX 1,25–2,50 μm alt. (Fig. 2B), sem brilho em luz polarizada. **CÓRTEX SUPERIOR** 4–6 células (25,00–37,50 μm) alt., estruturado em 3 camadas distintas: a superior é uniestratificada com células pequenas e arredondadas 2,50–5,00 μm diâm. e de parede pouco espessada, a intermediária é multiestratificada com 2–4 células (17,50–30,00 μm) alt., com células alongadas verticalmente 2,50–5,00 $\times$ 1,30–2,50 μm , e de parede espessada, a inferior é uniestratificada e formada por células mais ou menos arredondadas 2,50–5,00 μm diâm. e que correspondem ao topo das hifas que partem da medula e

atravessam a camada de algas para formar o córtex superior; presença de pruína recobrimdo a superfície do talo (Figs. 2A, 2B, 2C, 2D). **CAMADA DE ALGAS** 1–6 células (10,00–40,00 μm) alt., com células arredondadas 2,50–10,00 $\times$ 2,50–10,00 μm , conteúdo celular heterogêneo; hifas 2,50–3,75 μm larg., com células alongadas 7,50–17,50 $\times$ 2,50–3,75 μm , às vezes se ramificam no ápice (Figs. 2A, 2C, 2F). **PSEUDOCIFELAS** localizadas na margem dos lobos (Spielmann & Canêz 1978, Fig. 2F), na superfície do talo e ápice de lóbulos, formadas a partir da organização das hifas medulares em agrupamentos circulares em locais específicos, sobre os quais posteriormente ocorre o rompimento das células do córtex superior expondo as hifas da medula; nesse processo as células corticais se afastam e começam a se desintegrar em sentido centrífugo, resultando na expansão e alargamento da pseudocifela; porém, muitas vezes não ocorre o rompimento do epicórtex que persiste recobrimdo total ou parcialmente as pseudocifelas (Figs. 2B, 2F, 2G). **LÓBULOS** achatados, com estrutura dorsiventral, distribuídos por todo o talo (não mostrados). **LACÍNULAS** ausentes. **MEDULA** 75,00–175,00 μm alt., hifas horizontais predominantes, hifas verticais principalmente na metade superior da medula, 1,25–3,75 μm larg., com células alongadas 7,50–17,50 $\times$ 1,25–3,75 μm , presença de cristais granulares revestindo a superfície das hifas da região mediana da medula (Figs. 2A, 2E). **SORAIS** ausentes. **ISÍDIOS** ausentes na região jovem do talo, presentes no centro do talo 0,10–0,20 mm alt. **CÓRTEX INFERIOR** formado a partir da justaposição de hifas horizontais longitudinais e semelhante ao córtex superior, estruturado em 3 camadas distintas: a interna é uniestratificada com células arredondadas 2,50 μm diâm., que correspondem ao topo das hifas que partem da medula para formar o córtex inferior, a intermediária é multiestratificada, 2–3 células (7,50–12,50 μm) alt., com células alongadas verticalmente 5,00–7,50 $\times$ 2,50 μm , a inferior é uniestratificada e formada por células arredondadas com 2,50–5,00 μm diâm. (Figs. 2F, 2H).; **rizinas** simples a ramificadas, corticadas apenas na base, 25,00–100,00 μm diâm, equivalente a 10–30 hifas paralelas com 1,25–3,75 μm diâm., formadas a partir do tecido cortical e hifas medulares (Figs. 2A, 2H).

***P. graminicola* (Bouly de Lesdain) Egan s.l.**

The Bryologist 106(2): 315. 2003.

Existem grandes diferenças entre os três espécimes identificados como *Punctelia graminicola* e por isso eles serão tratados aqui separadamente; eles estão sendo atualmente estudados em revisão taxonômica por L.S. Canêz.

Canêz & Spielmann150 - Figura 3

EPICÓRTEX 0,50–1,00 μm alt. (Figs. 3A, 3B), sem brilho em luz polarizada. **CÓRTEX SUPERIOR** 3–4 células (17,50–20,00 μm) alt., estruturado em 3 camadas distintas: a superior é uniestratificada de células pequenas e arredondadas 2,50–5,00 μm diâm. com parede pouco espessada, a intermediária é biestratificada 1–2 células (7,50–17,50 μm) alt., com células alongadas verticalmente 2,50–5,00 $\times$ 1,30–2,50 μm , e com parede espessada, a inferior é uniestratificada e formada por células mais ou menos arredondadas 2,50–5,00 μm diâm. e que correspondem ao topo das hifas que partem da medula e atravessam a camada de algas para formar o córtex superior (Figs. 3A, 3B, 3G). **CAMADA DE ALGAS** 1–3 células (12,50–25,00 μm) alt., com células arredondadas 5,00–10,00 μm diâm., conteúdo celular heterogêneo; hifas 1,25–5,00 μm larg., com células alongadas verticalmente 5,00–12,50 $\times$ 1,25–5,00 μm (Figs. 3A, 3B), **máculas** ausentes. **PSEUDOCIFELAS** laminais; formadas a partir de uma organização das hifas medulares em agrupamentos circulares em locais específicos, sobre os quais posteriormente ocorre o rompimento das células do córtex superior expondo as hifas da medula; nesse processo as células corticais se afastam e começam a se desintegrar em sentido centrífugo, resultando na expansão e alargamento da pseudocifela; porém, muitas vezes não ocorre o rompimento do epicórtex que persiste recobrendo parcialmente as pseudocifelas (Fig. 3B). **LÓBULOS** achatados, com córtex superior e inferior, caracterizadas pela estrutura dorsiventral, às vezes com rizinas (Figs. 3D, 3E). **LACÍNULAS** ausentes. **MEDULA** 125,00–175,00 μm larg., hifas horizontais predominantes, hifas 1,25–5,00 μm larg., com células alongadas 2,50–7,50 $\times$ 1,25–5,00 μm , presença de cristais granulares revestindo a superfície da maioria das hifas (Figs. 3B, 3C). **SORAIS** ausentes. **ISÍDIOS** ausentes. **CÓRTEX INFERIOR** 1–2 células alt., arredondadas (2,50 μm diâm.); formado a partir da justaposição de hifas horizontais longitudinais (Fig. 3B); **rizinas** simples a ramificadas, corticadas, 25,00–75,00 μm diâm., equivalente a 10–30 hifas paralelas com 1,25–2,50 μm diâm., formadas a partir do tecido cortical e hifas medulares (Fig. 3F). **PICNÍDIOS** no centro do talo (Fig. 3G).

Canêz & Spielmann 151 - Figura 4

EPICÓRTEX 0,50–1,00 μm alt (Figs. 4A, 4B), sem brilho em luz polarizada. **CÓRTEX SUPERIOR** 3–4 células (17,50–20,00 μm) alt., estruturado em 2 camadas distintas: a superior é uniestratificada de células pequenas e arredondadas 2,50–5,00 μm diâm. com parede pouco espessada que pode ser facilmente distinguida através da coloração azul clara em Azul de Toluidina e com brilho em luz polarizada (Fig. 4C), a inferior é multiestratificada, 1–3 células (7,50–17,50 μm) alt., com células levemente alongadas verticalmente e com parede espessada, células 2,50–5,00 $\times$ 1,30–2,50 μm ; formado a partir de hifas que partem da medula e atravessam a camada de alga; existe logo abaixo do córtex superior e acima da camada de algas uma camada irregular de “aeroplectênquima” constituída por lacunas grandes 7,50–12,50 $\times$ 7,50–12,50 μm delimitadas pelas hifas que partem da medula, as hifas são alongadas e septadas transversalmente (Figs. 4A, 4B). **CAMADA DE ALGAS** 1–3 células (12,50–25,00 μm) alt., com células arredondadas 5,00–10,00 μm diâm., conteúdo celular heterogêneo; hifas 1,25–5,00 μm larg., bifurcadas e unindo-se antes de chegarem ao córtex superior, com células alongadas verticalmente 5,00–12,50 $\times$ 1,25–5,00 μm (Figs. 4A, 4B), **máculas** ausentes. **PSEUDOCIFELAS** laminais; formadas a partir do rompimento e desintegração das células do córtex superior e do epicórtex, expondo as hifas da medula (Fig. 4B). **LÓBULOS** achatados, com estrutura dorsiventral, às vezes com rizinas (Fig. 4D). **LACÍNULAS** ausentes. **MEDULA** 125,00–175,00 μm larg., com hifas horizontais longitudinais e transversais 1,25–5,00 μm larg., com células alongadas 2,50–7,50 $\times$ 1,25–5,00 μm , presença de cristais granulares recobrimdo a superfície da maioria das hifas (Figs. 4A, 4B). **SORAIS** ausentes. **ISÍDIOS** ausentes. **CÓRTEX INFERIOR** formado por 1–2 células arredondadas 2,50 μm diâm., formado a partir da justaposição de hifas horizontais longitudinais (Figs. 4A, 4E); **rizinas** simples a ramificadas, corticadas, 25,00–75,00 μm diâm., equivalente a 10–30 hifas paralelas com 1,25–2,50 μm diâm., formadas a partir do tecido cortical e hifas medulares (Fig. 4E).

Canêz & Spielmann 430 – Figura 5

EPICÓRTEX 0,50–1,00 μm alt.; brilho rosado em luz polarizada (Figs. 5B, 5D, 5E). **CÓRTEX SUPERIOR** 4–6 células (17,50–25,00 μm) alt., estruturado em 3 camadas distintas: a superior é uniestratificada de células pequenas e arredondadas 2,50–5,00 μm diâm. com parede pouco espessada, a intermediária é multiestratificada 2–4 células (7,50–20,00

µm) alt., com células alongadas verticalmente $2,50\text{--}5,00 \times 1,30\text{--}2,50$ µm e com parede espessada, a inferior é uniestratificada e formada por células mais ou menos arredondadas $2,50\text{--}5,00$ µm diâm. e que correspondem ao topo das hifas que partem da medula e atravessam a camada de algas para formar o córtex superior; no centro do talo o córtex superior torna-se mais espesso 4-15 células ($15,50\text{--}125,00$ µm) alt., formado a partir de hifas que partem da medula e atravessam a camada de alga (Figs. 5A, 5B, 5C). **CAMADA DE ALGAS** 1-3 células ($12,50\text{--}25,00$ µm) alt., com células arredondadas $5,00\text{--}7,50$ µm diâm., conteúdo celular heterogêneo; hifas $1,25\text{--}5,00$ µm larg, com células alongadas verticalmente $5,00\text{--}12,50 \times 1,25\text{--}5,00$ µm (Figs. 5A, 5B); **máculas** ausentes. **PSEUDOCIFELAS** laminais, formadas a partir do rompimento e desintegração das células do córtex superior e do epicórtex, expondo as hifas da medula (Fig. 5C). **LÓBULOS** ausentes. **LACÍNULAS** achatadas de estrutura dorsiventral, às vezes com rizinas (não mostradas). **MEDULA** $125,00\text{--}250,00$ µm larg., hifas horizontais predominantes por toda a medula, hifas $1,25\text{--}5,00$ µm larg., com células alongadas $2,50\text{--}7,50 \times 1,25\text{--}5,00$ µm, presença de cristais granulares revestindo a superfície da maioria das hifas (Figs. 5A, 5E). **SORAIS** ausentes. **ISÍDIOS** ausentes. **CÓRTEX INFERIOR** 1-3 células arredondadas $2,50$ µm diâm.; formado a partir da justaposição de hifas horizontais longitudinais (Figs. 5A, 5F); **rizinas** simples a ramificadas, corticadas apenas na base, $25,00\text{--}75,00$ µm diâm., equivalente a 10-30 hifas paralelas com $1,25\text{--}2,50$ µm diâm., formadas a partir do tecido cortical e hifas medulares (Fig. 5F).

***Punctelia imbricata* Marcelli, Jungbluth & Elix**

Mycotaxon. 2009 (no prelo).

Figura 6

EPICÓRTEX $0,60\text{--}1,25$ µm alt. (Figs. 6A, 6B) sem brilho em luz polarizada. **CÓRTEX SUPERIOR** 3-4 células ($7,50\text{--}12,50$ µm) alt., estruturado em duas camadas distintas: a superior é uniestratificada de células pequenas e arredondadas $1,25\text{--}2,50$ µm diâm. com parede pouco espessada, a inferior é multiestratificada 2-3 células ($5,00\text{--}7,50$ µm) alt., com células alongadas verticalmente ($2,50\text{--}5,00 \times 1,30\text{--}2,50$ µm) e com parede espessada; formado a partir de hifas que partem da medula e atravessam a camada de alga (Figs. 6A-6D). **CAMADA DE ALGAS** 1-6 células ($7,50\text{--}25,00$ µm) alt., com células arredondadas $2,50\text{--}7,50 \times 2,50\text{--}7,50$ µm, conteúdo celular heterogêneo; hifas $1,25\text{--}2,50$ µm larg., com células alongadas $2,50\text{--}7,50 \times 1,25\text{--}2,50$ µm, às vezes se ramificam no ápice (Figs. 6A-6D); **máculas** ausentes. **PSEUDOCIFELAS** laminais, formadas a partir de uma organização das hifas

medulares em agrupamentos circulares em locais específicos, sobre os quais posteriormente ocorre o rompimento das células do córtex superior expondo as hifas da medula; nesse processo as células corticais se afastam e começam a se desintegrar em sentido centrífugo, resultando na expansão e alargamento da pseudocifela (Figs. 6B, 6C, 6D). **LÓBULOS** dorsiventrais, localizados no centro do talo (não mostrado). **LACÍNULAS** ausentes. **MEDULA** 50,00–100,00 μm alt., hifas horizontais predominantes, hifas verticais principalmente na metade superior da medula, hifas 1,25–2,50 μm larg., com células alongadas 2,50–7,50 $\times$ 1,25–2,50 μm , presença de cristais granulares revestindo a superfície das hifas da região mediana da medula (Figs. 6A, 6E). **SORAIS** ausentes. **ISÍDIOS** ausentes. **CÓRTEX INFERIOR** 1–3 células (1,25–7,50 μm) alt., células arredondadas com 1,25–2,50 μm diâm.; formado a partir da justaposição de hifas horizontais longitudinais (Figs. 6A, 6F); **rizinas** ausentes na região jovem do talo, simples, corticadas apenas na base, 25,00–100,00 μm diâm., equivalente a 10–30 hifas paralelas com 1,25–3,75 μm diâm., formadas a partir do tecido cortical e hifas medulares, hifas da rizina não se coram com azul de toluidina deixando evidente sua coloração mais clara que o córtex inferior (Fig. 6F).

***Punctelia roseola* Jungbluth, Marcelli & Elix**

in Marcelli, Jungbluth & Elix. Mycotaxon. 2009 (no prelo).

Figura 7

EPICÓRTEX 1,25–2,50 μm alt. (Fig. 7B) sem brilho em luz polarizada. **CÓRTEX SUPERIOR** compacto, 2–3 células (12,50–17,50 μm) alt., células pequenas e arredondadas 2,50–12,50 μm diâm. com paredes espessadas (paraplectênquima), estruturado em duas camadas distintas: a superior, logo abaixo do epicórtex, possui pouca afinidade pelo azul de toluidina e em luz polarizada suas células possuem brilho azulado, enquanto as células da camada inferior possuem brilho rosado; logo abaixo do córtex superior e acima da camada de algas, principalmente na região central do talo, ocorre uma camada irregular de “aeroplectênquima” constituída por lacunas grandes, 7,50–12,50 $\times$ 7,50–12,50 μm , delimitadas por hifas alongadas e septadas transversalmente que partem da medula (Figs. 7A, 7B, 7C, 7D). **CAMADA DE ALGAS** 1–4 células (5,00–40,00 μm) alt., com células arredondadas 5,00–10,00 μm diâm., conteúdo celular heterogêneo; hifas 2,50–5,00 μm larg., com células alongadas verticalmente (5,00–) 6,25–10,00 $\times$ 2,50–5,00 (–7,5) μm (Figs. 7A, 7B); **máculas** ausentes. **PSEUDOCIFELAS** laminais; formadas a partir do rompimento e

desintegração das células do córtex superior, expondo as hifas da medula; liberam células de alga que às vezes formam sorédios (Figs. 7D, 7F). **LÓBULOS** maioria no centro do talo, dorsiventrais, às vezes rizinados (Fig. 7E). **LACÍNULAS** ausentes. **MEDULA** 137,50–225,00 µm larg., hifas horizontais longitudinais predominantes, hifas 2,50 µm larg., com células alongadas (5,00–) 7,50–12,50 × 2,50–3,75 (–5,00) µm, presença de poucos cristais granulares revestindo a superfície das hifas da região mediana da medula (Figs. 7A, 7C). **SORAIS** ausentes. **ISÍDIOS** presentes (Fig. 7A). **CÓRTEX INFERIOR** paraplectenquimático com paredes espessadas, 1–3 células (2,50–22,50 µm) alt., células arredondadas 2,50–7,50 µm diâm., formado a partir da justaposição de hifas horizontais longitudinais (Fig. 7A); **rizinas** simples, corticadas, 30,00–50,00 µm diâm., equivalente a 15–25 hifas paralelas com 2,00–2,50 µm diâm., formadas a partir do tecido cortical e hifas da medula (Fig. 7G).

Diferenciação talina:

A margem do talo dos espécimes estudados é caracterizada por pequenas células de micobionte densamente compactadas, em divisão e não diferenciadas, não sendo possível a diferenciação entre córtex superior e inferior; as células do micobionte são acompanhadas, mais para o interior do talo, por células de algas também em divisão. Essa região marginal é caracterizada por células de micobionte e fotobionte em divisão e é considerada como sendo a região meristemática do talo liquênico, responsável pelo crescimento do talo.

Acompanhando a região superior do talo, logo após o término da região marginal talina, inicia-se a região de alongamento do talo que corresponde à região jovem do talo. Essa região é estratificada e composta por córtex superior, camada de algas, medula e córtex inferior. O córtex superior é aí composto por células maiores e arredondadas formando um paraplectênquima e as células de alga se dividem menos e se tornam maiores.

A região totalmente diferenciada do talo, correspondente à área mais central do talo, é caracterizada por um córtex superior mais espesso; é nela que ocorre a senescência do líquen, com a presença de células mortas de ambos os biontes.

As diferenças encontradas entre a região jovem e a região mais desenvolvida dos talos se referem principalmente à espessura do córtex, à presença de lacunas entre as células (aeroplectênquima) e à presença e tamanho de pseudocifelas, isídios e lóbulos.

4. Discussão

O padrão de desenvolvimento talino interno é similar em todos os espécimes estudados e está de acordo com o observado por Honegger (1993, 2008).

As principais diferenças encontradas entre as espécies estudadas são relacionadas principalmente ao tipo de formação das pseudocifelas, presença ou ausência de epicórtex recobrindo-as e à organização e estrutura do córtex superior. Outras diferenças são relacionadas aos tipos de propágulos vegetativos encontrados, à presença de córtex recobrindo as rizinas e a orientação das hifas medulares.

Foram encontrados dois modos de formação de pseudocifelas. Em *P. colombiana*, *P. graminicola* (151 e 430) e *P. roseola* as pseudocifelas são formadas a partir do rompimento e desintegração das células do córtex superior expondo as hifas da medula, isto é elas se formam do exterior para o interior do talo (Fig. 7D). Já em *P. constantimontium*, *P. graminicola* (150) e *P. imbricata* as pseudocifelas são formadas a partir de uma organização das hifas medulares em agrupamentos circulares em locais específicos do talo, afastando as células de alga, com o posterior rompimento das células do córtex superior e do epicórtex logo acima dessa região, expondo as hifas da medula (Figs. 6B-D). Inicialmente ocorre um afastamento das células corticais que logo a seguir começam a se desintegrar resultando na expansão e alargamento da pseudocifela. Nos dois casos o poro continua a aumentar por uma desintegração periférica e adicionais intrusões de hifas da medula. Em *P. roseola* as hifas medulares em associação com células de alga formam sorédios, fato observado por Beltman (1978) em outras espécies de *Parmelia*.

Beltman (1978) afirmou que o início da formação de uma pseudocifela se dá a partir de uma desintegração cortical da superfície exterior que progride para dentro do talo, enquanto Hale (1981) concluiu que a desintegração pode começar logo acima da camada de algas e se mover para cima até que a fina camada de polissacarídeos se rompa. Não existem relatos em literatura demonstrando o tipo de formação das pseudocifelas encontrado em *P. constantimontium*, *P. graminicola* (150) e *P. imbricata*.

As hifas das pseudocifelas que se originam da medula são comumente modificadas, menores, mais irregularmente agrupadas, e cobertas com material amorfo. Essas diferenças são facilmente distinguíveis entre as hifas da pseudocifela e da medula de um mesmo líquen (Hale 1981).

O mecanismo que dispara a desintegração do córtex e estimula as hifas medulares é desconhecido, mas tem sido sugerido que o fenômeno está relacionado com a área de

superfície de um lobo. Em outras palavras, o córtex começa a se rachar e forma poros em locais do talo onde a troca gasosa é insuficiente. Os poros recentemente formados restauram a relação ideal entre a troca gasosa e as necessidades metabólicas do líquen (Hale 1981).

Além das pseudocifelas laminais, *P. constantimontium* (978) possui pseudocifelas localizadas na margem dos lobos (Fig. 2F), uma característica considerada importante na definição de espécies, o que sugere que o exemplar estudado seja na realidade uma nova espécie de *Punctelia*. As pseudocifelas marginais se originam a partir da desintegração do córtex inferior e avançam pela margem dos lobos até a superfície superior do talo, indicando que a estrutura é mesmo uma pseudocifela e não apenas de um córtex inferior erodido. Neste exemplar, as pseudocifelas marginais também estão presentes no ápice dos lóbulos. O outro exemplar de *P. constantimontium* estudado (1038) não possui pseudocifelas na margem dos lobos mas elas aparecem marginais ou axilares nos lóbulos, conferindo com as características do espécime tipo (L.S. Canêz comunicação pessoal).

Em *P. constantimontium* e *P. graminicola* (151) o epicórtex é persistente acima das pseudocifelas (Fig. 2B). No entanto, segundo a literatura, apenas as espécies de *Parmelia* possuiriam epicórtex recobrindo as pseudocifelas (Hale 1981, Galloway and Elix 1983, Krog 1982). De acordo com Hale (1981), quando essa cobertura persiste acima da pseudocifela, desenvolvem-se as perfurações que, com a maturidade, formam as marcas angulares típicas do grupo *Parmelia saxatilis* e em *Platismatia*. Nas espécies do gênero *Punctelia* e em *Cetrelia olivetorum* a camada de polissacarídeos se quebra e as hifas são empurradas acima da superfície carregando restos do córtex e deixando às vezes uma margem que pode desaparecer. Galloway & Elix (1983) também consideraram que nas espécies de *Punctelia* as pseudocifelas não possuem essa cobertura de polissacarídeos. Nas outras espécies estudadas (*P. colombiana*, *P. graminicola* 150, 430, *P. imbricata* e *P. roseola*) esta camada se rompe enquanto as hifas medulares são empurradas para fora e acima da superfície, não restando qualquer vestígio de epicórtex acima da pseudocifela.

Em *P. graminicola* (430) o epicórtex possui um brilho rosado quando visualizado com o auxílio do polarizador (Figs. 5D, 5E), característica que não foi observada nas outras espécies estudadas.

Todas as espécies estudadas possuem córtex superior paraplectenquimático bem desenvolvido com 3–7 células de espessura, dependendo do tamanho do talo, porém diferem na formação ou não de camadas celulares distintas. Existe sempre uma primeira camada de células pequenas e arredondadas localizada logo abaixo do epicórtex, que lhes é extremamente aderente (o que é comum ao gênero). Abaixo desta primeira camada de células

existem as outras camadas, que variam de acordo com a espécie. As células possuem parede espessada e muito gelatinizada.

O córtex superior pode ser biestratificado (*P. graminicola* 151, *P. imbricata* e *P. roseola*) (Figs. 4A ;6A-C; 7D) ou ser constituído por três camadas de células (*P. colombiana*, *P. constantimontium* e *P. graminicola* 150 e 430) (Figs. 1B; 2A-2C; 3A; 5A-5B).

As células do córtex superior de *P. graminicola* (151) tomaram uma coloração diferente daquela das amostras dos materiais de *P. graminicola* (150 e 430), quando coradas com Azul de Toluidina. Em *P. graminicola* (151) o epicórtex foi corado de roxo, a primeira camada de células do córtex superior foi corada de azul claro, as demais células do córtex superior, as hifas da medula e do córtex inferior foram coradas de roxo, as células de alga ficaram esverdeadas, as hifas da camada de alga também foram coradas de azul claro. Nas outras espécies o epicórtex, as células do córtex superior e inferior e as hifas da medula foram corados de roxo, enquanto as células de alga foram coradas de azul turquesa.

Segundo Hale (1981), nas espécies pseudocifeladas a camada cortical é completamente uniforme e não existem outras passagens além da formação do poro. No entanto em *P. colombiana*, *P. graminicola* (151) e *P. roseola* existe a formação de grandes lacunas localizadas logo abaixo do córtex superior na região de contato com as células de algas (Figs. 1C; 4B; 7B). A formação dessas lacunas próximas às células de alga deve estar relacionada com as necessidades metabólicas da alga, já que isso ocorre principalmente na região central do talo onde o córtex se torna mais espesso. Não existe registro da presença deste tipo de tecido frouxo abaixo do córtex superior na literatura e se propõe aqui o termo “aeroplectênquima” para identificá-lo.

Tradicionalmente considera-se que a aeração do talo líquênico ocorra através dos poros e falhas no córtex superior e através das hifas frouxas da medula. Em *Punctelia* a aeração do talo ocorre também através das pseudocifelas, como proposto por Zukal (1895-6) já no século XIX, que reconheceu estas estruturas como possíveis passagens para a troca gasosa. A presença do aeroplectênquima indica, no entanto, a existência de outras vias auxiliares no processo de aeração do talo dessas espécies.

A espessura da medula varia de acordo com a espécie, *P. colombiana* apresenta medula mais espessa enquanto *P. imbricata* apresenta medula mais delgada, no entanto todas as espécies são caracterizadas pela predominância de hifas medulares horizontais com a presença de hifas verticais na região superior da medula, mostrando-se como um caráter constante para o grupo de espécies estudado (Figs. 1E; 2A; 3B; 4B; 5A; 6A; 7A).

No gênero *Punctelia* a origem das estruturas de reprodução direta é diferente das demais *Parmeliaceae*, apresentando peculiaridades que necessitam um estudo mais apurado e de uma terminologia particular ao grupo (Jungbluth 2006, Marcelli et al. 2009).

Em *P. colombiana*, *P. constantimontium*, *P. graminicola* (150 e 151), *P. roseola* e *P. imbricata* existem lóbulos com córtex superior e inferior diferenciados, sendo o córtex inferior muito claro, quase da mesma cor que o superior, o que muitas vezes pode levar à falsa observação da não existência do córtex inferior. No entanto, a diferenciação em córtex superior e inferior é facilmente verificada por dois aspectos: (1) em muitos lóbulos é óbvio o aparecimento de rizinas negras e compridas, às vezes com ápice bifurcado e (2), a camada de fotobionte é bem visualizada em corte transversal e encontra-se restrita a apenas um lado do lóbulo, o lado superior, com o córtex inferior evidente na face oposta (Figs. 1G; 3D-3E; 4D; 7E).

Em *P. graminicola* (430) não ocorre formação de lóbulos; o espécime é caracterizado pela presença apenas de lacínulas e a diferenciação entre as lacínulas e os lóbulos que estão presentes nas duas outras amostras de *P. graminicola* só pode ser realizada através da análise do material em microscópio estereoscópico, já que em secção transversal ambos são caracterizados por uma estrutura dorsiventral. As lacínulas são muito achatadas, planas, da mesma espessura do restante do talo e são mais longas que largas, semelhantes a fitas, ramificadas irregularmente. Existe uma grande confusão em relação às definições e diferenciações entre lacínulas e lóbulos, um lóbulo é achatado e mais largo que longo, e pequenas estruturas cilíndricas podem ser apenas iniciais de lacínulas, e não lóbulos verdadeiros (Marcelli 2006).

Segundo Canêz (2005) as descrições apresentadas na literatura para *P. graminicola* variam quanto à ausência ou presença de lóbulos, que podem ser completamente ausentes (Swinscow and Krog 1988), ausentes ou presentes (Egan and Aptroot 2004), ou sempre presentes (Ribeiro 1998, Eliasaro 2001). Os espécimes estudados aqui sob esse nome apresentam grande variação morfológica e anatômica. As diferenças são relacionadas aos tipos de propágulos vegetativos, ao número de camadas no córtex superior, à presença ou ausência de aeroplectênquima, ao tipo de formação das pseudocifelas e à presença ou não de epicórtex recobrindo-as. Assim as variedades estudadas aqui são na realidade espécies distintas, o que foi confirmado por L.S. Canêz (2009) em estudo taxonômico do grupo.

Agradecimentos – À L.S. Canêz, ao CAPES pela concessão da bolsa de doutorado a S. B. Barbosa e ao CNPq por bolsa de pesquisa a M. P. Marcelli.

Referências bibliográficas

- Barbosa, S.B. 2004. Estudos anatômicos em quatro espécies de *Parmeliaceae* (Ascomycota liquenizados). Dissertação de mestrado em Ciências Biológicas (Botânica). Universidade Estadual de São Paulo – UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil. (disponível em: <http://www.4shared.com/dir/4830094/950e897d/sharing.html>)
- Barbosa, S.B. 2009. Aplicabilidade taxonômica de variações anatômicas em fungos liquenizados. Tese de doutorado em Ciências Biológicas (Botânica). UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil.
- Barbosa, S.B, Marcelli, M.P. and Machado, S.R. 2009. Evaluation of different protocols for anatomical studies in *Parmeliaceae* (lichenized Ascomycota). *Micron* **40**: 218-225.
- Beltman, H.A. 1978. Vegetative structuren der *Parmeliaceae* und ihre entwicklung. *Bibliotheca Lichenologica* **2**: 1-193.
- Blanco, O., Crespo, A., Divakar, P.K., Esslinger, T.L., Hawksworth, D.L. and Lumbsch, T.H. 2004a. *Melanelixia* and *Melanohalea*, two new genera segregated from *Melanelia* (*Parmeliaceae*) based on molecular and morphological data. *Mycological research* **108**: 873-884.
- Blanco, O., Crespo, A. Elix, J.A., Hawksworth, D.L. and Lumbsch, H.T. 2004b. A molecular pylogeny and a new classification of parmelioid lichens containing *Xanthoparmelia*-type lichenan (*Ascomycota*: *Lecanorales*). *Taxon* **53**: 959-975.
- Blanco, O., Crespo, A., Divakar, P.K., Elix, J.A. and Lumbsch, H.T. 2005. Molecular phylogeny of parmotretoide lichens (*Ascomycota*, *Parmeliaceae*). *Mycologia* **97**: 150-159.
- Canêz, L.S. 2005. A família *Parmeliaceae* na localidade de Fazenda da Estrela, município de Vacaria, Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação (mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente). Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo.
- Crespo, A., Divakar, P.K., Arguello, A., Gasca, C. and Hawksworth D.L. 2004. Molecular studies on *Punctelia* species of the Iberian Península, with an emphasis on specimens newly colonizing Madrid. *The Lichenologist* **36** (5): 299-308.

- Crespo, A., Lumbsh, T., Mattsson, J.E., Blanco, O., Divakar, P.K., Articus, K., Wiklund, E., Bawingan, P.A. and Wedin, M. 2007. Testing morphology-based hypotheses of phylogenetic relationships in *Parmeliaceae* (Ascomycota) using three ribosomal markers and nuclear RPB1 gene. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **44**: 812-824.
- Divakar, P.K., Crespo, A., Blanco, O. and Lumbsh, T.H. 2006. Phylogenetic significance of morphological characters in the tropical *Hypotrachyna* clade of parmelioid lichens (*Parmeliaceae*, Ascomycota). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **40**: 448-458.
- Egan, R.S. and Aptroot, A. 2004. *Punctelia*. In: Lichen Flora of the greater Sonoran Desert Region Vol 2. Edited by T.H. Nash III TH, B.D. Ryan, P. Diederich, C. Gries and F. Bungartz. Lichens Unlimited, Arizona State University, Tempe, Arizona, USA. pp. 431-436.
- Egan, R.S. 2003. What is the lichen *Parmelia graminicola* B. de Lesd.? *The Bryologist* **106**(2): 314-316.
- Eliasaro, S. 2001. Estudio taxonómico y florístico sobre las *Parmeliaceae sensu stricto* (Ascomycota Liqueñizados) del Segundo Planalto del Estado de Paraná, Brasil. Buenos Aires. Tesis de Doctor (en Ciencias Biológicas). Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. 267 p.
- Elix, J.A. 1993. Progress in the generic delimitation of *Parmelia sensu lato* lichens (Ascomycotina: *Parmeliaceae*) and a synoptic key to the *Parmeliaceae*. *The Bryologist* **96**: 359-383.
- Elix, J.A. 1997. The lichen genera *Canomaculina* and *Rimeliella* (Ascomycotina, *Parmeliaceae*). *Mycotaxon* **65**: 475-479.
- Elix, J.A. 2003. The lichen genus *Paraparmelia*, a synonym of *Xanthoparmelia* (Ascomycota, *Parmeliaceae*). *Mycotaxon* **87**: 395-403.
- Esslinger, T.L. 1978. A new status for the brown *Parmeliae*. *Mycotaxon* **7**:45-54.
- Galloway, D.J. and Elix, J.A. 1983. The lichen genera *Parmelia* Ach. and *Punctelia* Krog, in Australasia. *New Zealand Journal of Botany* **21**: 397-420.
- Hale, M.E. 1980. Taxonomy and distribution of the *Parmelia flaventior* group (Lichens: *Parmeliaceae*) *Journal of the Hattori Botanical Laboratory* **47**: 75-84.
- Hale, M.E. 1981. Pseudocyphellae and pored epicortex in the *Parmeliaceae*: their delimitation and evolutionary significance. *Lichenologist* **13**: 1-10.
- Hawksworth, D.L. Kirk, P.M., Sutton, B.C. and Pegler, D.N. 1995. Dictionary of the Fungi. 8th Edn. International Mycological Institute, CAB International.

- Hawksworth, D.L. and Crespo, A. 2002. Proposal to conserve the name *Xanthoparmelia* against *Chondropsis* nom. cons. (*Parmeliaceae*). *Taxon* **51**: 807-807.
- Honegger, R. 1993. Developmental biology of lichens. *New Phytol.* **125**: 659-677.
- Honegger, R. 2008. Morphogenesis. *In: Lichen biology 2nd ed . Edited by T.H. Nash III.* Cambridge University Press. pp. 69-93.
- Jahns, H.M. 1973. Anatomy, morphology and development. *In: Ahmadjian V & Hale ME* (eds). *The Lichens*. New York: Academic Press. pp. 3-58.
- Jungbluth, P. 2006. A família *Parmeliaceae* (fungos liquenizados) em cerrados do Estado de São Paulo, Brasil. Dissertação (mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente). Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo.
- Krog, H. 1982. *Punctelia*, a new lichen genus in the *Parmeliaceae*. *Nord. J. Bot.* **2**: 287-292.
- Marcelli, M.P. 2004. Checklist of lichens and lichenicolous fungi of Brazil. Versão 1: junho 2004. http://www.biologie.uni-hamburg.de/checklists/brazil_l.htm.
- Marcelli, M.P. 2006. Fungos Liquenizados. *In: Biologia de Liqueus. Edited by L. Xavier Filho, M.E. Legaz, C.V. Cordoba and E.C. Pereira.* Âmbito Cultural Edições Ltda.: Rio de Janeiro. pp. 503-520.
- Marcelli, M.P., Jungbluth, P. and Elix, J.A. 2009. Four new species of *Punctelia* from São Paulo State, Brazil. *Mycotaxon*. No prelo.
- Modenesi, P. 1987. Histochemistry and generic delimitation in *Parmelia* and *Punctelia*. *Nova Hedwigia* **45**: 423-431
- O'Brien, T.P., Feder, N. and McCully, M.E. 1965. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* **63**: 443-478.
- Ribeiro, C.H. 1998. A família *Parmeliaceae* (Ascomycota liquenizados) em regiões montanhosas dos Estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo. Dissertação (mestrado em Botânica). Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. 194p.
- Sérusiaux, E. 1983. New data on the lichen genus *Punctelia* (*Parmeliaceae*). *Nordic Journal of Botany* **3**: 517-520.
- Sérusiaux, E. 1984. *Punctelia colombiana* sp. nov. (*Parmeliaceae*). *Nordic Journal of Botany* **4**: 717-718.
- Swinscow, T.D.V. and Krog, H. 1988. *Macrolichens of East Africa*. British Museum (Natural History), London. 390p.
- Zukal, H. 1895 (1986). *Morphologische und biologische Untersuchungen über die Flechten*. II. Sber. AkadWiss.Wien. II,104

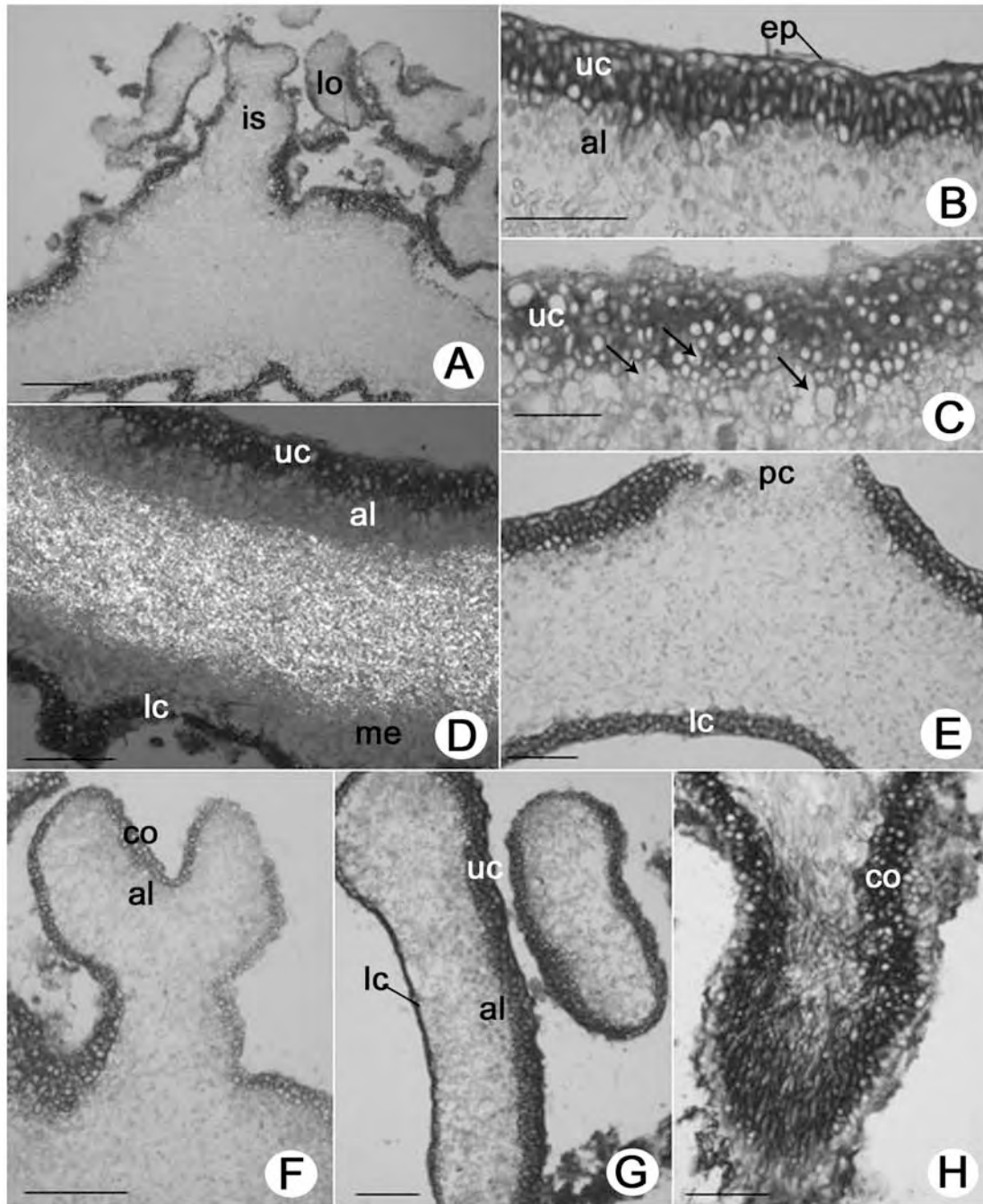


Figura 1. Secções transversais do talo de *Punctelia colombiana*. A. Secção transversal mostrando a presença de isídios (is) e lóbulos (lo). B. Detalhe do córtex superior (uc) da região jovem do talo mostrando a presença de epicórtex (ep), organização do córtex em três camadas distintas e camada de alga (al). C. Detalhe do córtex superior (uc) da região desenvolvida do talo mostrando a presença de grandes lacunas (setas) entre as células. D. Detalhe visualizado em luz polarizada mostrando a presença de cristais granulares distribuídos pela medula (me), (lc: córtex inferior). E. Detalhe mostrando pseudocifela (pc). F. Detalhe de isídio mostrando a camada de alga abaixo do córtex (co). G. Detalhe de lóbulo mostrando a organização dorsiventral, com a presença de córtex superior (uc), camada de algas (al) abaixo do córtex superior, e córtex inferior (lc). H. Detalhe de rizina mostrando a presença de córtex (co). Barras= 150µm (A), 100µm (D), 50µm (B, C, E-H).

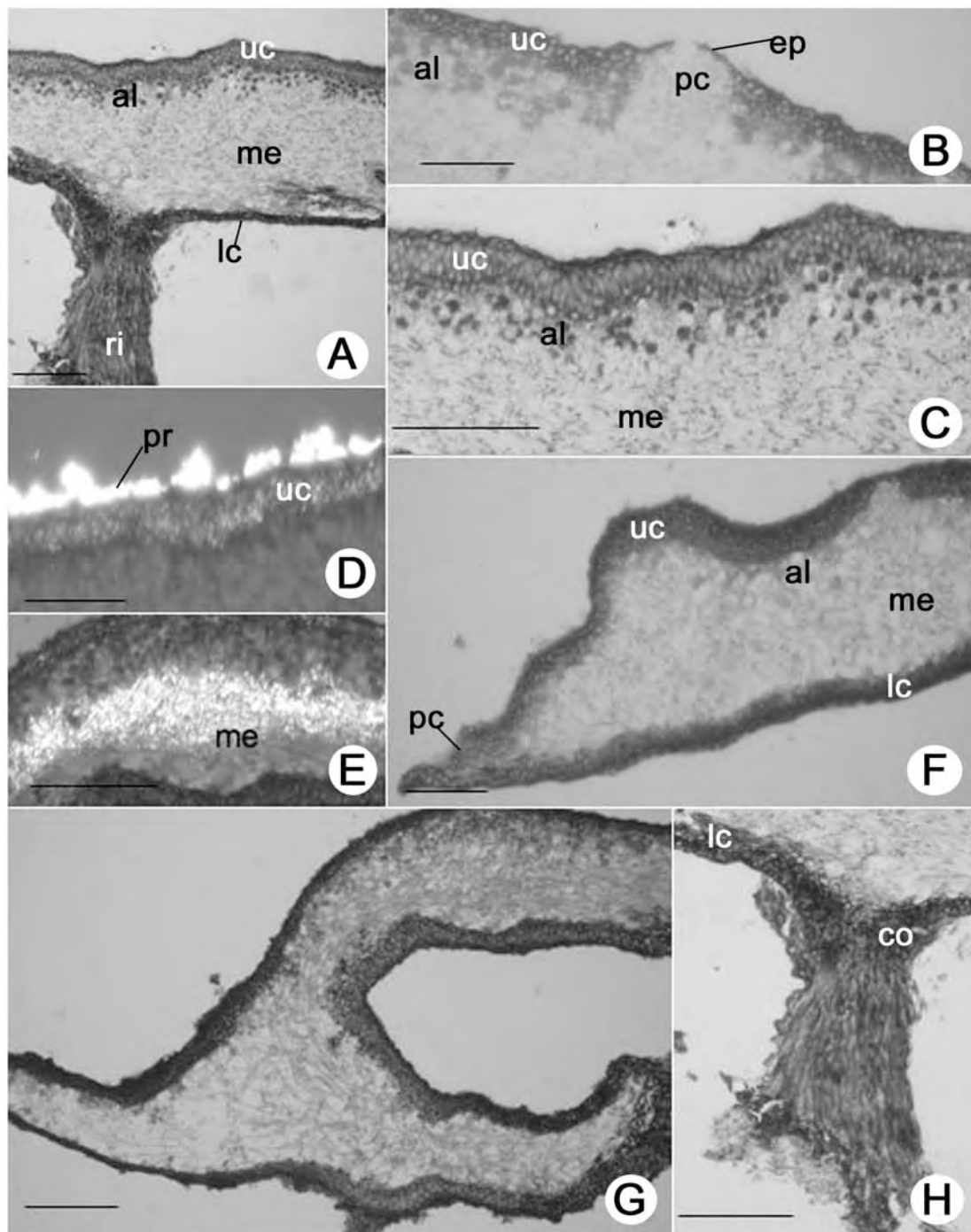


Figura 2. Secções transversais do talo de *Punctelia constantimountium*. A. Aspecto geral mostrando córtex superior (uc), camada de alga (al), medula (me), córtex inferior (lc) e rizina (ri). B. Detalhe de uma pseudocifela mostrando a presença de epicórtex (ep) persistente sobre o poro. C. Detalhe do córtex superior (uc) mostrando a organização em três camadas distintas. D. Detalhe do córtex superior (uc) visualizado em luz polarizada mostrando a presença de pruina (pr). E. Detalhe visualizado em luz polarizada mostrando a presença de cristais distribuídos na região mediana da medula. F. Detalhe mostrando a presença de pseudocifela (pc) localizada na margem do lobo. G. Detalhe da margem de um lobo mostrando o desenvolvimento de pseudocifela marginal. H. Detalhe de uma rizina mostrando a presença de córtex (co) apenas na sua base. Barras= 100µm (A, B, D, G, H), 50µm (C, E, F).

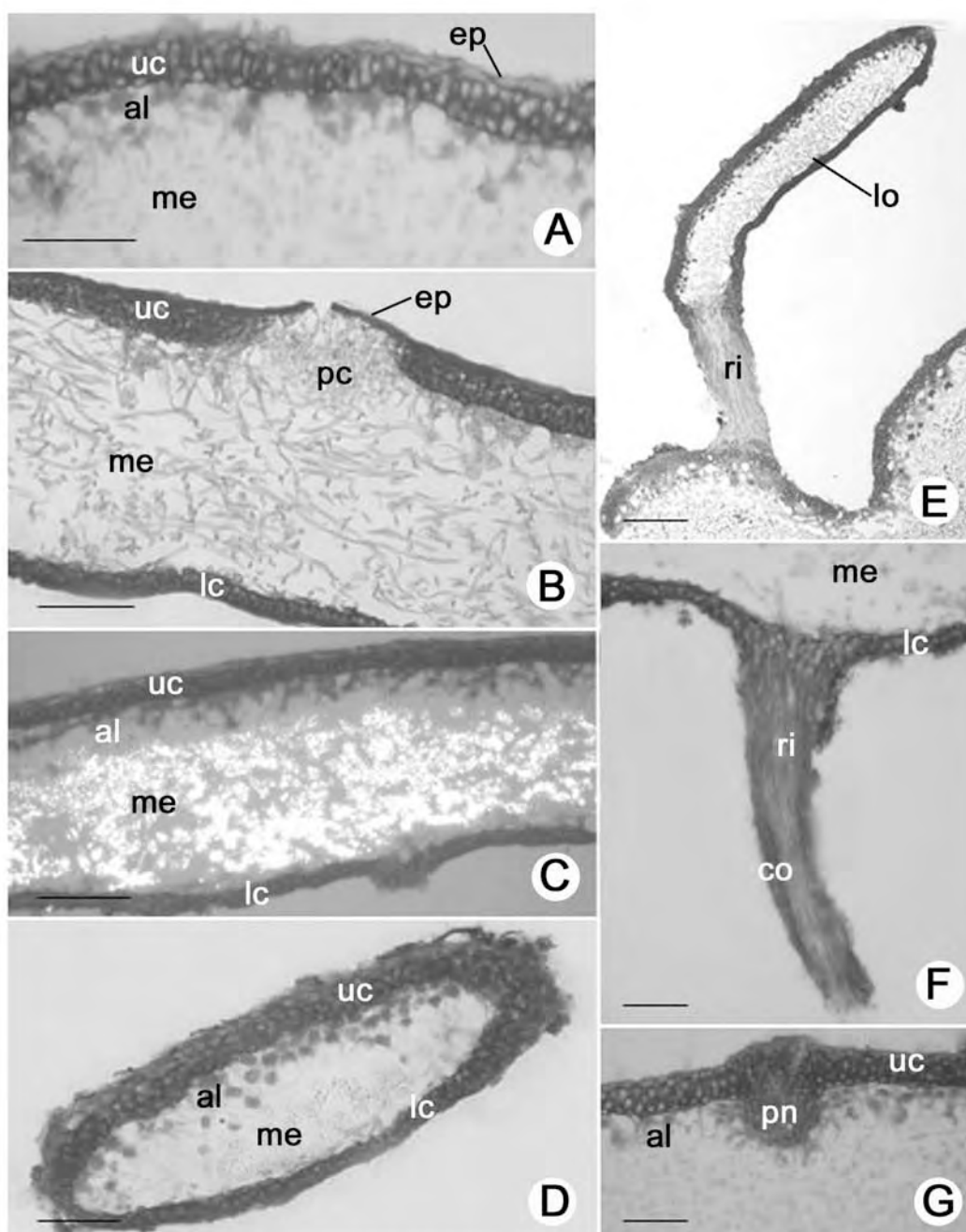


Figura 3. Anatomia do talo de *Punctelia graminicola* (L.S. Canêz & A.A. Spielmann 150). A. Detalhe mostrando epicórtex (ep), córtex superior (uc), camada de alga (al) e parte da medula (me). B. Secção transversal mostrando epicórtex (ep) persistente recobrendo parcialmente uma pseudocifela (pc), córtex superior (uc), camada de alga (al), medula e córtex inferior (lc). C. Secção transversal visualizada com auxílio de polarizador mostrando cristais presentes na medula. D. Detalhe de lóbulo mostrando estrutura dorsiventral com córtex superior (uc), camada de alga (al), medula (me) e córtex inferior (lc). E. Detalhe de lóbulo (lo) com rizina (ri). F. Detalhe de rizina. G. Detalhe de picnídio (pn). Barras= 50 µm.

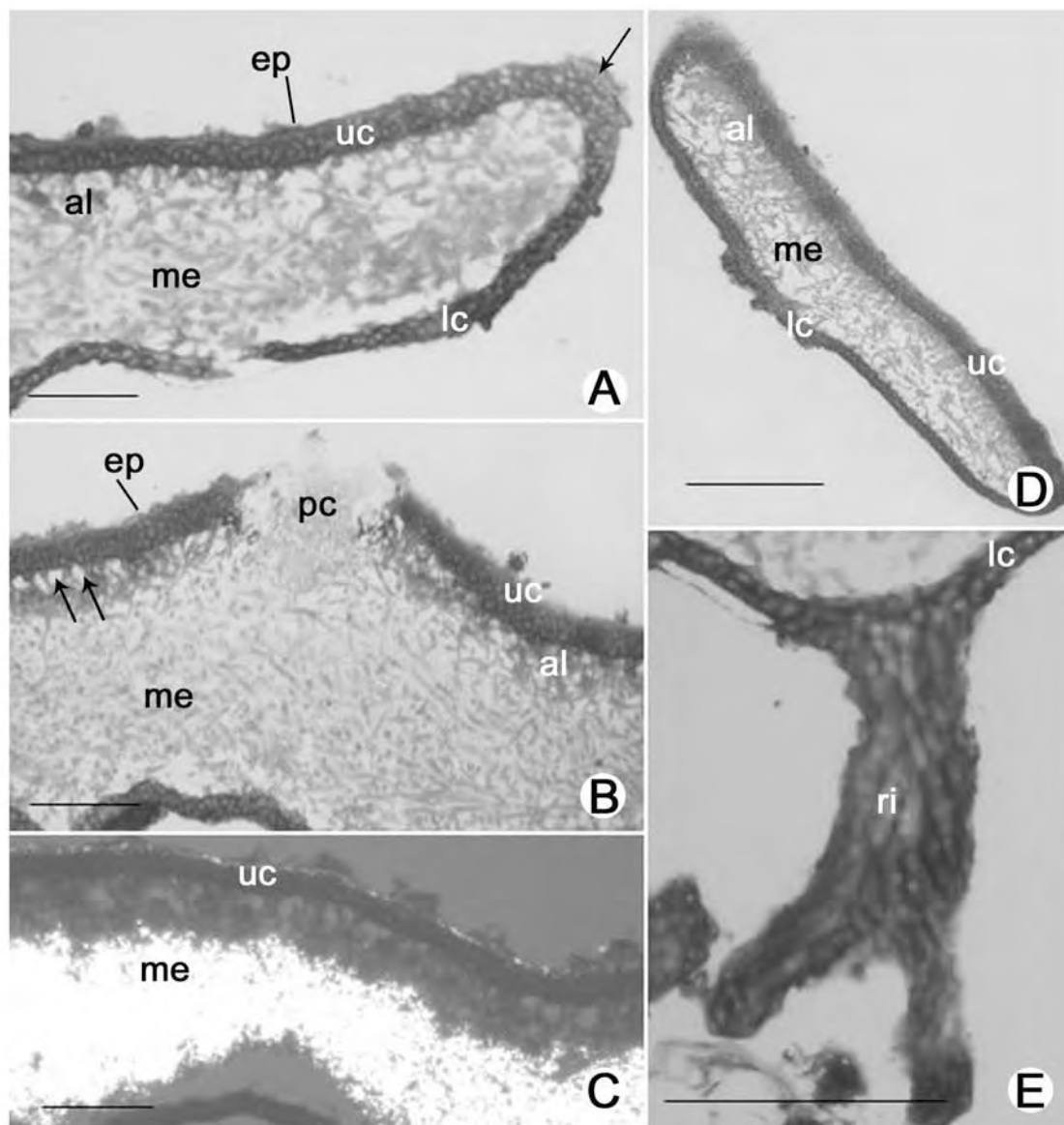


Figura 4. Secções transversais do talo de *Punctelia graminicola* (L.S. Canêz & A.A. Spielmann 151). A. Detalhe da margem do lobo mostrando córtex superior (uc), camada de alga (al), medula (me), córtex inferior (lc) e rizina (ri). B. Detalhe da região desenvolvida do talo mostrando córtex superior (uc), camada de alga (al), medula (me) e córtex inferior (lc). C. Detalhe do córtex superior (uc), e aeroplectênquima mostrando a presença de lacunas (setas). D. Detalhe mostrando uma pseudocifela (pc). E. Detalhe de um lóbulo mostrando a organização dorsiventral com córtex superior (uc), camada de alga (al), medula (me) e córtex inferior (lc). F. Detalhe visualizado com luz polarizada mostrando a presença de cristais distribuídos homogeneamente pela medula. G. Detalhe de uma rizina (ri). Barras= 100µm (A, D, E, F), 50µm (B, C, G).

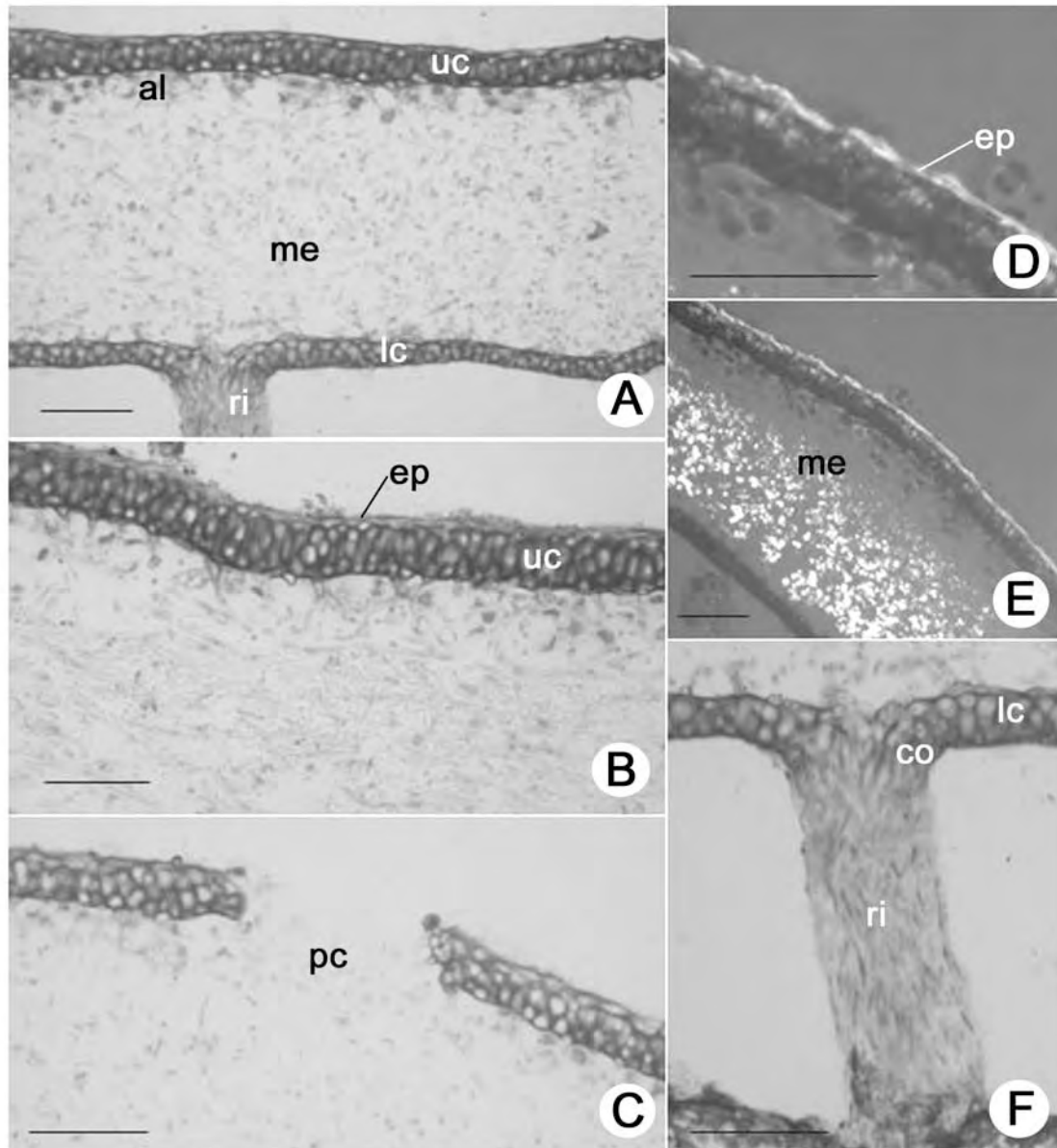


Figura 5. Secções transversais do talo de *Punctelia graminicola* (L.S. Canêz & A.A. Spielmann 430). A. Detalhe da região jovem do talo mostrando córtex superior (uc), camada de alga (al), medula (me), córtex inferior (lc) e rizina (ri). B. Detalhe mostrando epicórtex (ep) e córtex superior (uc). C. Detalhe de uma pseudocifela (pc). D. Detalhe visualizado em luz polarizada mostrando o epicórtex (ep) que possui brilho rosado. E. Detalhe visualizado com luz polarizada mostrando a presença de cristais distribuídos homogeneamente pela medula (me). F. Detalhe de uma rizina (ri) mostrando a presença de córtex (co) apenas na base. Barras= 50µm.

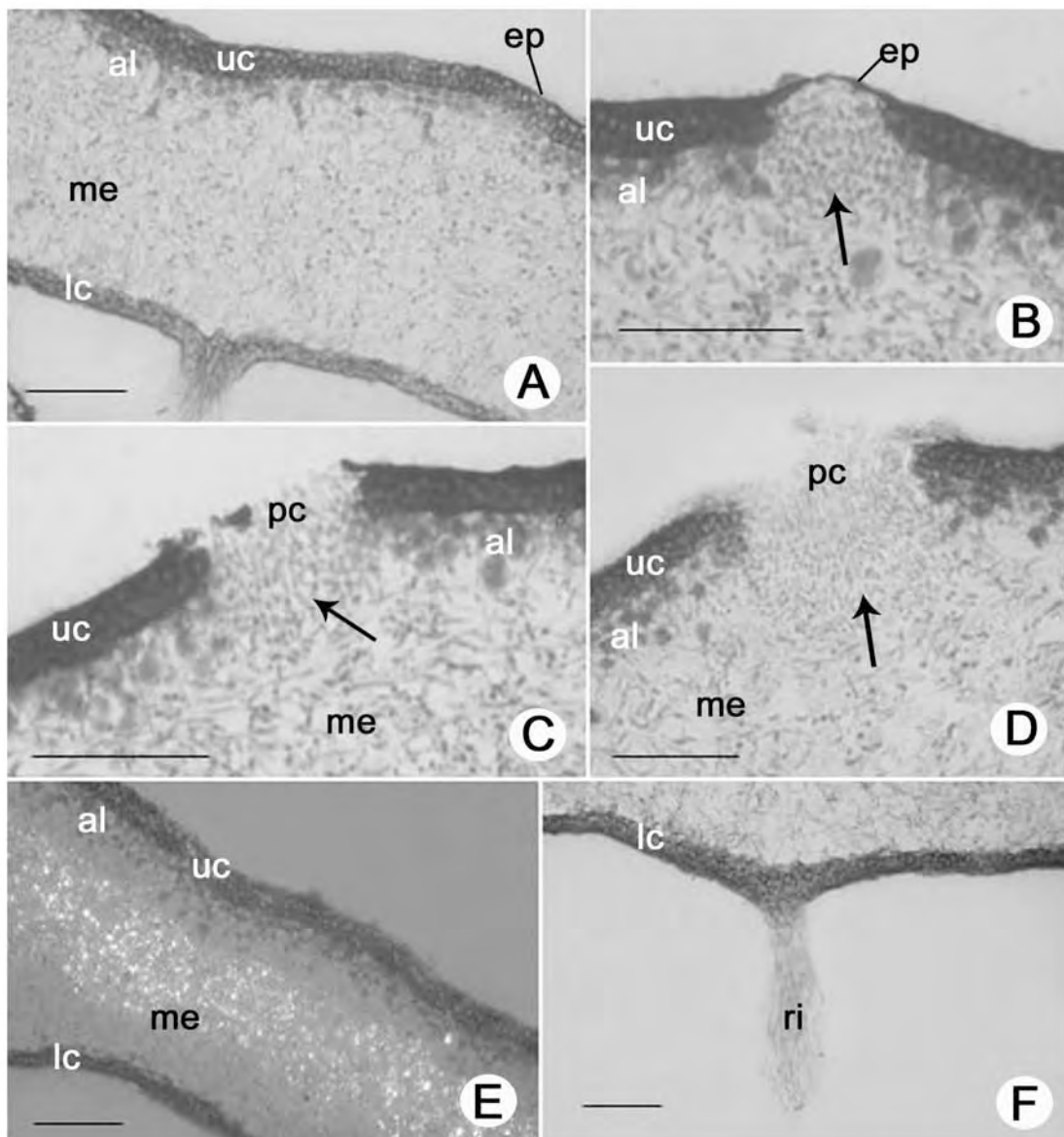


Figura 6. Secções transversais do talo de *Punctelia imbricata*. A. Aspecto geral mostrando epicórtex (ep), córtex superior (uc), camada de alga (al), medula (me) e córtex inferior (lc). B. Detalhe mostrando início da formação de pseudocifela que pode ser reconhecida pela formação de agrupamento de hifas medulares em forma circular (seta), epicórtex ainda não rompido (ep). C, D. Estágios posteriores da formação de pseudocifela mostrando os agrupamentos de hifas da medula em forma circular (setas), já com epicórtex rompido. E. Detalhe visualizado com auxílio de polarizador mostrando cristais presentes na medula. F. Detalhe de rizina. Barras= 50 μ m (A, B, C, D, F), 100 μ m (E).

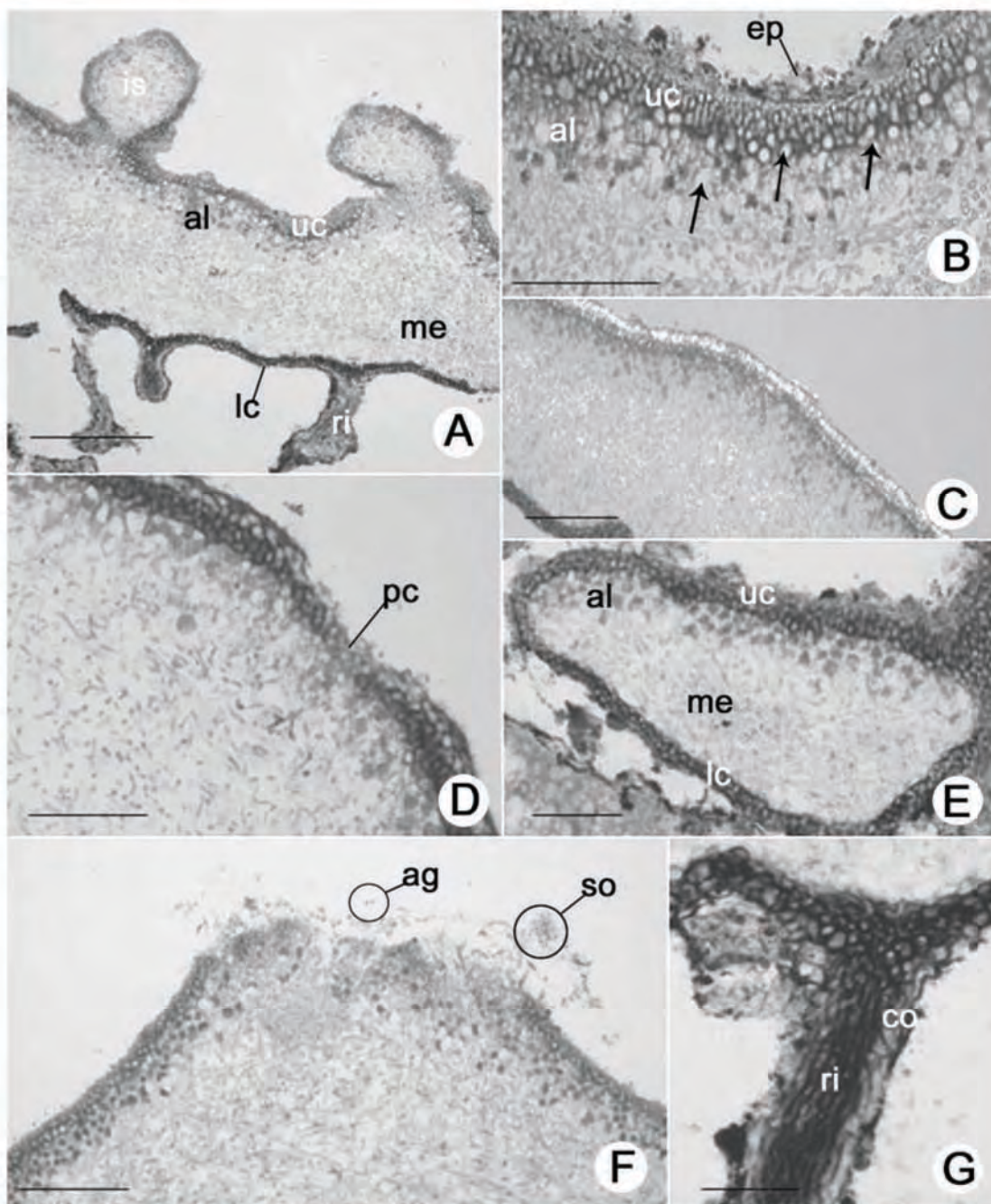


Figura 7. Secções transversais do talo de *Punctelia roseola*. A. Detalhe da região jovem do talo mostrando isídios (is), córtex superior (uc), camada de alga (al), medula (me), córtex inferior (lc) e rizina (ri). B. Detalhe do córtex superior (uc) mostrando epicórtex (ep) e aeroplectênquima com a presença de grandes lacunas (setas) entre as células corticais e da camada de algas. C. Detalhe visualizado em luz polarizada mostrando a presença de poucos cristais medulares e cristais de substâncias corticais. D. Detalhe do início da formação de uma pseudocifela mostrando a desintegração das células do córtex superior. E. Detalhe de um lóbulo mostrando a estrutura dorsiventral. F. Detalhe de pseudocifela mostrando algumas células de alga (ag) expelidas e a formação de sorédios (so). G. Detalhe de uma rizina mostrando a presença de córtex (co). Barras= 100µm (A, F, G), 50µm (B-E).

ARTIGO 2

**Morfoanatomia comparada do talo de espécies de *Parmotrema* (*Parmeliaceae*,
Ascomycota liquenizados) com máculas reticulares**

Barbosa, S.B.^{a*} & Marcelli, M.P.^b

^a Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Caixa Postal 510, 18618-000, Botucatu-SP, Brazil. Phone: 55 (14) 3811 6053. E-mail: suzibissacot@yahoo.com.br.

^b Instituto de Botânica, Seção de Micologia e Liquenologia, Caixa Postal 3005, 01061-970, São Paulo-SP, Brazil.

* Corresponding author

RESUMO - (Morfoanatomia comparada do talo de espécies de *Parmotrema* com máculas reticulares (*Parmeliaceae*, *Ascomycota* liquenizados)). Através de técnicas convencionais para estudos histológicos em microscopia de luz com auxílio de luz polarizada, é descrita e comparada a anatomia do talo de *Parmotrema cetratum*, *P. clavuliferum* e *P. sp.* Os dados obtidos neste estudo mostram que as espécies são anatomicamente semelhantes, incluindo-se a presença de epicórtex, a anatomia do córtex superior e as características das rizinas e dos cílios. Na medula das três espécies é possível observar a ocorrência de aglomerados de hifas em forma estrelada associados à presença de ácido salazínico medular. Este estudo indica que as características anatômicas são constantes para o grupo estudado de *Parmotrema* com máculas reticulares, anteriormente incluídas no gênero *Rimelia*.

Palavras-chave: anatomia, histologia, máculas reticulares, *Parmotrema*, *Rimelia*

1. Introdução

Com o aperfeiçoamento dos sistemas de observação, através da utilização de microscopia de luz e microscopia eletrônica de transmissão e varredura, a morfologia dos microcaracteres tem mostrado grande potencial de aplicabilidade taxonômica em muitos grupos de líquens (Crespo et al. 2006). Estudos relacionados com a estrutura superficial dos líquens e sua organização interna podem oferecer caracteres adicionais para a revisão dos conceitos taxonômicos de gênero e família (Hale 1976).

Além disso, vários estudos moleculares e filogenéticos realizados com fungos liquenizados nos últimos anos, inclusive com gêneros da família *Parmeliaceae* (Elix 1997, 2003; Hawksworth and Crespo 2002; Blanco et al. 2004 *a/b*; Blanco et al. 2005; Divakar et al. 2006; Crespo et al. 2007), têm modificando os conceitos de famílias e gêneros, alterando-lhes as circunscrições, porém ainda sujeitos a controvérsias de acordo com as opiniões particulares dos especialistas (Crespo et al. 2006).

Blanco et al. (2005), baseados em evidências morfológicas e moleculares, consideraram que o gênero *Rimelia* Hale e Fletcher deveria ser sinonimizado com o grande gênero *Parmotrema* Mass. Esses autores consideraram as características diagnósticas dos gêneros, como as diferenças nas rizinas, conídios, tamanho de esporos e química medular, inapropriados para o reconhecimento de grupos monofiléticos em líquens.

Nas espécies tradicionalmente incluídas em *Rimelia*, a superfície superior do talo é mais ou menos uniformemente reticulada-maculada e, na maturidade, fissuras regulares comumente se desenvolvem ao longo das máculas, atingindo a profundidade da camada de algas, e produzindo o padrão rimoso característico desse grupo (Hale and Fletcher 1990).

Este trabalho teve como principal objetivo realizar um estudo anatômico comparado e detalhado do talo de três espécies de *Parmotrema* com superfície superior do talo reticulada-maculada, anteriormente incluídas no gênero *Rimelia*: *P. cetratum* (Ach.) Hale, *P. clavuliferum* (Räsänen) Streimann e *Parmotrema* sp. (inérita, mencionada como *Rimelia divaricata* em Canêz 2005).

Este trabalho é a continuidade de um projeto iniciado em 2003, como parte da dissertação de mestrado do primeiro autor (Barbosa 2004) que teve como objetivo a descrição de um protocolo para estudos anatômicos em espécies da família *Parmeliaceae* (Barbosa et al. 2009a). Os resultados apresentados aqui são parte da tese de doutorado do primeiro autor (Barbosa 2009), que visou a estudar a aplicação dos dados anatômicos como auxiliares na

definição taxonômica de grupos de espécies na família *Parmeliaceae*.

2. Material e métodos

O material estudado foi obtido de amostras depositadas no Herbário Científico Maria Eneyda P. Kauffmann Fidalgo (SP) do Instituto de Botânica de São Paulo, conforme a Tabela 1.

Parmotrema sp. é uma espécie nova, recentemente encontrada pelo Grupo de Estudos Liquenológicos do Instituto de Botânica de São Paulo (dados não publicados) e caracteriza-se pela produção de sorais nos ápices de lacínulas marginais curtas de superfície inferior geralmente clara, e pela presença de ácidos salazínico, consalazínico, caperático e um ácido graxo não identificado na medula (K⁺ amarelo vermelho, P⁺ amarelo). Morfologicamente se parece com *P. clavuliferum*, que não apresenta ácido caperático medular e cujas lacínulas sorediadas são muito mais longas (Canêz 2005, Benatti and Marcelli 2008). *Parmotrema cetratum* (Ach.) Hale é um fungo liquenizado de distribuição pantemperada e pansubtropical, bastante ciliado e que não possui propágulos vegetativos, se reproduzindo apenas através da produção de ascósporos produzidos pelo micobionte.

Tabela 1: Lista dos espécimes do gênero *Parmotrema* estudados com respectivos coletores, número de coletor e local de procedência.

Espécies	Material	Município/Estado
<i>P. cetratum</i>	P. Jungbluth, A.A. Spielmann & L.S. Canêz 861	Itirapina/SP
	S.B. Barbosa & M.P. Marcelli 407	Botucatu/SP
<i>P. clavuliferum</i>	A.A. Spielmann, L.S. Canêz & C. Trentin 683	Herveiras /RS
	A.A. Spielmann & J. Putzke 1303	Herveiras /RS
	A.A. Spielmann & L.S. Canêz 745	Sinimbu/Rs
<i>P. sp.</i>	A.A. Spielmann, L.S. Canêz & C. Trentin 724	Herveiras /RS
	A.A. Spielmann & L.S. Canêz 937	Sinimbu/SP
	L.S. Canêz & A.A. Spielmann 758	Vacaria/Rs

Foram estudadas secções transversais e longitudinais de lobos, obtidas a partir de amostras retiradas das regiões jovens (próximas da margem) e das desenvolvidas (próximas

ao centro) do talo. Foram preparados três blocos para cada região do talo amostrada e feitas pelo menos quatro lâminas de cada bloco.

Microscopia de luz – o material foi preparado de acordo com o protocolo estabelecido por Barbosa et al. (2009a) para estudos anatômicos de líquens da família *Parmeliaceae*. Amostras com $0,5 \times 1$ cm provenientes de material herborizado foram desidratadas em série etílica (70%, 95%, 100%, 2 horas cada) e incluídas em resina metacrilato (Leica®) (5 horas) a temperatura ambiente. Os blocos foram seccionados em micrótomo de rotação semi-automático com navalha descartável. Parte dos cortes obtidos, com 2 a 5 μ m de espessura, foram corados com Azul de Toluidina 0,05%, pH 4,7 (O'Brien et al. 1965) e montados entre lâmina e lamínula com resina sintética Permout®. Como controle, a outra parte foi montada entre lâmina e lamínula com Permout sem ser corada. Os aspectos relevantes foram fotografados em microscópio Zeiss acoplado em câmera Olympus, com e sem filtro polarizador. Foram tomadas medidas das células com auxílio de retículo de ocular.

Também como controle, secções de material recém-coletado, obtidas à mão-livre com auxílio de lâminas de barbear ou com micrótomo de Ranvier foram montadas entre lâmina e lamínula com glicerina. Os aspectos relevantes foram fotografados em fotomicroscópio Zeiss, com e sem filtro polarizador, utilizando-se filme Pro Image 100.

Microscopia eletrônica de varredura (MEV) - amostras de material seco ao ar livre foram montadas com cola de prata e esmalte sobre suporte de alumínio e metalizadas com uma camada de ouro de 10 nm de espessura. O material foi analisado em microscópio eletrônico de varredura Philips Quanta 200.

A descrição das espécies segue o protocolo desenvolvido pelo Grupo de Estudos Liquenológicos do Instituto de Botânica, São Paulo/SP, e adaptado para estudos anatômicos por Barbosa (2004).

Para as descrições anatômicas do corte transversal dos lobos das espécies apresentadas abaixo são consideradas as seguintes definições:

- **Plectênquima:** falso-tecido formado por hifas entrelaçadas, interconectadas por anastomoses ou firmemente compactadas (Jahns, 1973);
- **Tecido:** constituído de células posicionadas lado a lado;
- **Plectênquima paliádico:** plectênquima composto por hifas paralelas com organização semelhante a paliçada;

- **Paraplectênquima:** plectênquima composto por hifas com paredes delgadas, que perdem a aparência de hifas, com organização celular lembrando o parênquima dos vegetais (Hawksworth et al. 1995);
- **Prosoplectênquima:** plectênquima de hifas com paredes espessadas, facilmente reconhecíveis (Hawksworth et al. 1995).

3. Resultados

***Parmotrema cetratum* (Ach.) Hale**

Phytologia 28 (4): 335. 1974

Figura 1

EPICÓRTEX 0,75–2,00 μm alt. (Fig. 1A). **CÓRTEX SUPERIOR** prosoplectênquima paliçádico, 3–5 (–7) céls. alt. (17,50–37,50 μm), com células levemente alongadas e de parede espessada 5,00–10,00 $\times$ 5,00–7,50 μm , formado a partir da justaposição das células apicais de hifas que se projetam a partir da medula; fissuras freqüentes responsáveis pelo padrão reticulado do talo; **máculas** distintas formadas por feixes de hifas medulares paralelas com 3–5 hifas (12,50–62,50 μm larg.), podendo originar fissuras no córtex superior (Figs. 1A, 1B); **cílios** abundantes. **CAMADA DE ALGAS** 2–5 céls. alt. (10,00–37,50 μm), com células arredondadas (5,00–) 10,00–12,50 μm diâm., conteúdo celular heterogêneo; hifas 2,50–5,00 μm larg., com células alongadas 7,50–12,50 μm comp. (Figs. 1A, 1B). **MEDULA** 125,00 $\times$ 162,50 μm alt., com hifas horizontais longitudinais predominantes; hifas 2,50–3,75 μm larg., com células finas e alongadas 7,50–12,50 μm comp.; presença de aglomerados de forma estrelada de hifas com incrustações de cristais, associados a hifas que partem da medula para compor o córtex superior e próximos ao local de formação das rizinas (Figs. 1A, 1B, 1C). **SORAIS** ausentes. **ISÍDIOS** ausentes. **CÓRTEX INFERIOR** prosoplectênquima, 1–3 céls. alt. (10,00–25,00 μm), com células arredondadas de parede espessada 5,00–7,50 μm diâm. (Fig. 1B, C); **rizinas** simples a irregularmente ramificadas, 15,00–37,50 μm larg., formadas por 6–11 hifas aglutinadas cada uma com 1,25–2,50 μm larg. (Figs. 1B, 1C)

***Parmotrema clavuliferum* (Räsänen) Streimann**

Bibliotheca Lichenologica 22: 93. 1986.

Figura 2

EPICÓRTEX 0,65–2,50 μm alt. (Figs. 2A, 2B). **CÓRTEX SUPERIOR** prosoplectênquima paliçádico, 2–5 céls. alt. (12,50–25,00 μm), com células levemente alongadas e de parede espessada 5,00–10,00 $\times$ 2,50–5,00 (–7,50) μm , formado a partir da justaposição das células apicais de hifas que se projetam a partir da medula; fissuras freqüentes responsáveis pelo padrão reticulado do talo; **máculas** distintas formadas por feixes de hifas medulares paralelas com 3–6 hifas (10,00–50,00 μm larg.), podendo originar fissuras no córtex superior (Figs. 2A, 2B); **cílios** freqüentes na margem dos lobos não sorediados **CAMADA DE ALGAS** 1–4 céls. alt. (5,00–17,50 μm), com células pequenas e arredondadas 3,75–5,00 (–7,50) μm diâm., conteúdo celular heterogêneo; hifas 2,50–3,75 μm larg., com células alongadas 7,50–12,50 μm comp. (Figs. 2A, 2B) **MEDULA** 50,00 $\times$ 75,00 μm alt., com hifas horizontais transversais nas partes superior e na parte inferior da medula, sendo que na região mediana ocorrem principalmente hifas horizontais longitudinais; hifas 2,50–3,75 μm larg., com células finas e alongadas 10,00–15,00 μm comp. (Figs. 2A, 2B); presença de aglomerados de forma estrelada de hifas com incrustações de cristais, associados a hifas que partem da medula para compor o córtex superior (Fig. 2D) **SORAIS** 1,00–1,50 cm larg. no ápice de lacínulas; **sorédios** arredondados com 3–8 cél. de algas, 12,50–37,50 μm diâm., freqüentemente corticados (Figs. 2E, 2F); **ISÍDIOS** ausentes. **CÓRTEX INFERIOR** prosoplectênquima, 1–3 céls. alt. (7,50–17,50 μm), com células arredondadas de parede espessada 5,00–7,50 μm diâm. (Figs. 2A, 2C); **rizinas** simples a irregularmente ramificadas, (25,00–) 37,50–50,00 (–62,50) μm larg., formadas por 10–15 hifas aglutinadas cada uma com 2,50–3,75 μm larg. (Fig. 2C).

***Parmotrema* sp.**

Figura 3

EPICÓRTEX 1,25–2,00 μm alt. (Figs. 3A, 3C). **CÓRTEX SUPERIOR** prosoplectênquima paliçádico, 2–5 céls. alt. (7,50–25,00 μm), com células alongadas de paredes espessadas (2,50–) 7,50–10,00 $\times$ 1,25–2,50 (–5,00) μm , formado a partir da justaposição das células apicais de hifas que se projetam a partir da medula; fissuras freqüentes responsáveis pelo padrão reticulado do talo; **máculas** distintas formadas por feixes de hifas medulares paralelas com 3–6 hifas, (10,00–) 37,50–100,00 μm larg., podendo originar fissuras no córtex superior (Figs. 3A, 3B, 3C, 3D), **cílios** simples, freqüentes, presentes em toda a margem dos lobos não sorediados. **CAMADA DE ALGAS** 1–4 céls. alt. (5,00–32,50 μm), com células pequenas e arredondadas (2,50–) 5,00–7,50 μm diâm., conteúdo celular heterogêneo; hifas 2,50–3,75 μm

larg., com células alongadas 10,00–17,50 μm comp. (Figs. 3B, 3C, 3D). **MEDULA** 62,50–150,00 μm alt., hifas horizontais longitudinais predominantes, hifas horizontais transversais principalmente na região inferior da medula com hifas (1,75–) 2,50–3,75 μm larg., de células finas e alongadas 7,50–12,50 μm comp., presença de aglomerados de forma estrelada de hifas com incrustações de cristais, associados às hifas que partem da medula para compor o córtex superior, além de cristais depositados sobre a superfície das hifas por toda a medula (Figs. 3B, 3D). **SORAIS** (175,00–) 225,00–1000,00 μm larg.; **sorédios** arredondados, pequenos, às vezes com restos de células do córtex superior, com 1–5 cél. de algas (7,50–) 12,50–25,00 μm diâm., formados no ápice de lacínulas (Fig. 3F). **ISÍDIOS** ausentes. **CÓRTEX INFERIOR** prosoplectênquima, 1–4 cél. alt. (5,00–17,50 μm), com células arredondadas de parede espessada (2,50–) 5,00–7,50 μm diâm. (Figs. 3B, 3G); **rizinas** corticadas, simples a irregularmente ramificadas 25,00–50,00 μm larg., equivalente a 5–15 hifas paralelas com 1,25–2,50 μm larg. cada uma, formadas a partir do tecido cortical e de hifas medulares (Fig. 3G).

As principais características anatômicas das espécies estudadas estão sumarizadas na Tabela 2.

Descrição dos cristais (Figuras 4, 5, 6)

A partir das secções de material fresco (Fig. 4A, 4B) foram detectadas grandes quantidades de cristais na superfície celular do fungo nas diferentes partes do talo liquênico, porém principalmente no córtex superior e medula. Os cristais podem ser vistos com o auxílio da luz polarizada (Fig. 4A) por toda a superfície da parede celular do fungo e não são restritos às regiões imediatas dos locais de contato entre as hifas e os fotobiontes. As secções não coradas observadas sem o auxílio do polarizador (Fig. 4B) revelam a presença de aglomerados de hifas de forma estrelada, distribuídos pela medula principalmente na região superior, logo abaixo da camada de alga.

Tabela 2: Principais características anatômicas de *Parmotrema cetratum* (Ach.) Hale, *Parmotrema clavuliferum* (Räsänen) Streimann e *Parmotrema* sp. (dados químicos segundo Canêz 2005, Spielmann 2005, Benatti & Marcelli 2008)

<i>P. cetratum</i>	<i>P. clavuliferum</i>	<i>Parmotrema</i> sp.
--------------------	------------------------	-----------------------

Epicórtex	0,75–2,00 µm alt.	0,65–2,50 µm alt.	1,25–2,00 µm alt.
Córtex superior	prosoplectênquima paliádico, 3–5 (–7) céls. alt. (17,50–37,50 µm), fissuras freqüentes	prosoplectênquima paliádico, 2–5 céls. alt. (12,50–25,00 µm), fissuras freqüentes	prosoplectênquima paliádico, 2–5 céls. alt. (7,50–25,00 µm), fissuras freqüentes
Camada de algas	2–5 céls. alt. (10,00–37,50 µm),	1–4 céls. alt. (5,00–17,50 µm)	1–4 céls. alt. (5,00–32,50 µm)
Máculas	3–5 hifas (12,50–62,50 µm larg.), podendo originar fissuras	10,00–50,00 µm larg., podem originar fissuras	(10,00–) 37,50–100,00 µm larg., podem originar fissuras
Medula	125,00–162,50 µm larg. hifas com arranjo horizontal longitudinal.	50,00 × 75,00 µm larg., hifas horizontais transversais na parte superior e na parte inferior, hifas horizontais longitudinais na região mediana	62,50–150,00 µm larg., hifas horizontais longitudinais predominantes, hifas horizontais transversais na região inferior
Cristais	aglomerados de hifas de forma estrelada com incrustações de cristais	aglomerados de hifas de forma estrelada com incrustações de cristais	aglomerados de hifas de forma estrelada com incrustações de cristais, cristais depositados sobre a superfície das hifas por toda a medula
Sorais	ausentes	1000,00–1500,00 µm larg., no ápice de lacínulas; sorédios arredondados, 3–8 céls de algas, 12,50–37,50 µm diâm., freqüentemente corticados	(175,00–) 225,00–1000,00 µm larg., no ápice de lacínulas; sorédios arredondados, com restos de células do córtex superior, 1–5 céls de algas, (7,50–) 12,50–25,00 µm diâm.,
Isídios	ausentes	ausentes	ausentes
Córtex inferior	prosoplectênquima, 1–3 céls. alt. (10,00–25,00 µm)	prosoplectênquima, 1–3 céls. alt. (7,50–17,50 µm)	prosoplectênquima, 1–4 céls. alt. (5,00–17,50 µm)
Rizinas	corticadas, simples a irregularmente ramificadas, 15,00–37,50 µm larg.,	corticadas, simples a irregularmente ramificadas, (25,00–) 37,50–50,00 (–62,50) µm larg.	corticadas, simples a irregularmente ramificadas 25,00–50,00µm larg.

A análise das secções com 2–5 µm de espessura de material fixado e incluído em resina (Figs. 5A, 5B) possibilitou a observação pormenorizada da ocorrência, localização e características desses cristais. Na medula, os cristais se reúnem nos aglomerados estrelados, que possuem 10,00–50,00 µm de diâmetro. A maioria está localizada na parte superior da medula, na região de contato com a camada de algas, formando um estrato nítido, que aparece como uma fileira de cristais de muitos raios longos, normalmente pontiagudos, que se

irradiam de um núcleo amorfo; os raios são simples ou variadamente ramificados com 1,75–2,50 μm de diâmetro. É muito comum que o ápice dos raios esteja associado às hifas que partem da medula e atravessam a camada de algas para compor o córtex superior (Fig. 5A); entretanto, alguns pequenos grupos isolados de cristais encontram-se na região inferior da medula, junto ao córtex inferior, e diretamente relacionados com os locais de formação das rizinas (Fig. 1C).

As análises em MEV (Figs. 6A, 6B) confirmaram a presença de aglomerados de hifas em forma de estrela logo abaixo da camada de algas e também possibilitaram a observação dos cristais depositados na superfície dessas hifas.

Diferenciação talina:

A margem do talo das espécies estudadas é caracterizada por possuir pequenas células de micobionte densamente compactadas, em divisão e não diferenciadas, não é possível a diferenciação de córtex superior e inferior; as células do micobionte são acompanhadas por células de algas (mais para o interior do talo) também em divisão. Essa é considerada como sendo a região meristemática do talo líquênico, responsável pelo crescimento do talo.

Logo após o término da região marginal inicia-se a região de alongamento do talo que corresponde à parte jovem do talo, região estratificada e composta por córtex superior, camada de algas, medula e córtex inferior. Aí o córtex superior é composto por células maiores e arredondadas formando um prosoplectênquima paliádico e foi encontrada menor quantidade de células de alga em divisão, maiores que aquelas da região marginal do talo.

A região seguinte, totalmente diferenciada, corresponde à área mais central do talo e é caracterizada por um córtex superior mais espesso. É nela que ocorre a senescência do líquen, com a presença de células mortas de ambos os biontes.

4. Discussão

O padrão de desenvolvimento talino interno é similar em todas as espécies estudadas e está de acordo com o observado por Honegger (1993, 2008) e Barbosa e Marcelli (2009 artigo1).

Os dados obtidos mostram que as três espécies são anatomicamente semelhantes, incluindo-se a anatomia do córtex superior e as características das rizinas e dos cílios.

Nas três espécies foi possível a visualização do epicórtex (Figs. 1A, 2A, 2B, 3A, 3C), que apesar de ser considerado uma fina camada de polissacarídeos visível apenas em microscopia eletrônica de varredura (Hale 1973), tem sido facilmente visualizado em microscopia de luz em diversos trabalhos (Barbosa et al. 2009a/b, Barbosa et al. *in prep.*).

O córtex superior é prosoplectenquimático paliçádico, caracterizado por células levemente alongadas de parede espessada apresentando máculas que podem originar fissuras, responsáveis pelo padrão reticulado-maculado do talo, concordando com o considerado por Elix (1993) (Figs. 1A, 1B, 2A, 2B, 3A, 3B, 3C, 3D).

O padrão reticulado-maculado observado das máculas também está de acordo com o descrito na literatura (Hale and Fletcher 1990, Benatti and Marcelli 2008).

As máculas têm sido descritas como manchas brancas (ou coloridas no caso de espécies de medula colorida) resultantes da simples ausência de algas em certas partes da camada de alga (Marcelii 2006). Entretanto, a formação e estrutura anatômica das máculas, aqui descrita pela primeira vez, é bem mais complexa que a simples ausência de algas. Anatomicamente, elas são consequência da ramificação das hifas que partem da medula para formar o córtex em paliçada. Ao atravessar a camada de algas, as hifas organizadoras do córtex se ramificam em forma de penacho, porém permanecendo aglutinadas em feixes compactos, que, no nível da camada de algas, separam as células dos fotobiontes em grupos (Fig. 1A, 2A, 3C, 3D). Dessa maneira, os espaços existentes entre os grupos de células de algas, ocupados por hifas do fungo, se revelam morfológicamente como máculas na superfície do talo, que, mais do que revelarem ausência de fotobionte, indicam padrões de organização das hifas geradoras do córtex. Como o padrão de máculas tem sido utilizado na caracterização de gêneros e espécies em muitos grupos de fungos liquenizados, o fato de elas resultarem do modo de estruturação do córtex é altamente significativo e digno de muito maior atenção futura.

Se a formação e estrutura das máculas é a mesma em outros grupos taxonômicos, ainda é matéria para estudo.

Além disso, as fissuras regulares características do grupo de espécies estudado se originam justamente nos locais de formação de máculas e anatomicamente se mostram como espaços separando pequenos buquês de hifas organizadoras do córtex superior, evitando assim a exposição das células de alga, mas garantido a adequada aeração do talo, que possui um córtex superior denso e espesso (Fig. 2A, 3C, 3D).

A anatomia do córtex superior é considerada um caráter taxonômico válido em muitos grupos de líquens e utilizada na delimitação de famílias como *Pyxinaceae* [*Physciaceae*] (Moberg 1977) e *Ramalinaceae* (Bowler 1981) e na distinção de gêneros como *Bryocaulon*, *Coelocaulon* e *Cornicularia* (Kärnefelt 1986), *Parmelia* e *Punctelia* (Modenesi 1987).

Este estudo indica que existe um padrão na estrutura do córtex superior no grupo de espécies de *Parmotrema* com superfície superior do talo reticulada-maculada, e que esse padrão pode ser utilizado para a colocação dessas espécies dentro de um grupo uniforme dentro do gênero *Parmotrema*. Temos observado, durante os últimos anos, que em espécies de gêneros distintos da família *Parmeliaceae* o arranjo de células corticais é bem distinto daquele observado nessas espécies particulares de *Parmotrema*. Por exemplo, em *Punctelia* (Barbosa & Marcelli 2009, artigo 1) o córtex superior é caracterizado por possuir células mais ou menos isodiamétricas, que formam um paraplectênquima bem compactado, além da presença de pseudocifelas características do gênero. Em *Parmelinopsis minarum* (Vainio) Elix e Hale as células do córtex superior não formam um arranjo contínuo (Barbosa et al. 2009b) e em *Canoparmelia texana* (Tuck.) Elix e Hale o córtex superior é caracterizado pela presença de grandes lacunas entre as células, considerado pelos autores como córtex lacunoso (Barbosa et al. *in prep.*).

Na medula das três espécies de *Parmotrema* estudadas ocorrem aglomerados de hifas em forma estrelada logo abaixo da camada de algas e em associação com as hifas que partem da medula e atravessam a camada de algas para compor o córtex superior. Além disso, essas hifas são recobertas por cristais, revelados com o auxílio de microscópio com polarizador (Figs. 1B, 2D). Devido à sua forma característica aventou-se a possibilidade desses aglomerados serem artefatos de técnica ou resultantes da dissolução e recristalização de ácidos líquênicos, mas os controles realizados foram claros em mostrar que de fato esses aglomerados são naturais na medula dessas espécies (Figs. 4A, 4B, 5A, 5B, 6A, 6B). A presença dos aglomerados deve estar associada à presença de ácido salazínico medular, que é a única substância medular que ocorre simultaneamente no talo dessas três espécies de *Parmotrema*. Não existe qualquer relato, em literatura especializada, da presença desses aglomerados associados ao ácido salazínico.

Além disso, em *Parmotrema* sp. existem cristais depositados sobre a superfície das hifas por toda a medula (Fig. 3E), provavelmente relacionados à presença do ácido caperático, o que não acontece em *P. cetratum* e *P. clavuliferum*.

Normalmente se considera que incrustações impermeáveis de substâncias líquênicas próximas à camada de algas, como as encontradas neste estudo, ajudam a manter bolhas de ar

em talos saturados ou ainda aumentar a permeabilidade das paredes celulares das algas, ajudando na troca de carboidratos entre alga e fungo (Rundel 1978). As substâncias liquênicas presentes no talo, como o ácido salazínico, possuem ações alelopática e antibiótica, protegendo o talo contra herbívoros, fungos e bactérias patogênicas, funções essenciais, já que os líquens possuem grande longevidade e freqüente condição de saturação (Rundel 1978).

Existem, no entanto, diferenças entre as espécies estudadas, relacionadas à espessura da medula e ao padrão de organização e orientação das hifas medulares. A medula de *Parmotrema cetratum* tem quase o dobro da espessura da medula de *P. clavuliferum*. Em *P. cetratum* as hifas da medula são predominantemente horizontais longitudinais, enquanto em *Parmotrema* sp. existe um predomínio de hifas horizontais transversais principalmente na região inferior da medula, e em *P. clavuliferum* as hifas medulares são organizadas em três camadas, com hifas horizontais transversais nas regiões superior e inferior da medula e hifas horizontais longitudinais na região mediana.

P. cetratum é a única espécie que se reproduz apenas através da produção de ascosporos, e não apresenta nenhum tipo de propágulo vegetativo. *P. clavuliferum* e *P. sp.* se reproduzem através da formação de sorédios. Os sorédios em ambas as espécies são semelhantes quanto à dimensão e podem apresentar restos de células corticais (Fig. 2E, 2F, 3F). No entanto são necessários estudos anatômicos detalhados relacionados à ontogenia dos sorais, além de estudos comparando os dados com *P. reticulatum* (Taylor) M. Choisy, que é uma espécie frequentemente confundida com *P. clavuliferum* da qual é diferenciada pelas características das lacínulas e sorais (Benatti and Marcelli 2008).

Trabalhos recentemente desenvolvidos pelo GEL têm mostrado claramente como o estudo da ontogenia dos caracteres vegetativos ou de reprodução direta, tais como sorais, isídios e pústulas, podem ser efetivamente utilizados na separação de espécies de *Parmeliaceae*. Muitas espécies têm sido criadas e várias retiradas de sinonímia devido a diferenças no desenvolvimento dessas estruturas, que normalmente estão associadas a diferenças químicas e/ou ao tamanho dos esporos e outras características (Canêz 2005, Benatti 2005, Spielmann 2005, Jungbluth 2006, Marcelli et al. 2007), como é o caso das espécies de *Parmotrema* estudadas.

As três espécies apresentam córtex inferior prosoplectenquimático e rizinas corticadas (Figs. 1C, 2C, 3G). A presença de uma camada de córtex recobrindo as hifas das rizinas pode ser relacionada à necessidade dessa estrutura apresentar um tecido mecânico para auxiliar no suporte do talo, que nas espécies estudadas, são grandes e pouco aderidos ao substrato, como o considerado por Barbosa et al. (2009b) para *Parmotrema tinctorum*.

Os resultados obtidos neste estudo permitem propor que as características do córtex superior, do córtex inferior e das rizinas são constantes para o grupo de *Parmotrema* com máculas reticulares e podem ser utilizados na circunscrição de gênero ou ao menos subgênero.

Agradecimentos – À S.R. Machado, ao CAPES pela concessão da bolsa de doutorado a S. B. Barbosa e ao CNPq por bolsa de pesquisa a M. P. Marcelli.

Referências

- Barbosa, S.B. 2004. Estudos anatômicos em quatro espécies de *Parmeliaceae* (Ascomycota liquenizados). Dissertação de mestrado em Ciências Biológicas (Botânica). Universidade Estadual de São Paulo – UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil. (disponível em: <http://www.4shared.com/dir/4830094/950e897d/sharing.html>)
- Barbosa, S.B. 2009. Aplicabilidade taxonômica de variações anatômicas em fungos liquenizados. Tese de doutorado em Ciências Biológicas (Botânica). UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil.
- Barbosa, S.B. and Marcelli, M.P. 2009 (artigo 1). Morfoanatomia comparada do talo de espécies de *Punctelia* (*Parmeliaceae*: Ascomycota liquenizados) e sua aplicação taxonômica. In: Barbosa, S.B. Aplicabilidade taxonômica de variações anatômicas em fungos liquenizados. Tese de doutorado em Ciências Biológicas (Botânica). UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil.
- Barbosa, S.B., Marcelli, M.P. and Machado, S.R. 2009a. Evaluation of different protocols for anatomical studies in *Parmeliaceae* (lichenized Ascomycota). *Micron* **40**: 218-225.
- Barbosa, S.B., Machado, S.R. and Marcelli, M.P. 2009b. Thallus structure and isidium development in two *Parmeliaceae* species (lichenized Ascomycota). *Micron* (in press) 10.1016/j.micron.2009.04.004
- Barbosa, S.B., Machado, S.R. and Marcelli, M.P. Thallus anatomy of *Canoparmelia texana* (*Parmeliaceae*, lichenized Ascomycota) with emphasis on lacunar upper cortex. *in prep.*
- Benatti, M.N. 2005. Os gêneros *Canomaculina*, *Parmotrema* e *Rimelia* (*Parmeliaceae*, Ascomycetes) no litoral centro-sul do Estado de São Paulo. Dissertação de mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente. Instituto de Botânica, São Paulo, SP, Brasil.
- Benatti, M.N. and Marcelli, M.P. 2008. Espécies de *Parmotrema* (*Parmeliaceae*, Ascomycetes liquenizados) com máculas reticulares do litoral centro-sul do Estado de São Paulo, Brasil.

- Hoehnea **35**: 75-90.
- Blanco, O., Crespo, A., Divakar, P.K., Esslinger, T.L., Hawksworth, D.L. and Lumbsch T.H. 2004a. *Melanelixia* and *Melanohalea*, two new genera segregated from *Melanelia* (*Parmeliaceae*) based on molecular and morphological data. *Mycological research* **108**: 873-884.
- Blanco, O., Crespo, A., Elix, J.A., Hawksworth, D.L. and Lumbsch, H.T. 2004b. A molecular phylogeny and a new classification of parmelioid lichens containing *Xanthoparmelia*-type lichenan (*Ascomycota*: *Lecanorales*). *Taxon* **55**: 959-975.
- Blanco, O., Crespo, A., Divakar, P.K., Elix, J.A. and Lumbsh, H.T. 2005. Molecular phylogeny of parmotreoid lichens (*Ascomycota*, *Parmeliaceae*). *Mycologia* **97**: 150-159.
- Bowler, P.A. 1981. Cortical diversity in the Ramalinaceae. *Canadian Journal of Botany* **59**: 425-557.
- Canêz, L.S. 2005. A família *Parmeliaceae* na localidade de Fazenda da Estrela, município de Vacaria, Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação de mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente. Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo, SP, Brasil.
- Crespo, A., Arguello, A., Blanco, O., Gasca, C. and Molina, M.C. 2006. Sistemática e valor dos caracteres em líquens. In: *Biologia de Líquens. Edited by L. Xavier Filh, M.E. Legaz, C.V. Cordoba and E.C. Pereira. Âmbito Cultural Edições Ltda., Rio de Janeiro*, pp. 471-502.
- Crespo, A., Lumbsh, T., Mattsson, J.E., Blanco, O., Divakar, P.K., Articus, K., Wiklund, E., Bawingan, P.A. and Wedin, M. 2007. Testing morphology-based hypotheses of phylogenetic relationships in *Parmeliaceae* (*Ascomycota*) using three ribosomal markers and nuclear RPB1 gene. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **44**: 812-824.
- Divakar, P.K., Crespo, A., Blanco, O. and Lumbsh, T.H. 2006. Phylogenetic significance of morphological characters in the tropical *Hypotrachyna* clade of parmelioid lichens (*Parmeliaceae*, *Ascomycota*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **40**: 448-458.
- Elix, J.A. 1993. Progress in the generic delimitation of *Parmelia sensu lato* lichens (*Ascomycotina*: *Parmeliaceae*) and a synoptic key to the *Parmeliaceae*. *The Bryologist* **96**: 359-383.
- Elix, J.A. 1997. The lichen genera *Canomaculina* and *Rimeliella* (*Ascomycotina*, *Parmeliaceae*). *Mycotaxon* **65**: 475-479.

- Elix, J.A. 2003. The lichen genus *Paraparmelia*, a synonym of *Xanthoparmelia* (Ascomycota, *Parmeliaceae*). *Mycotaxon* **87**: 395-403.
- Hale, M.E. 1973. Fine structure of the cortex in the lichen family *Parmeliaceae* viewed with a scanning electron microscope. *Smithsonian Contributions to Botany* **10**: 1-92.
- Hale, M.E. 1974. New combinations in the lichen genus *Parmotrema* Massalongo. *Phytologia* **28**(4): 334-339.
- Hale, M.E. 1976. Lichen structure viewed with the scanning electron microscope. *In*: *Lichenology: Progress and Problems. Edited by* D.H. Brown, D.L. Hawksworth and B.H. Bailey. Academic Press, London, pp. 1-15.
- Hale, M.E. and Fletcher, A. 1990. *Rimelia* Hale & Fletcher, a new lichen genus (Ascomycotina: *Parmeliaceae*). *The Bryologist* **93**: 121-191.
- Hawksworth, D.L., Kirk, P.M., Sutton, B.C. and Pegler, D.N. 1995. *Dictionary of the Fungi*. 8th Edn. International Mycological Institute, CAB International.
- Hawksworth, D.L. and Crespo, A. 2002. Proposal to conserve the name *Xanthoparmelia* against *Chondropsis* nom. cons. (*Parmeliaceae*). *Taxon* **51**: 807-807.
- Honegger, R. 1993. Developmental biology of lichens. *New Phytol.* **125**: 659-677.
- Honegger, R. 2008. Morphogenesis. *In*: *Lichen biology* 2nd ed. *Edited by* T.H. Nash III. Cambridge University Press. pp. 69-93.
- Jahns, H. M. 1973. Anatomy, morphology and development. *In*: *The Lichens. Edited by* V. Ahmadjian and M.E. Hale. New York: Academic Press.
- Jungbluth, P. 2006. A família *Parmeliaceae* (fungos liquenizados) em cerrados do Estado de São Paulo, Brasil. Dissertação de mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente). Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo, SP, Brasil.
- Kärnefelt, I. 1986. The genera *Bryocaulon*, *Coelocaulon* and *Cornicularia* and formerly associated taxa. *Opera Botanica* **86**: 1-90.
- Marcelli, M.P. 2006. Fungos Liquenizados. *In*: *Biologia de Liqueus. Edited by* L. Xavier Filho, M.E. Legaz, C.V. Cordoba and E.C. Pereira. Âmbito Cultural Edições Ltda. Rio de Janeiro. pp. 503-520.
- Marcelli, M.P., Jungbluth, P., Benatti, M.N., Spielmann, A.A., Canêz, L.S., Cunha, I.P.R., Martins, M.F.N. 2007. Some new species and combinations of Brazilian Lichenized fungi. *In*: *Lichenologische Nebenstunden – Contr. to lichen taxonomy and ecology in honour of Klaus Kalb. Edited by* A. Frisch, U. Lange and B. Staiger. *Bibliotheca Lichenologica* **96**:209-227.

- Moberg, R. 1977. The lichen genus *Physcia* and allied genera in Fennoscandia. *Symbolae Botanicae Upsalienses* **22**: 1-108.
- Modenesi, P. 1987. Histochemistry and generic delimitation in *Parmelia* and *Punctelia*. *Nova Hedwigia* **45**: 423-431.
- O'Brien, T.P., Feder, N., McCully, M.E. 1965. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* **63**: 443-478.
- Rundel, P.W. 1978 The ecological role of secondary lichen substances. *Biochemical systematics and ecology* **6**: 157-170.
- Spielmann, A.A. 2005. A família *Parmeliaceae* (fungos liquenizados) nos barrancos e peraus da encosta da Serra Geral, Vale do Rio Pardo, Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação de mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente). Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo, SP, Brasil.
- Streimann, H. 1986. Catalogue of the lichens of Papua New Guinea and Irian Jaya. *Bibliotheca lichenologica* **22**: 154p.

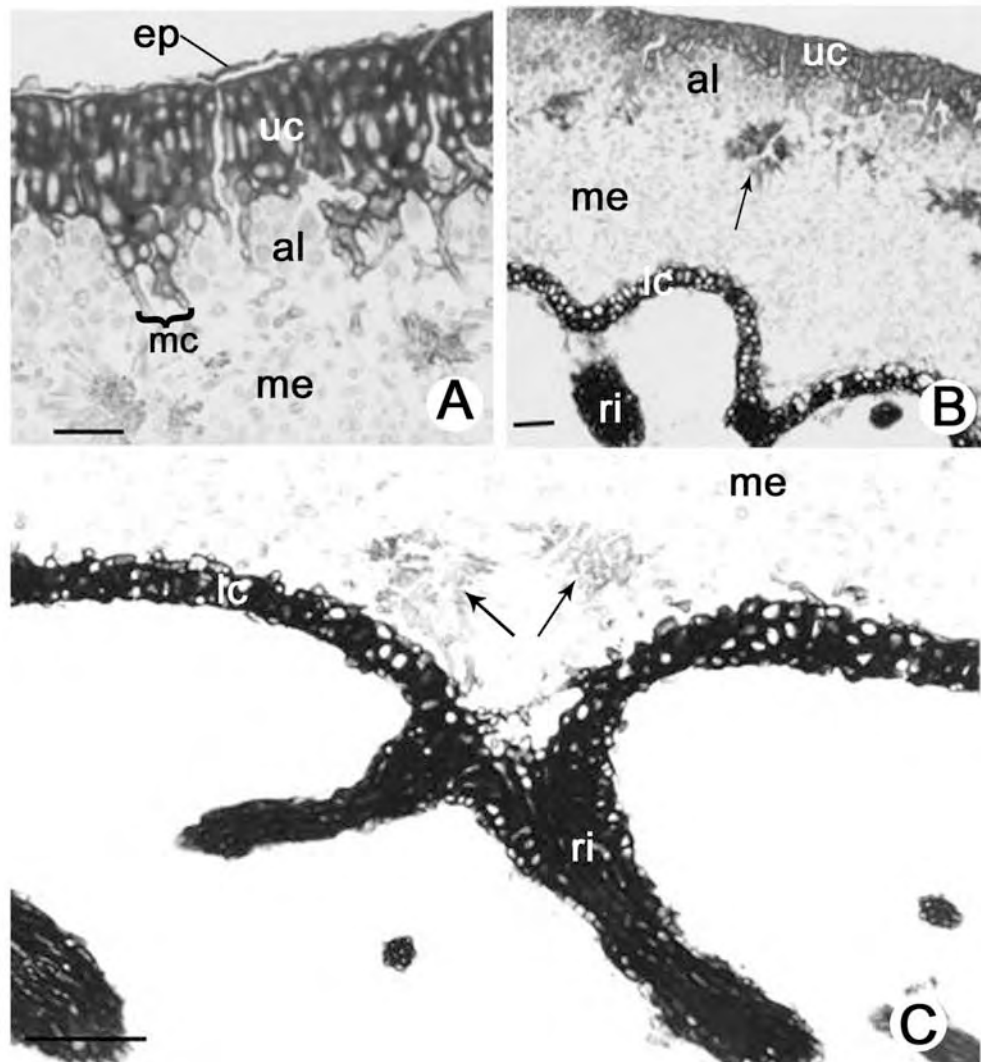


Figura 1. Anatomia do talo de *Parmotrema cetratum*. A. Detalhe da região superior do talo mostrando epicórtex (ep), córtex superior (uc), camada de alga (al), mácula (mc) e parte da medula (me). B. Secção transversal, mostrando córtex superior (uc), camada de alga (al), medula (me) com cristais de ácido liquênico (seta), córtex inferior (lc) e rizina (ri). C. Detalhe da região inferior do talo mostrando parte da medula (me) com cristais de ácido liquênico (setas) próximos ao local de formação da rizina (ri) e córtex inferior (lc). Barras=100µm (B), 50µm (A, C).

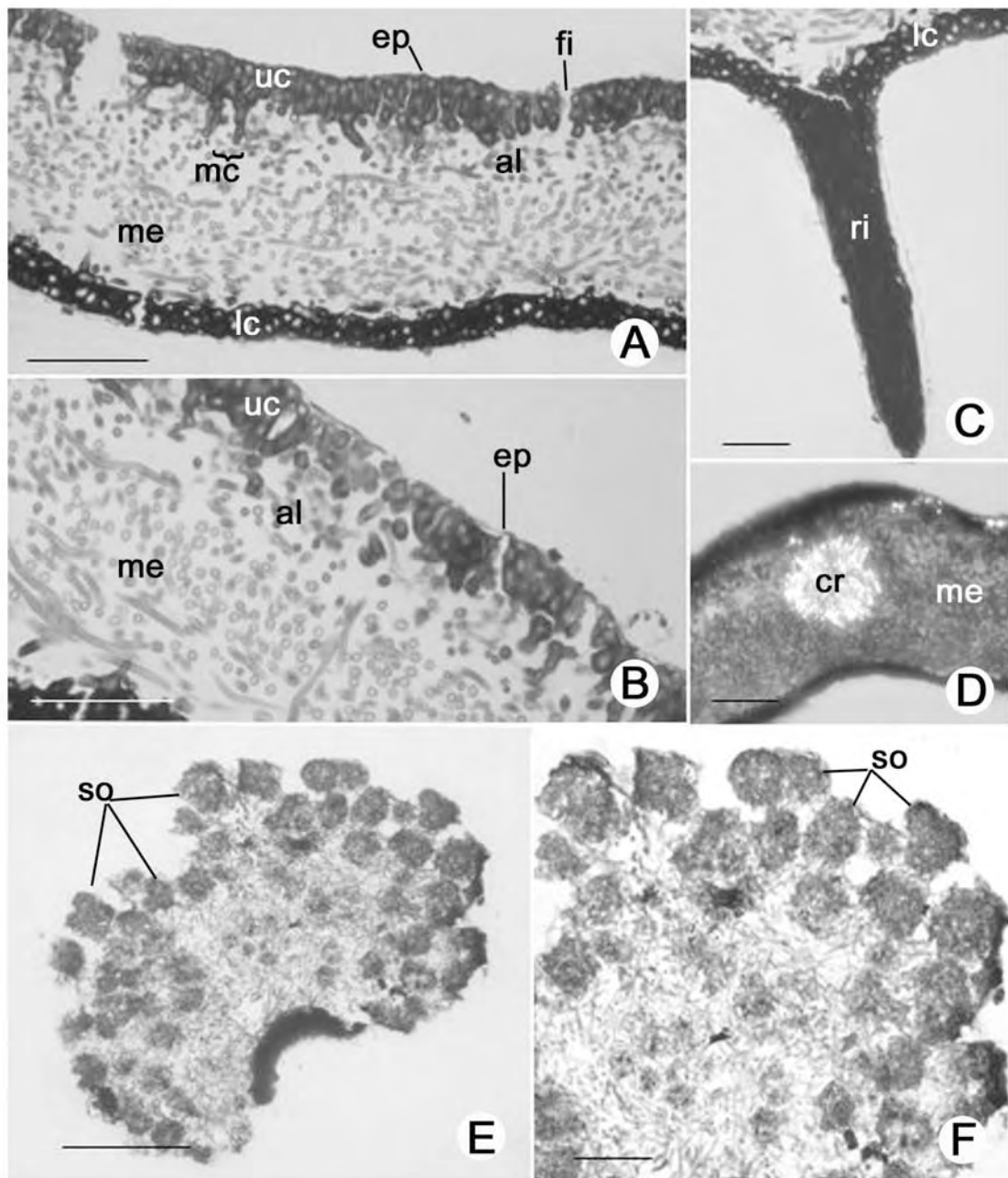


Figura 2. Anatomia do talo de *Parmotrema clavuliferum*. A. Secção transversal mostrando epicórtex (ep) e córtex superior (uc), fissura (fi), mácula (mc), camada de alga (al), medula (me) e córtex inferior (lc). B. Detalhe da região superior do talo mostrando epicórtex (ep), córtex superior (uc), camada de alga (al) e medula (me). C. Detalhe de rizina (ri). D. Secção transversal visualizada com auxílio de polarizador mostrando cristais (cr) relacionados ao aglomerado de hifas em forma estrelada na medula (me). E.- F. Detalhe de soral mostrando sorédios (so). Barras: 50 µm (A-C, E-F), 100 µm (D).

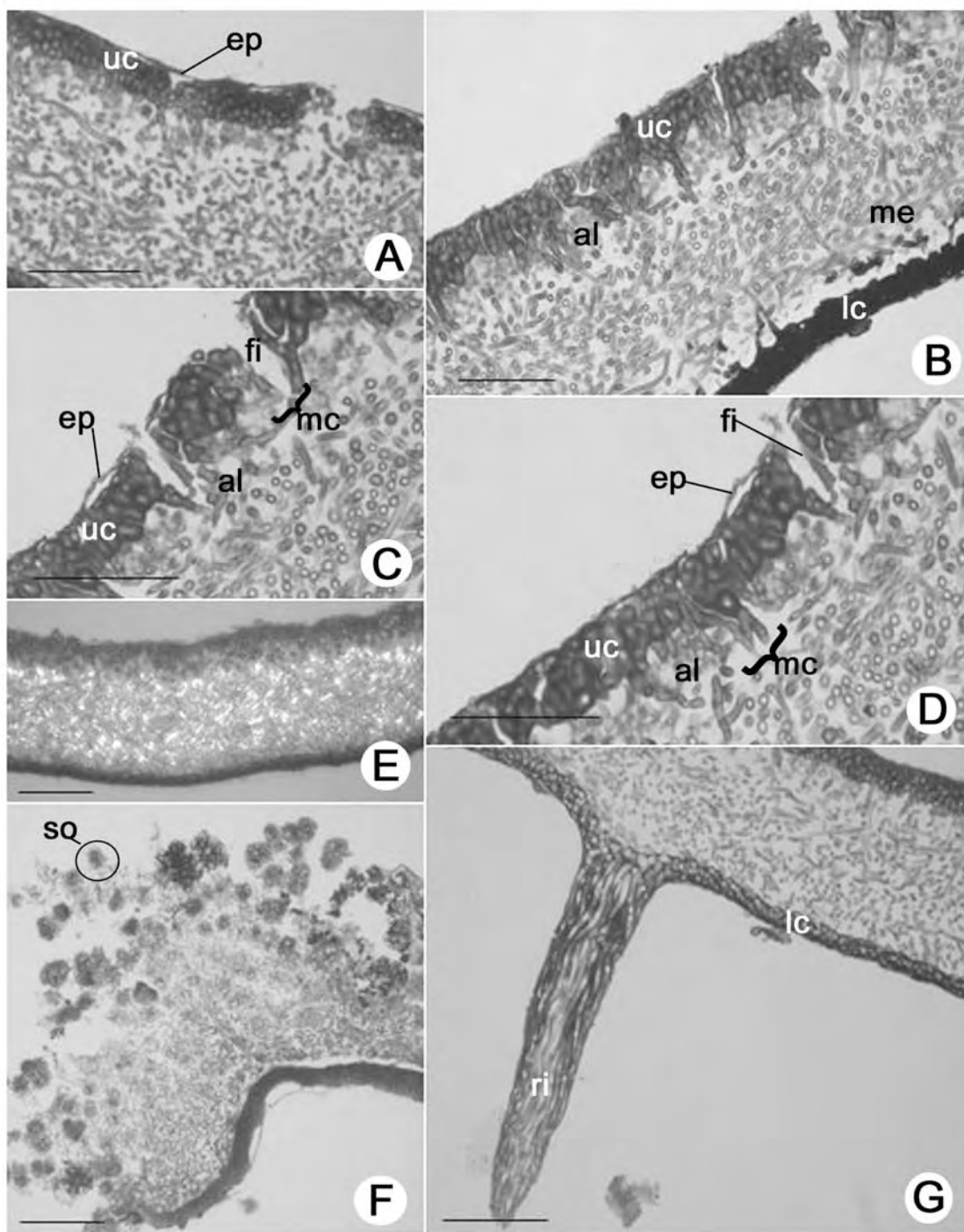


Figura 3. Anatomia do talo de *Parmotrema* sp. A. Secção transversal mostrando epicórtex (ep) e córtex superior (uc) B. Secção transversal mostrando córtex superior (uc), camada de algas (al), medula (me) e córtex inferior (lc). C.- D. Detalhe do córtex superior (uc) mostrando fissuras (fi), mácula (mc), camada de alga (al) e epicórtex (ep) E. Secção transversal visualizada com auxílio de polarizador mostrando cristais recobrendo as hifas medulares. F. Detalhe de soral mostrando sorédios (so). G. Detalhe mostrando córtex inferior (lc) e rizina (ri). Barras: 50 μ m (A-D, F-G), 100 μ m (E).

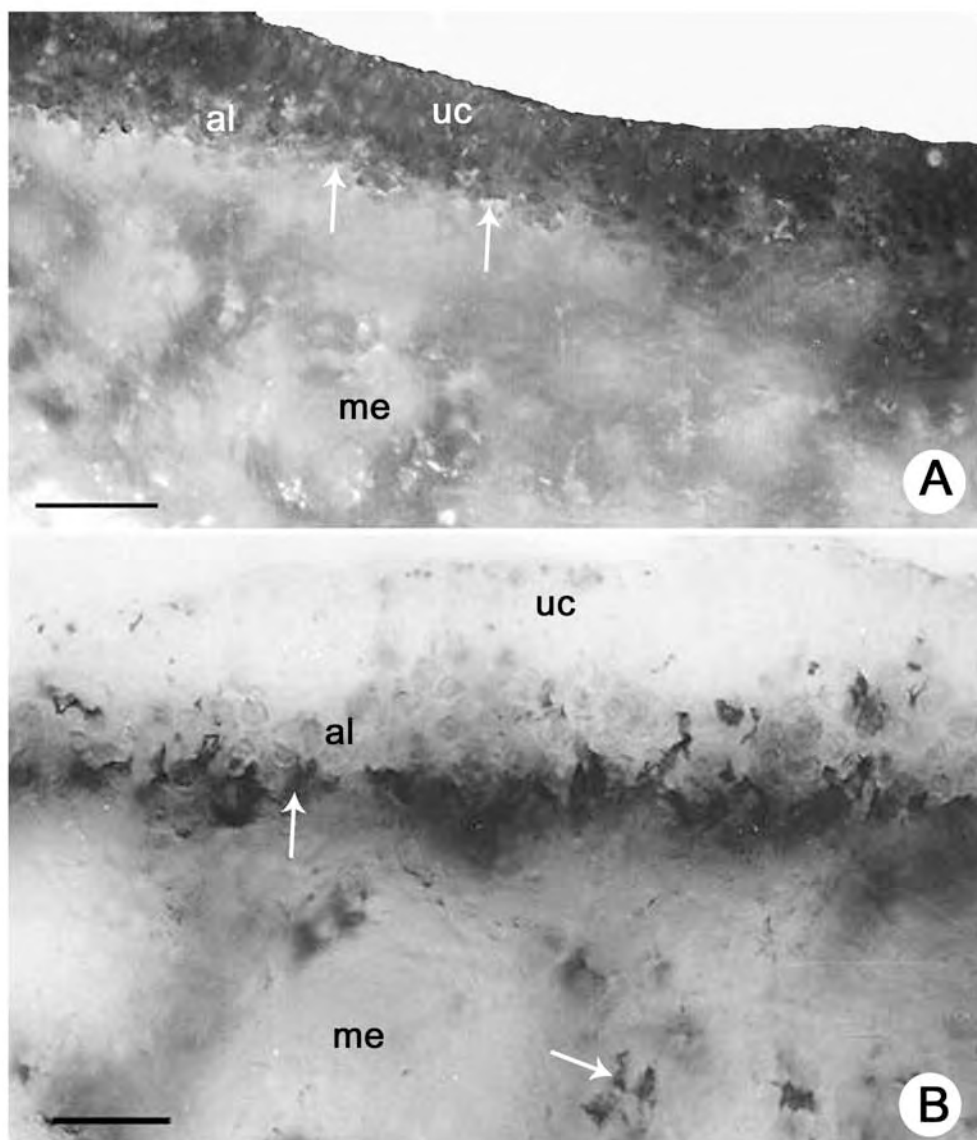


Figura 4. Secções de material fresco cortados à mão livre mostrando presença e distribuição de cristais no talo de *Parmotrema cetratum*. A. Detalhe visualizado com auxílio de polarizador. B. Detalhe visualizado sem polarizador. Córtex superior (uc), camada de alga (al), medula (me). As setas indicam os cristais de ácido liquênico formando um estrato contínuo principalmente na região de contato com a camada de alga. Barras=100µm (A), 50µm (B).

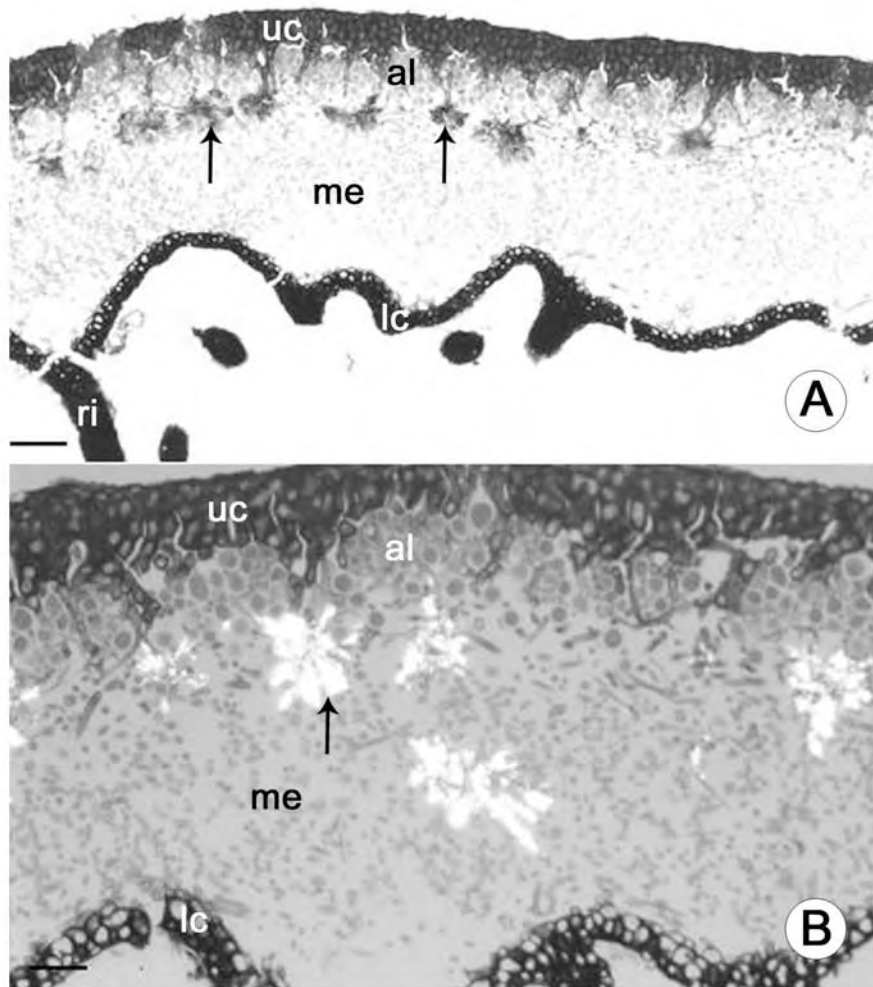


Figura 5. Anatomia do talo de *Parmotrema cetratum* mostrando a presença e distribuição de cristais de ácido liquênico. A. Corte transversal mostrando córtex superior (uc), camada de alga (al), medula (me), córtex inferior (lc) e rizina (ri). Os cristais de ácido liquênico (seta) formam um estrato nítido, e aparecem enfileirados na parte da região de contato da medula com a camada de algas, e se reúnem nos aglomerados de hifas de forma estrelada. B. Corte transversal em luz polarizada. Barras=100µm.

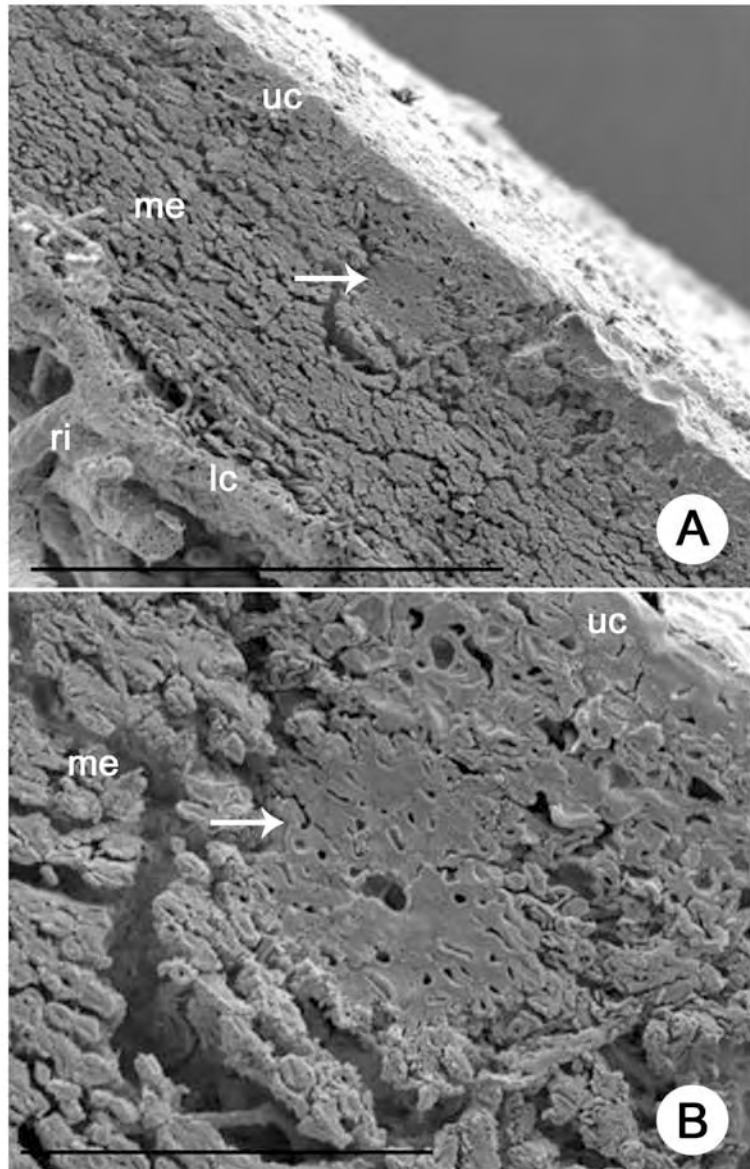


Figura 6. A-B. Secções transversais do talo de *Parmotrema cetratum* visualizadas em microscopia eletrônica de varredura mostrando córtex superior (uc), medula (me) com aglomerados de hifas de forma estrelada (seta), córtex inferior (lc) e rizinas (ri). Barras=200µm (A), 50µm (B).

ARTIGO 3

**Morfoanatomia comparada do talo de três espécies de *Parmotrema* (*Parmeliaceae*,
Ascomycota liquenizados) com rizinas dimórficas**

Barbosa, S.B.^{a*} & Marcelli, M.P.^b

^a Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Caixa Postal 510, 18618-000, Botucatu-SP, Brazil. Phone: 55 (14) 3811 6053. E-mail: suzibissacot@yahoo.com.br.

^b Instituto de Botânica, Seção de Micologia e Liquenologia, Caixa Postal 3005, 01061-970, São Paulo-SP, Brazil.

* Corresponding author

RESUMO – (Morfoanatomia comparada do talo de três espécies de *Parmotrema* (*Parmeliaceae*, Ascomycota liquenizados) com rizinas dimórficas. Utilizando técnicas convencionais para estudos histológicos em microscopia de luz com auxílio de luz polarizada, se descreve e compara a anatomia do talo de três espécies de *Parmotrema* com rizinas dimórficas e máculas efiguradas. Os dados obtidos neste estudo permitem propor que as características do córtex superior, córtex inferior e rizinas são constantes para o grupo de *Parmotrema* com rizinas dimórficas. Além disso, os polissacarídeos típicos do epicórtex e córtex superior do grupo de espécies de *Parmotrema* com rizinas dimórficas possuem diferenciação histoquímica daqueles mencionados para o epicórtex e córtex superior do grupo de *Parmotrema* com máculas reticulares.

Palavras-chave: anatomia, histologia, rizinas dimórficas, máculas efiguradas, *Parmotrema*

1. Introdução

Recentemente, *Canomaculina* foi sinonimizado com o grande gênero *Parmotrema* por Blanco et al. (2005) com base em evidências morfológicas e moleculares. Os autores consideram os caracteres utilizados para a separação desses gêneros (diferenças na largura dos lobos, máculas e tipos de cílios e rizinas) inapropriados para o reconhecimento de grupos monofiléticos em líquens. Além disso, afirmam que seus estudos moleculares estão de acordo com as análises morfológicas realizadas por Louwhoff e Crisp (2000). No entanto, afirmam que são necessários mais estudos com as espécies do grande grupo parmotremóide e que poderiam ocorrer novas organizações em grupos morfológicos menores.

O gênero *Canomaculina* foi criado por Elix e Hale (1987) como um grupo segregado do gênero *Parmelina* e caracterizado pela superfície superior com máculas efiguradas muito evidentes, lobos arredondados, cílios furcados, superfície inferior negra ou castanha, margem totalmente rizinada ou com estreita margem nua e presença de rizinas dimórficas (rizinas longas, espessas e com ápices ramificados ocorrem num mesmo talo com rizinas curtas, finas e simples) (Kurokawa 1991, Marcelli and Benatti 2008).

Posteriormente Elix (1997) sinonimizou o gênero *Rimeliella* Kurok., que havia sido segregado de *Parmotrema* (Kurokawa 1991), com o gênero *Canomaculina*, considerando que a diferença entre os gêneros era apenas a largura dos lobos e a coloração do córtex inferior.

Este estudo teve como principal objetivo realizar um estudo anatômico comparado e detalhado do talo de três espécies de *Parmotrema* com rizinas dimórficas anteriormente colocadas em *Canomaculina*, procurando por parâmetros que sirvam de subsídio à taxonomia do grupo.

Este trabalho é a continuidade de um projeto iniciado em 2003, como parte da dissertação de mestrado do primeiro autor (Barbosa 2004) que teve como objetivo a descrição de um protocolo para estudos anatômicos em espécies da família *Parmeliaceae* (Barbosa et al 2009a). Os resultados apresentados aqui são parte da tese de doutorado do primeiro autor (Barbosa 2009), que visou a estudar a aplicação dos dados anatômicos como auxiliares na definição taxonômica de grupos de espécies na família *Parmeliaceae*.

2. Material e métodos

O espécime citado como "sp." foi recentemente descobertas pelo Grupo de Estudos Liquenológicos (GEL) do Instituto de Botânica de São Paulo e estão sendo preparadas para publicação embora não em sincronia com este trabalho. Estes táxons são resultados das dissertações de mestrados dos alunos do GEL (Canêz 2005, Spielmann 2005, Benatti 2005, Jungbluth 2006).

Parmotrema consors (Nylander) Elix & Hale é caracterizada pelos lobos involutos, conspicuamente maculados, pela ausência de estruturas de reprodução direta, a superfície inferior é negra e os testes de coloração são negativos na medula; só se reproduz por apotécios (Elix & Hale 1987).

Parmotrema sp. (espécie inédita, tratada como *Canomaculina isousnica* em Canêz 2005) é caracterizada pela presença de sorais marginais e nos ápices de lacínulas curtas, superfície inferior castanho-clara e pela composição química, com atranorina, ácidos úsnico e isoúsnico no córtex superior e ácidos salazínico e consalazínico na medula (Canêz 2005).

Parmotrema cf. *reparatum* (Stirton) Kurok. caracteriza-se pela ausência de propágulos vegetativos, presença de ácido salazínico na medula e pela superfície inferior negra (Kurokawa 2001).

O material estudado foi obtido de amostras depositadas no Herbário Científico Maria Eneyda P. Kauffmann Fidalgo (SP) do Instituto de Botânica de São Paulo, conforme a Tabela 1.

Tabela 01: Lista dos indivíduos do gênero *Parmotrema* com rizinas dimórficas estudados, com respectivos coletores, numero de coletor e local de procedência

Espécies	Material	Município/Estado
<i>P. consors</i>	A.A. Spielmann, L.S. Canêz & P. Jungbluth 766	Itirapina/SP
<i>P. sp.</i>	A.A. Spielmann & L.S. Canêz 1276	Sinimbu/RS
	A.A. Spielmann 93	Sinimbu/RS
<i>P. cf. reparatum</i>	A.A. Spielmann & L.S. Canêz 692	Sinimbu/RS
	A.A. Spielmann & L.S. Canêz 1284	Sinimbu/RS

Foram estudadas secções transversais e longitudinais de lobos, obtidas a partir de amostras retiradas das regiões jovem (próxima da margem) e desenvolvida (próxima ao

centro) do talo. Foram preparados três blocos para cada região do talo amostrada e feitas pelo menos quatro lâminas de cada bloco.

Microscopia de luz – o material foi preparado de acordo com o protocolo estabelecido por Barbosa et al. (2009a) para estudos anatômicos de líquens da família *Parmeliaceae*. Amostras com $0,5 \times 1$ cm provenientes de material herborizado foram desidratadas em série etílica (70%, 95%, 100%, 2 horas cada) e incluídas em resina metacrilato (Leica®) (5 horas) a temperatura ambiente. Os blocos foram seccionados em micrótomo de rotação semi-automático com navalha descartável e os cortes obtidos, com 2 a 5 μ m de espessura, foram corados com Azul de Toluidina 0,05%, pH 4,7 (O'Brien et al. 1965) e montados entre lâmina e lamínula com resina sintética Permunt®. Os aspectos relevantes foram fotografados em câmera Olympus acoplada a microscópio Zeiss, com e sem filtro polarizador. Foram tomadas medidas das células com auxílio de retículo de ocular.

A descrição das espécies segue o protocolo desenvolvido pelo Grupo de Estudos Liquenológicos do Instituto de Botânica, São Paulo/SP, e adaptado para estudos anatômicos por Barbosa (2004).

Para as descrições anatômicas do corte transversal dos lobos das espécies neste trabalho, são consideradas as seguintes definições:

- **Plectênquima:** falso-tecido formado por hifas entrelaçadas, interconectadas por anastomoses ou firmemente compactadas (Jahns, 1973);
- **Tecidos:** constituído de células posicionadas lado a lado;
- **Plectênquima paliçádico:** plectênquima composto por hifas paralelas com organização semelhante a paliçada;
- **Paraplectênquima:** plectênquima composto por hifas com paredes delgadas que perdem a aparência de hifas, com organização celular (Hawksworth et al. 1995);
- **Prosoplectênquima:** plectênquima de hifas com paredes espessadas, facilmente reconhecíveis (Hawksworth et al. 1995).

3. Resultados

Parmotrema consors (Nyl.) Elix & Hale

Mycotaxon 29: 239.1987.

Figura 1

EPICÓRTEX 0,50–0,75 μm alt. bem aderido às células do córtex superior (Figs. 1A, 1B, 1C). **CÓRTEX SUPERIOR** prosoplectênquima paliçádico 1–4 céls. alt. (17,50–25,00 μm), com células alongadas e de parede espessada (5,00–) 10,00–12,50 $\times$ 5,00–7,50 μm , formado a partir de hifas que partem da medula e atravessam a camada de algas; na camada mais externa de células a matriz inter-hifal reage com Azul de Toluidina produzindo uma coloração enegrecida e com a presença de cristais com brilho azulado em luz polarizada – esta reação não é observada no epicórtex e nem na camada de células mais interna em contato com as células de alga; presença de grandes lacunas (5,00–7,50 μm diâm.) logo abaixo do córtex superior formando um aeroplectênquima (Figs. 1A, 1B, 1C); **máculas** 12,50–25,00 μm larg. **CAMADA DE ALGAS** 1–3 céls. alt. (12,50–37,50 μm), com células arredondadas 7,50–12,50 μm (diâm.), conteúdo celular heterogêneo; hifas 2,50–5,00 μm larg., com células não muito alongadas 2,50–7,50 $\times$ 2,50–5,00 μm (comp. $\times$ larg.); as hifas da camada de algas muitas vezes se assemelham a um colar de contas, existem grandes lacunas 5,00–10,00 μm diâm. entre a camada de algas e a camada medular às vezes associadas às máculas (Figs. 1A, 1B, 1C). **MEDULA** 125,00 –175,00 μm alt., com hifas horizontais transversais e longitudinais predominantes, hifas 2,50–7,50 μm larg., com células alongadas 10,00–17,50 comp., presença de cristais recobrimdo a parede das hifas, por toda a medula. (Figs. 1A, 1B, 1C, 1D). **SORAIS** ausentes. **ISÍDIOS** ausentes. **CÓRTEX INFERIOR** prosoplectênquima, 1–3 céls. alt. (17,50–25,00 μm), com células arredondadas de parede espessada (5,00–) 12,50–17,50 μm diâm., formado a partir de hifas da medula (Fig. 1 E); **rizinas** dimórficas, as mais finas não são corticadas, possuem 12,5–17,50 μm larg., formadas por 3–7 hifas paralelas e aglutinadas cada uma com 2,50 μm larg., e as mais grossas e compridas corticadas, simples a furcadas a irregularmente ramificadas, 25,00–37,50 μm larg., formadas por 7–10 hifas paralelas aglutinadas, cada uma com 2,50–3,75 μm larg. (Fig. 1 E).

Parmotrema sp.

Figura 2

EPICÓRTEX 0,75–1,25 μm alt., aderente às células do córtex superior. (Figs. 2A, 2B). **CÓRTEX SUPERIOR** prosoplectênquima paliádico 2–4 céls. alt. (17,50–25,00 μm), com células pouco alongadas e de paredes espessadas $5,00\text{--}7,50 \times 2,50\text{--}5,00 \mu\text{m}$, formado a partir de hifas que partem da medula e atravessam a camada de alga; na camada mais externa de células a matriz inter-hifal reage com Azul de Toluidina desenvolvendo uma coloração enegrecida, com a presença de cristais com brilho azulado em luz polarizada – esta reação não é observada no epicórtex nem na camada de células mais interna em contato com as células de alga; presença de lacunas (5,00–7,50 μm diâm.) logo abaixo do córtex superior, formando um aeroplectênquima (Figs. 2A, 2B); **máculas** 12,50–25,00 μm larg. **CAMADA DE ALGAS** 2–4 céls. alt. (25,00–37,50 μm), com células arredondadas 5,00–10,00 μm diâm., conteúdo celular heterogêneo; hifas com células pouco alongadas $2,50\text{--}5,00 \times 1,25\text{--}3,75 \mu\text{m}$; presença de grandes lacunas 5,00–10,00 μm diâm., logo abaixo da camada de algas em contato com as hifas da medula, às vezes relacionadas aos locais de formação de máculas. (Fig. 2B). **MEDULA** 100,00–200,00 μm alt., com hifas horizontais transversais predominantes, hifas 3,75–5,00 μm larg., com células alongadas 12,50–25,00 comp., presença de poucos aglomerados de forma estrelada de hifas com incrustações de cristais. (Figs. 2A, 2B, 2C, 2D). **SORAIS** marginais e no ápice de lacínulas; **sorédios** arredondados com 1–4 céls. de algas, 12,50–17,50 μm diâm., às vezes com restos de células do córtex superior, também formados na medula antes da ruptura do córtex superior para formação do soral e exposição das hifas medulares (Fig. 2E). **ISÍDIOS** ausentes. **CÓRTEX INFERIOR** prosoplectênquima, 1–3 céls. alt. (12,50–25,00 μm), com células arredondadas 5,00–12,50 μm diâm., formado a partir de hifas medulares (Fig. 2A); **rizinas** dimórficas, as mais finas não são corticadas, possuem 12,5–25,00 μm larg., formadas por 7–10 hifas paralelas e aglutinadas cada uma com 2,50 μm larg., e as mais grossas são corticadas e possuem 75,00–100,00 μm larg. formadas por 30–40 hifas paralelas e aglutinadas cada uma com 2,50 μm larg. (Fig. 2F).

***Parmotrema cf. reparatum* (Stirton) Kurokawa**

Bulletin of the National Science Museum Tokyo, Ser.B 27 (1): 2. 2001.

Figura 3

EPICÓRTEX 1,25–2,50 μm alt., aderido ao córtex superior (Fig. 3A). **CÓRTEX SUPERIOR** prosoplectênquima paliçádico, 3–4 céls alt. (17,50–37,50 μm), com células alongadas e de parede espessada (5,00–) 10,00–12,50 $\times$ 5,00–7,50 μm , formado a partir de hifas que partem da medula e atravessam a camada de alga na camada mais externa de células a matriz inter-hifal reage com Azul de Toluidina desenvolvendo uma coloração enegrecida, com a presença de cristais com brilho azulado em luz polarizada – esta reação não é observada no epicórtex nem na camada de células mais interna em contato com as células de alga; com fissuras freqüentes; presença de grandes lacunas 7,50–12,50 μm diâm. logo abaixo do córtex superior formando um aeroplectênquima (Figs. 3A, 3B, 3C, 3D); **máculas** 12,50–25,00 μm larg., às vezes originando quebra. **CAMADA DE ALGAS** 2–4 céls alt. (12,50–25,00 μm), com células arredondadas 5,00–7,50 μm diâm., conteúdo celular heterogêneo; hifas 2,50–5,00 μm larg., com células alongadas 7,50–10,00 $\times$ 2,50–5,00 μm (Figs. 3A, 3B, 3C). **MEDULA** 87,50–162,50 μm alt., hifas horizontais longitudinais e transversais predominantes, hifas 2,50–3,75 μm larg., com células finas e alongadas 10,00–12,50 comp., sem incrustações de cristais (Figs. 3A, 3B, 3C, 3D). **SORAIS** e **ISÍDIOS** ausentes. **CÓRTEX INFERIOR** prosoplectênquima, 1–4 céls alt. (12,50–25,00 μm), com células arredondadas de paredes espessadas 2,50–5,00 μm diâm., formado a partir de hifas medulares (Fig. 3A, 3F); **rizinas** corticadas, as mais finas simples e curtas com 25,00–50,00 μm larg. formadas por 10–20 hifas paralelas e aglutinadas cada uma com 2,50 μm larg. e as mais grossas ramificadas e alongadas, com 87,50–100,00 μm larg., formadas por 20–30 hifas paralelas e aglutinadas cada uma com 2,50 μm larg. (Fig. 3E, 3F).

As principais características anatômicas dos espécimes estudados estão sumarizadas na Tabela 2.

Tabela 2: Principais características anatômicas dos três espécimes de *Parmotrema* estudadas.

	<i>P. consors</i>	<i>P. sp.</i>	<i>P. cf. reparatum</i>
Epicórtex	0,50–0,75 µm alt.	0,75–1,25 µm alt.	1,25–2,50 µm alt.
Córtex superior	prosoplectênquima paliçádico, 1–4 céls alt. (17,50–25,00 µm), cristais com brilho azulado em luz polarizada; lacunas (5,00–7,50 µm larg.) abaixo do córtex superior	prosoplectênquima paliçádico 2–4 céls alt. (17,50–25,00 µm), ; cristais com brilho azulado em luz polarizada; lacunas (5,0–7,50 µm larg.) abaixo do córtex superior	prosoplectênquima paliçádico, 3–4 céls alt. (17,50–37,50 µm), cristais com brilho azulado em luz polarizada; com fissuras freqüentes; grandes lacunas (7,50–12,50 µm larg.) abaixo do córtex superior
Camada de algas	1–3 céls alt. (12,50–37,50µm), grandes lacunas 5,00–10,00 µm diâm. entre a camada de algas e medula	2–4 céls alt. (25,00–37,50 µm), grandes lacunas 5,00–10,00 µm diâm. entre a camada de algas e a medula	2–4 céls alt. (12,50–25,00 µm); lacunas ausentes
Máculas	12,50–25,00 µm larg.	12,50–25,00 µm larg.	12,50–25,00 µm larg., às vezes originando quebras
Medula	125,00 –175,00 µm larg., hifas horizontais longitudinais e transversais predominantes	100,00–200,00 µm larg., hifas horizontais transversais predominantes	87,50–162,50 µm larg., hifas horizontais longitudinais e transversais predominantes
Cristais	cristais recobrendo a parede das hifas, por toda a medula	presença de poucos aglomerados de hifas de forma estrela e cristais depositados na superfície dessas hifas	sem incrustações de cristais
Sorédios	ausentes	arredondados 1–4 células de algas, 12,50–17,50 µm diâm, às vezes com restos de células do córtex superior	ausentes
Isídios	ausentes	ausentes	ausentes
Córtex inferior	prosoplectênquima, 1–3 céls alt. (17,50–25,00 µm),	prosoplectênquima, 1–3 céls alt. (12,50–25,00 µm),	prosoplectênquima, 1–4 céls alt. (12,50–25,00 µm)
Rizinas	dimórficas, as mais finas não corticadas, 12,50–17,50 µm larg., as mais grossas corticadas, 25,00–37,50 µm larg.	dimórficas, as mais finas não corticadas, 12,5–25,00 µm larg.; as mais grossas corticadas, 75,00–100,00 µm larg.	todas corticadas, as mais finas simples, curtas e recurvadas, 25,00–50,00 µm larg., as mais grossas ramificadas e alongadas, 87,50–100,00 µm larg.

Diferenciação talina:

A margem do talo dos espécimes estudados é caracterizada por possuir pequenas células de micobionte densamente compactadas, em divisão e não diferenciadas, não sendo possível a diferenciação de córtex superior e inferior; as células do micobionte são acompanhadas por células de algas (mais para o interior do talo) também em divisão. Essa região é considerada como sendo a região meristemática do talo liquênico, responsável pelo seu crescimento.

Logo após o término da região marginal inicia-se a região de alongamento, que corresponde à região jovem do talo, estratificada e composta por córtex superior, camada de algas, medula e córtex inferior. Nessa região o córtex superior é composto por células maiores e arredondadas que formam um prosoplectênquima paliádico e existe menor quantidade de células de alga em divisão, maiores que aquelas encontradas na região marginal.

A região totalmente diferenciada corresponde à área mais central do talo e é caracterizada por um córtex superior mais espesso e grandes lacunas entre a camada mais interna do córtex superior e a camada de algas, formando um aeroplectênquima. É nela que ocorre a senescência do líquen, com a presença de células mortas de ambos os biontes.

4. Discussão

O padrão de desenvolvimento talino interno é similar em todas os espécimes estudados e está de acordo com o observado por Honegger (1993, 2008) e Barbosa e Marcelli (2009 artigo 1, artigo 2).

As três espécies de *Parmotrema* estudadas apresentam córtex superior recoberto por uma fina camada de polissacarídeos: o epicórtex (Hale 1973, 1981) (Fig. 1A, 1B, 1C, 2A, 2B, 3A).

Hale (1981) considerou que as espécies da família *Parmeliaceae* não pseudocifeladas apresentam sempre epicórtex porado, e que essa camada de polissacarídeos apresenta a mesma constituição da matriz inter-hifal do córtex superior e se encontra acima e pouco aderida às células corticais, apresentando um aspecto ondulado em secções transversais. Nas espécies com pseudocifelas também existe uma camada de polissacarídeos, mas com

constituição diferente da matriz inter-hifal e que se encontra bem aderido às células corticais (Hale 1981, Galoway and Elix 1983).

Entretanto, nas espécies não pseudocifeladas aqui estudadas o epicórtex é bem aderido às células corticais (Fig. 1A, 1B, 1C, 2A, 2B, 3A), e sua visualização foi facilitada porque a matriz inter-hifal da camada mais externa de células corticais se coloriu fortemente com o Azul de Toluidina, o que não ocorreu com o epicórtex, deixando evidente a presença de uma fina camada de substância amorfa depositada acima das células corticais. Além disso, em luz polarizada foi possível a observação de um depósito de cristais com brilho azulado nessa camada mais externa de células do córtex superior (Fig. 1D, 2D, 3C). Não existem relatos em literatura sobre a constituição química do epicórtex e matriz inter-hifal do córtex superior nas espécies de *Parmotrema* com rizinas dimórficas. No entanto, os cristais depositados no córtex devem estar relacionados à presença de atranorina, que é típica no córtex dessas espécies.

Além disso, foi possível observar a presença de grandes lacunas entre a camada mais interna do córtex superior e a camada de algas, formando um aeroplectênquima (Fig. 1B, 2B, 3A) semelhante ao observado para as espécies de *Punctelia* por Barbosa e Marcelli (2009 artigo 1).

O córtex superior em *P. consors* e *P. sp* são semelhantes e formados por células pouco alongadas, quase arredondadas, com parede espessada, (Figs. 1A-C, 2A, 2B) o córtex superior em *P. cf. reparatum* possui as células mais alongadas (Figs. 3A, 3B). A disposição das células confere ao córtex superior uma aparência em paliçada, semelhante ao relatado por Barbosa e Marcelli (2009 artigo 2) para as espécies de *Parmotrema* com máculas reticulares. No entanto, os autores não verificaram diferença de coloração com Azul de Toluidina na camada mais externa das células corticais daquelas espécies.

São necessários estudos histoquímicos detalhados para a determinação da composição química dos polissacarídeos presentes na matriz inter-hifal e no epicórtex desses grupos distintos de *Parmotrema*. Modenesi (1987) realizou um estudo histoquímico com espécies de *Punctelia* e *Parmelia* e observou padrões distintos de composição química tanto do epicórtex quanto da matriz inter-hifal entre as células do córtex superior das espécies estudadas.

Além disso, *Parmotrema cf. reparatum* é a única espécie que apresenta fissuras frequentes entre as células do córtex superior relacionadas aos locais de formação das máculas (Fig. 3B), semelhantes aquelas relatadas por Barbosa e Marcelli (2009 artigo 2) para as espécies de *Parmotrema* com máculas reticulares, que são caracterizadas anatomicamente pelo córtex superior prosoplectenquimático paliçádico com fissuras frequentes e responsáveis pelo padrão reticulado do talo. Outras características, como a espessura do epicórtex e as

células corticais mais alongadas também são semelhantes às aquelas relatadas para o grupo de *Parmotrema* com máculas reticulares indicando que *P. cf. reparatum* pode ser na realidade uma espécie nova pertencente àquele grupo particular de espécies (antigas *Rimelia*) ou ainda a um terceiro grupo cujas rizinas são de dois tamanhos, porém todas corticadas. Spielmann (2005) considerou preliminarmente os espécimes estudados aqui como próximos a *Canomaculina reparata*, e mencionou ainda a possibilidade dela ser uma espécie nova, o que posteriormente foi confirmado pelo estudo do espécime tipo de *C. reparata* (Spielmann comunicação pessoal).

Das três espécies estudadas, *Parmotrema* sp. é a única que se reproduz através da formação de propágulos vegetativos (sorédios), que se formam na medula, abaixo da camada de algas, até mesmo antes da ruptura do córtex superior, e que muitas vezes carregam restos de células corticais (Fig. 2E).

As rizinas apresentam dimorfismo nas três espécies estudadas, sendo que apenas *P. cf. reparatum* apresenta todas as rizinas corticadas; em *P. consors* e *Parmotrema* sp. as rizinas mais grossas e longas são corticadas indicando uma função de sustentação do talo, enquanto as mais finas não apresentam essa camada de células corticais (Figs. 1E, 2F, 3E, 3F). Marcelli e Benatti (2008) consideram que no grupo de *Parmotrema* com rizinas dimórficas, aquelas longas, espessas e de ápices ramificados são responsáveis pela fixação do talo ao substrato enquanto as rizinas curtas, finas e simples não se fixam. Além disso, Barbosa et al. (2009b) relacionam a presença do córtex recobrimdo as rizinas de *Parmotrema tinctorum* com a função de sustentação do talo, que é grande, folioso e aderido ao substrato por poucas rizinas que têm de exercer muita força, enquanto em *Parmelinopsis minarum*, ao contrário, o talo é menor e aderido ao substrato por muitas pequenas rizinas que não necessitam dessa camada de tecido mecânico pelo fato de cada uma delas não ser submetida a muita tração no processo de fixação.

Parmotrema consors possui cílios cespitosos e o padrão das máculas é diferente daquele encontrado nas outras espécies estudadas, além disso, as rizinas são simples, nunca ramificadas e enroladas, como acontece em *P. cf. reparatum* e *P. sp.* Anteriormente, *P. consors* pertencia ao gênero *Canomaculina* enquanto *P. reparatum* ao gênero *Rimeliella*. *Canomaculina* foi proposto por Elix e Hale (1987) a partir de um grupo de três espécies pertencentes à *Parmelina* Hale, caracterizadas pelo talo adnato a fortemente adnatos, lobos estreitos e rizinas dimórficas (Elix e Hale 1987) enquanto *Rimeliella* Kurok. foi proposto por Kurokawa (1991) a partir de um grupo de espécies de *Parmotrema* e que apresentavam talo adnato a frouxo adnato, lobos largos e rizinas dimórficas, caracterizadas pela presença de

rizinomorfos (pequenas rizinas simples ou rizinas em início de crescimento) *sensu* Hannemann (1973). Essas pequenas rizinas cobrem totalmente a superfície inferior do talo, até a margem dos lobos e não se aderem ao substrato; mais próximo ao centro do talo são encontrados grupos de rizinas longas e grossas que se aderem ao substrato, mas que são diferentes daquelas encontradas no grupo de *Parmotrema* s. str. (Kurokawa 1991). No entanto segundo Blanco et al. (2005) essas diferenças morfológicas não seriam suficientes para a diferenciação genérica.

Somados aos dados anteriormente obtidos para outros grupos de espécies, os produzidos por este estudo para o subgrupo de *Parmotrema* com rizinas dimórficas evidenciam que as características anatômicas do córtex superior, do córtex inferior e das rizinas são constantes dentro de um subgrupo, desde que se admita correta a interpretação de Blanco et al. (2005). Entretanto, considera-se haver indícios fortes de que o valor taxonômico das variações encontradas esteja sendo um tanto subestimado. Além disso, este estudo indica que os polissacarídeos típicos do epicórtex e córtex superior do grupo de espécies de *Parmotrema* com rizinas dimórficas possuem diferenciação histoquímica em relação àqueles citados para o epicórtex e córtex superior do grupo de *Parmotrema* com máculas reticulares. Essas características podem ser utilizadas na circunscrição de gêneros ou ao menos subgêneros.

Agradecimentos - Ao CAPES pela concessão da bolsa de doutorado a S. B. Barbosa e ao CNPq por bolsa de pesquisa a M. P. Marcelli.

Referências

- Barbosa, S.B. 2004. Estudos anatômicos em quatro espécies de *Parmeliaceae* (Ascomycota liquenizados). Dissertação de mestrado em Ciências Biológicas (Botânica). Universidade Estadual de São Paulo – UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil. (disponível em: <http://www.4shared.com/dir/4830094/950e897d/sharing.html>)
- Barbosa, S.B. 2009. Aplicabilidade taxonômica de variações anatômicas em fungos liquenizados. Tese de doutorado em Ciências Biológicas (Botânica). UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil.

- Barbosa, S.B. and Marcelli, M.P. 2009 (artigo 1). Morfoanatomia comparada do talo de espécies de *Punctelia* (*Parmeliaceae*: Ascomycota liquenizados) e sua aplicação taxonômica. In: Barbosa, S.B. Aplicabilidade taxonômica de variações anatômicas em fungos liquenizados. Tese de doutorado em Ciências Biológicas (Botânica). UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil.
- Barbosa, S.B. and Marcelli, M.P. 2009 (artigo 2). Morfoanatomia comparada do talo de espécies de *Parmotrema* (*Parmeliaceae*, Ascomycota liquenizados) com máculas reticulares. In: Barbosa, S.B. Aplicabilidade taxonômica de variações anatômicas em fungos liquenizados. Tese de doutorado em Ciências Biológicas (Botânica). UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil.
- Barbosa, S.B., Marcelli, M.P. and Machado, S.R. 2009a. Evaluation of different protocols for anatomical studies in *Parmeliaceae* (lichenized Ascomycota). *Micron* **40**: 218-225.
- Barbosa, S.B., Machado, S.R. and Marcelli, M.P. 2009b. Thallus structure and isidium development in two *Parmeliaceae* species (lichenized Ascomycota). *Micron* (*in press*) 10.1016/j.micron.2009.04.004
- Benatti, M.N. 2005. Os gêneros *Canomaculina*, *Parmotrema* e *Rimelia* (*Parmeliaceae*, Ascomycetes) no litoral centro-sul do Estado de São Paulo. Dissertação de mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente. Instituto de Botânica, São Paulo, SP, Brasil.
- Blanco, O., Crespo, A., Divakar, P.K., Elix, J.A. and Lumbsh, H.T. 2005. Molecular phylogeny of parmotrema-like lichens (Ascomycota, *Parmeliaceae*). *Mycologia* **97**: 150-159.
- Canêz, L.S. 2005. A família *Parmeliaceae* na localidade de Fazenda da Estrela, município de Vacaria, Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação de mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente. Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo, SP, Brasil.
- Elix, J.A. and Hale, M.E. 1987. *Canomaculina*, *Myelochroa*, *Parmelinella*, *Parmelinopsis* and *Parmotremopsis*, five new genera in the *Parmeliaceae* (Lichenized Ascomycotina). *Mycotaxon* **29**: 233-244.
- Elix, J.A. 1997. The lichen genera *Canomaculina* and *Rimeliella* (Ascomycotina, *Parmeliaceae*). *Mycotaxon* **65**: 475-479.
- Galloway, D.J. and Elix, J.A. 1983. The lichen genera *Parmelia* Ach. and *Punctelia* Krog, in Australasia. *New Zealand Journal of Botany* **21**: 397-420.
- Hale, M.E. 1973. Fine structure of cortex in the family *Parmeliaceae* viewed with the scanning electron microscope. *Smithsonian Contributions to Botany* **10**:1-92.

- Hale, M.E. 1981. Pseudocyphellae and pored epicortex in the *Parmeliaceae*: their delimitation and evolutionary significance. *Lichenologist* **13**: 1-10.
- Hannemann, B. 1973. Anhangsorgane der flechten – ihre Strukturen und ihre systematische Verteilung. *Bibliotheca Lichenologica* **1**: 1-123.
- Hawksworth, D.L. Kirk, P.M., Sutton, B.C. and Pegler, D.N. 1995. Dictionary of the Fungi. 8th Edn. International Mycological Institute, CAB International.
- Honegger, R. 1993. Developmental biology of lichens. *New Phytol.* 125: 659-677.
- Honegger, R. 2008. Morphogenesis. In: Lichen biology. *Edited by* T.H. Nash III. Cambridge University Press. pp. 69-93.
- Jahns, H.M. 1973. Anatomy, morphology and development. In: The Lichens. *Edited by* V. Ahmadjian and M.E. Hale. New York: Academic Press.
- Jungbluth, P. 2006. A família *Parmeliaceae* (fungos liquenizados) em cerrados do Estado de São Paulo, Brasil. Dissertação de mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente). Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo, SP, Brasil.
- Kurokawa, S. 1991. *Rimeliella*, a new lichen genus related to *Rimelia* of the *Parmeliaceae*. *Annals of the Tsukuba Botanical Garden* **10**: 1-14.
- Kurokawa, S. 2001. Taxonomic notes on *Parmelia reparata* (*Parmeliaceae*, Lichenes) and the related species. *Bulletin of the National Science Museum Tokyo Ser. B.* **27**: 1-10.
- Louwhoff, S.H.J.J. and Crisp, M.D. 2000. Phylogenetic analysis of *Parmotrema* (*Parmeliaceae*: Lichenized Ascomycotina). *The Bryologist* **103**: 541-554.
- Marcelli, M.P. and Benatti, M.N. 2008. Espécies de *Parmotrema* (*Parmeliaceae*, Ascomycetes liquenizados) com rizinas dimórficas do litoral centro-sul do Estado de São Paulo. *Hoehnea* **35**: 7-19
- Modenesi, P. 1987. Histochemistry and generic delimitation in *Parmelia* and *Punctelia*. *Nova Hedwigia* **45**: 423-431.
- O'Brien, T.P., Feder, N., McCully, M.E. 1965. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* **63**: 443-478.
- Spielmann, A.A. 2005. A família *Parmeliaceae* (fungos liquenizados) nos barrancos e peraus da encosta da Serra Geral, Vale do Rio Pardo, Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação de mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente). Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo, SP, Brasil.

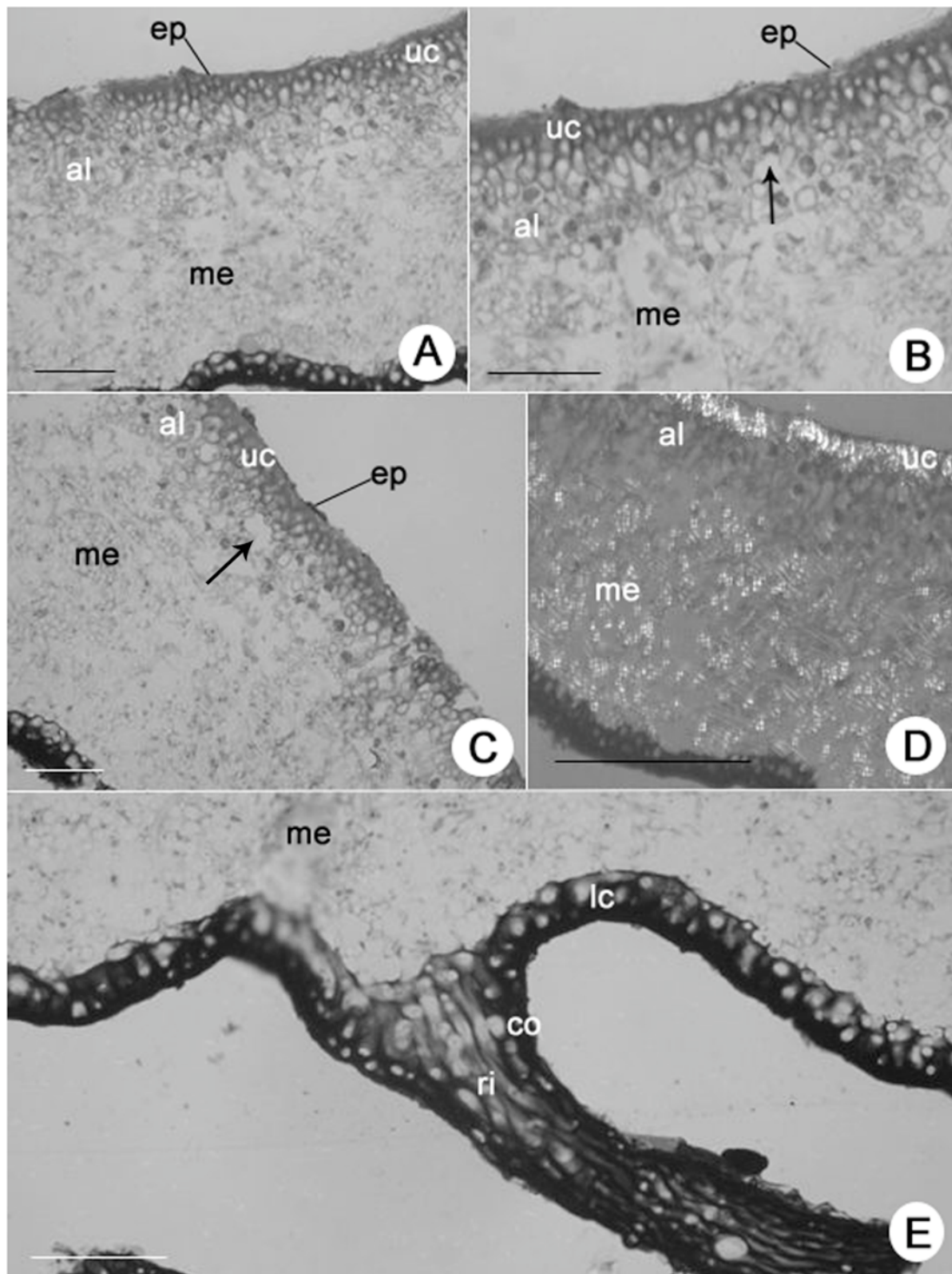


Figura 1. Anatomia do talo de *Parmotrema consors*. A. Secção transversal, mostrando epicórtex (ep), córtex superior (uc), camada de algas (al), medula (me) e córtex inferior (lc). B. Detalhe da região superior do talo mostrando epicórtex (ep), córtex superior (uc), lacunas (seta), camada de alga (al) e parte da medula (me). C. Detalhe mostrando epicórtex (ep), córtex superior (uc), lacunas (seta), camada de alga (al) e parte da medula (me). D. Secção transversal visualizada com auxílio de polarizador mostrando cristais presentes no córtex superior (uc) e medula (me). E. Detalhe da região inferior do talo mostrando parte da medula (me), córtex inferior (lc), e rizina (ri) recoberta por camada cortical (co). Barras= 50 μ m (A, C), 100 μ m (B, D, E).

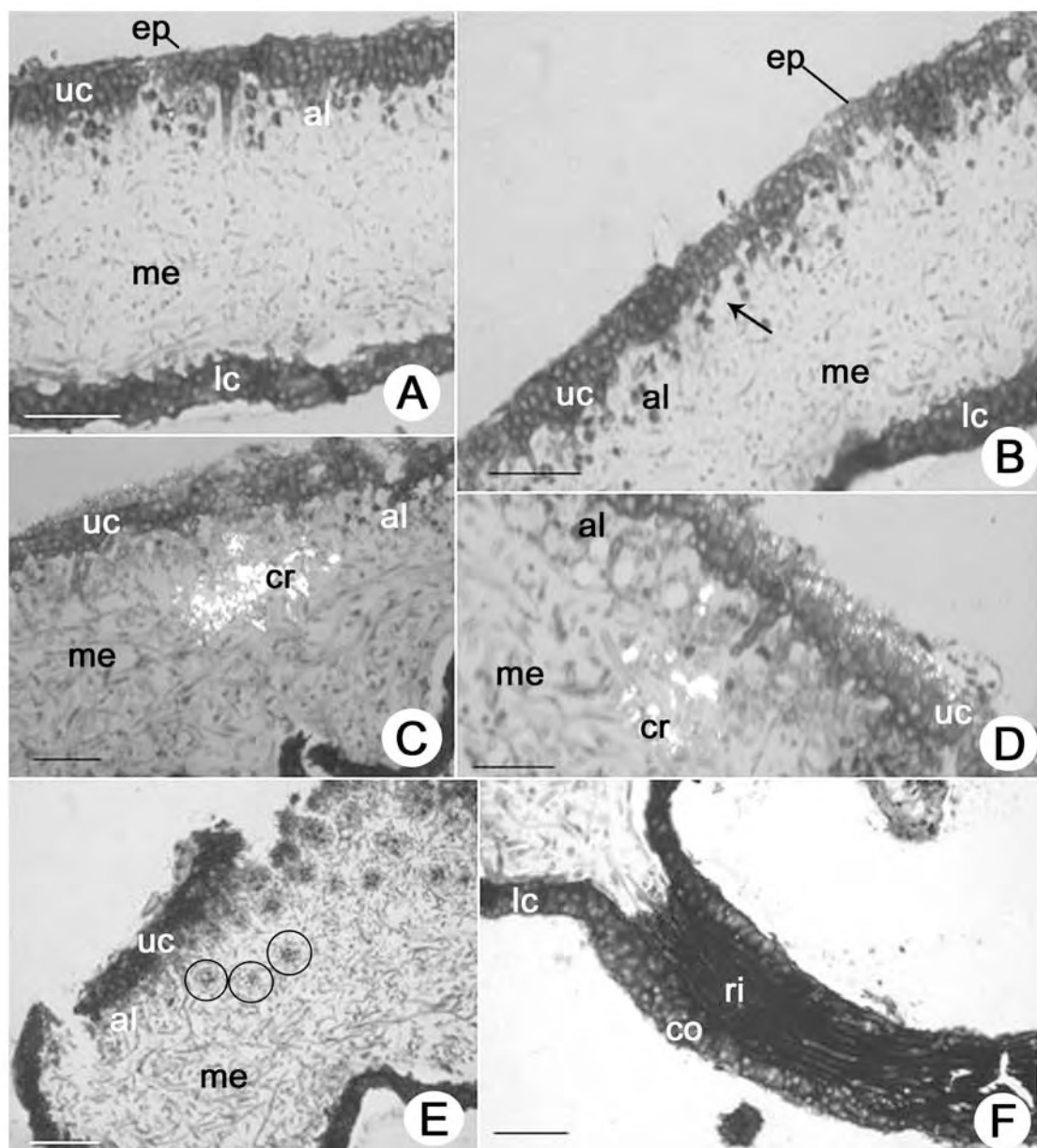


Figura 2. Anatomia do talo de *Parmotrema* sp. A. Secção transversal mostrando epicórtex (ep) e córtex superior (uc), camada de alga (al), medula (me) e córtex inferior (lc). B. Secção transversal mostrando epicórtex (ep) e córtex superior (uc), lacunas (lc), camada de alga (al), medula (me) e córtex inferior (lc). C.- D. Secção transversal visualizada com auxílio de polarizador mostrando cristais (cr) relacionados ao aglomerado de hifas em forma estrelada na medula (me). E. Detalhe de soral mostrando locais de formação dos sorédios. F. Detalhe mostrando córtex inferior (lc) e rizina (ri) corticada (co). Barras: 50 µm.

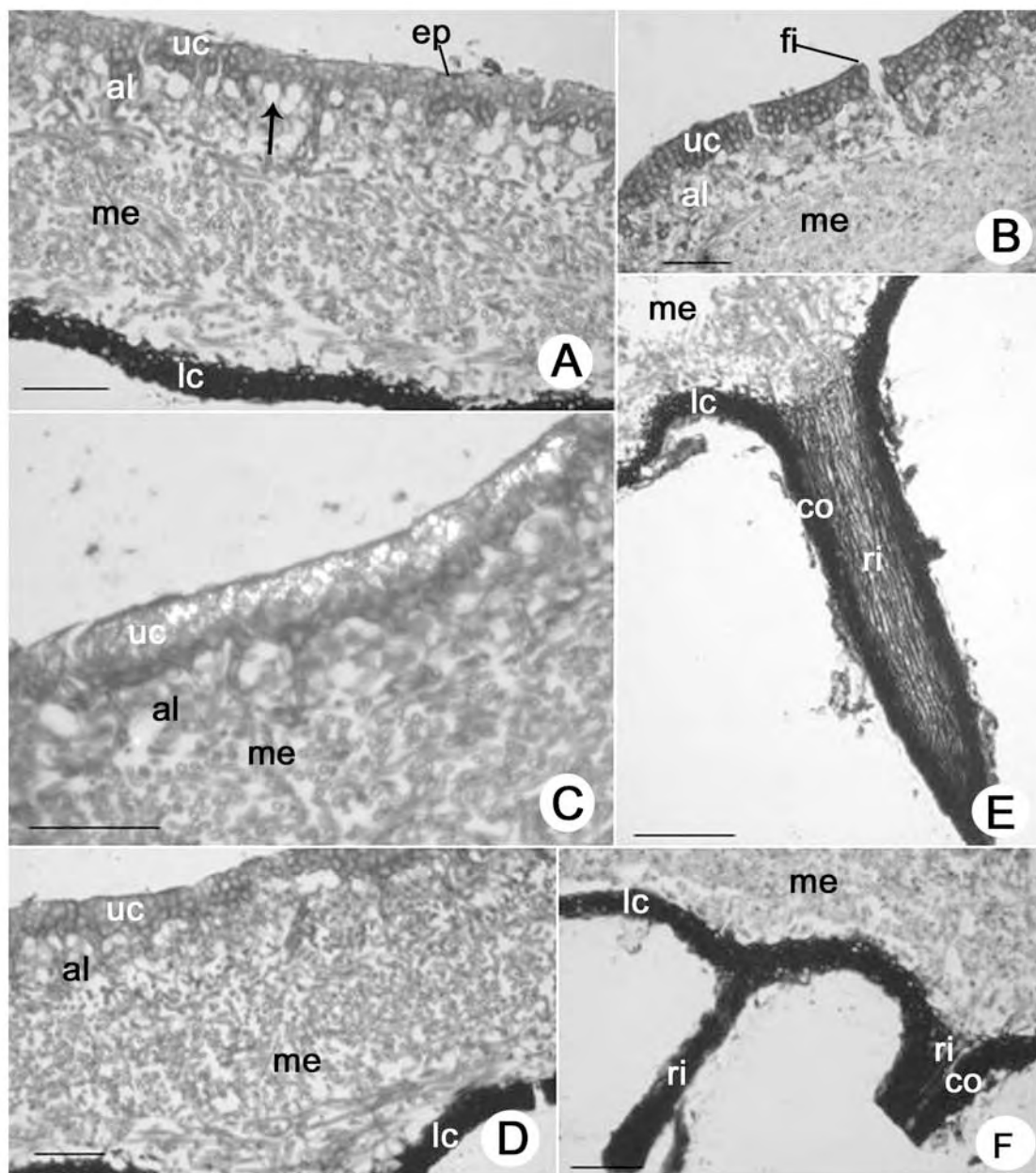


Figura 3. Anatomia do talo de *Parmotrema* cf. *reparatum*. A. Secção transversal mostrando epicórtex (ep) e córtex superior (uc), lacunas (lc), camada de alga (al), medula (me) e córtex inferior (lc). B. Detalhe mostrando córtex superior (uc) com fissura (fi), camada de algas (al) e medula (me). C. Detalhe da região superior do talo visualizada com auxílio de polarizador mostrando presença de cristais no córtex superior (uc). D. Detalhe mostrando córtex superior (uc), camada de alga (al), medula (me) e córtex inferior (lc). E. Detalhe de rizina (ri) corticada (co). F. Detalhe mostrando córtex inferior (lc) e duas rizinas (ri) a mais fina sem córtex e a mais espessa corticada (co). Barras: 50 µm.

ARTIGO 4

Morfoanatomia comparada do talo de espécies de *Parmotrema* s. str. (*Parmeliaceae*, Ascomycota liquenizados)

Barbosa, S.B.^{a*} & Marcelli, M.P.^b

^a Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Caixa Postal 510, 18618-000, Botucatu-SP, Brazil. Phone: 55 (14) 3811 6053. E-mail: suzibissacot@yahoo.com.br.

^b Instituto de Botânica, Seção de Micologia e Liquenologia, Caixa Postal 3005, 01061-970, São Paulo-SP, Brazil.

* Corresponding author

RESUMO – (Morfoanatomia comparada do talo de espécies de *Parmotrema* s. str. (*Parmeliaceae*, Ascomycota liquenizados)). Através de técnicas convencionais para estudos histológicos em microscopia de luz com auxílio de luz polarizada, é descrita e comparada a anatomia do talo de cinco espécies de *Parmotrema*: *P. dilatatum*, *P. eitenii*, *P. mordenii*, *P. spinibarbe* e *P. tinctorum*. Os dados obtidos mostram que as espécies possuem características semelhantes relacionadas à presença de epicórtex, ao tipo de organização celular dos córtices superior e inferior e às características das rizinas. Entretanto, apesar da semelhança cortical básica, diferenças claras puderam ser observadas entre as cinco espécies aqui estudadas. Em *P. mordenii* e *P. spinibarbe* as células corticais são arredondadas e mais compactadas em relação às outras três espécies estudadas, assemelhando-se mais ao córtex superior de *Parmotrema* com rizinas dimórficas. Além disso este estudo indica que as diferenças relacionadas ao tipo de propágulo vegetativo encontrado em *P. tinctorum* e *P. eitenii* e sua ontogenia podem ser aplicados em estudos taxonômicos .

Palavras-chave: anatomia, histologia, sorédios, isídios, *Parmotrema*

1. Introdução

Parmotrema Massalongo, ressuscitado por Hale (1974) com base em *Parmelia* subgênero *Amphigymnia* (Vainio) Dodge (Hale 1965), é um dos maiores gêneros segregados de *Parmelia* s. lat., incluindo mais de 300 espécies (Nash and Elix 2002, Blanco et al. 2005), 94 delas citadas para o Brasil (Marcelli 2004).

As espécies são caracterizadas pela presença de epicórtex porado, talo grande e com lobos relativamente largos e arredondados, margem inferior com uma ampla zona desprovida de rizinas (normalmente maior que 5 mm), ascósporos elipsóides e conídios sublageniformes ou filiformes (Elix 1993).

O conceito genérico de *Parmotrema* foi discutido em detalhes por Hale (1974) e Elix (1993). No entanto, vários gêneros são considerados próximos a *Parmotrema* e recentemente alguns estudos moleculares e filogenéticos têm sido realizados com os gêneros parmotremóides com o intuito de se definir sua circunscrição (Crespo and Cubero 1998, Crespo et al. 1999, Crespo et al. 2001, Louwhoff and Crisp 2000, Blanco et al. 2005). Blanco et al. (2005) sugeriram a sinonimização dos gêneros *Concamerella*, *Rimelia* e *Canomaculina* com o gênero *Parmotrema*, por considerarem os caracteres utilizados para a separação desses gêneros inapropriados para o reconhecimento de grupos monofiléticos em líquens. No entanto, afirmam que são necessários mais estudos envolvendo as espécies do grande grupo parmotremóide e que poderiam ocorrer novas organizações em grupos morfológicos menores.

Este estudo tem como principal objetivo realizar um estudo anatômico comparado e detalhado do talo de cinco espécies de *Parmotrema* s. str. procurando por parâmetros que sirvam de subsídios à taxonomia do grupo.

Este trabalho é a continuidade de um projeto iniciado em 2003, como parte da dissertação de mestrado do primeiro autor (Barbosa 2004), que teve como objetivo a descrição de um protocolo para estudos anatômicos em espécies da família *Parmeliaceae* (Barbosa et al 2009a). Os resultados apresentados aqui são parte da tese de doutorado do mesmo autor (Barbosa 2009), que visou estudar a aplicação dos dados anatômicos como auxiliares na definição taxonômica de grupos de espécies na família *Parmeliaceae*.

2. Material e Métodos

O material estudado foi obtido de amostras depositadas no Herbário Científico Maria Eneyda P. Kauffmann Fidalgo (SP) do Instituto de Botânica de São Paulo, conforme a Tabela 1.

Tabela 01: Lista dos espécimes do gênero *Parmotrema* estudados, com respectivos coletores, número de coletor e procedência.

Espécies	Material	Município/Estado
<i>P. dilatatum</i>	M.N. Benatti, I.P.R. Cunha, M.P. Marcelli & P. Jungbluth 1720	Itanhaém/SP
	L.S. Canêz & A.A. Spielmann 649	Ubatuba/SP
<i>P. eitenii</i>	M.N. Benatti, I.P.R. Cunha, M.P. Marcelli & P. Jungbluth 1729	Itanhaém/SP
	M.P. Marcelli & O. Yano 14354	Praia Grande/SP
	M.P. Marcelli 27196	Praia Grande/SP
<i>P. mordenii</i>	M.P. Marcelli & O. Yano 23796	Peruíbe/SP
	P. Jungbluth, A.A. Spielmann & L.S. Canêz 773	Itirapina/SP
	L.S. Canêz & A.A. Spielmann 610	Ubatuba/SP
<i>P. spinibarbe</i>	A.A. Spielmann & L.S. Canêz 1161	Boqueirão do Leão/RS
<i>P. tinctorum</i>	P. Jungbluth, F.R. Martins, F.M. Santos & J.Y. Tamashiro 585	Mogi-Mirim/SP
	A.A. Spielmann, M.P. Marcelli, P. Jungbluth & M.N. Benatti 1042	Mogi-Mirim/SP

Foram estudadas secções transversais e longitudinais de lobos, obtidas a partir de amostras retiradas das regiões jovem (próxima da margem) e desenvolvida do talo (próxima

ao centro do talo). Foram preparados três blocos para cada região do talo amostrada e feitas pelo menos quatro lâminas de cada bloco.

Microscopia de luz – o material foi preparado de acordo com o protocolo estabelecido por Barbosa et al. (2009a) para estudos anatômicos de líquens da família *Parmeliaceae*. Amostras com $0,5 \times 1$ cm provenientes de material herborizado foram desidratadas em série etílica (70%, 95%, 100%, 2 horas cada) e incluídas em resina metacrilato (Leica®) (5 horas) a temperatura ambiente. Os blocos foram seccionados em micrótomo de rotação semi-automático com navalha descartável; os cortes obtidos, com 2 a 5 μ m de espessura, foram corados com Azul de Toluidina 0,05%, pH 4,7 (O'Brien et al. 1965) e montados entre lâmina e lamínula com resina sintética Permout®. Os aspectos relevantes foram fotografados em microscópio Zeiss acoplado em câmera Olympus, com e sem filtro polarizador. Foram tomadas medidas das células com auxílio de retículo de ocular.

A descrição das espécies segue o protocolo desenvolvido pelo Grupo de Estudos Liquenológicos do Instituto de Botânica, São Paulo/SP, e adaptado para estudos anatômicos por Barbosa (2004).

Para as descrições anatômicas do corte transversal dos lobos das espécies apresentadas abaixo são consideradas as seguintes definições:

- **Plectênquima:** falso-tecido formado por hifas entrelaçadas, interconectadas por anastomoses ou firmemente compactadas (Jahns, 1973);
- **Tecido:** constituído de células posicionadas lado a lado;
- **Plectênquima paliçádico:** plectênquima composto por hifas paralelas com organização semelhante a paliçada;
- **Paraplectênquima:** plectênquima composto por hifas com paredes delgadas, que perdem a aparência de hifas, com organização celular lembrando o parênquima dos vegetais (Hawksworth et al. 1995);
- **Prosoplectênquima:** plectênquima de hifas com paredes espessadas, facilmente reconhecíveis (Hawksworth et al. 1995);

3. Resultados

***Parmotrema dilatatum* (Vainio) Hale**

Phytologia 28(4): 335. 1974.

Figura 1

EPICÓRTEX 0,75–1,25 μm alt. (Figs. 1A, 1B). **CÓRTEX SUPERIOR** prosoplectênquima paliçádico, 3–5 células alt. (12,50–25,00 μm), com células alongadas de parede espessada 3,75–5,00 $\times$ 2,50–3,75 μm , formado a partir da justaposição das células apicais de hifas que se projetam a partir da medula e se ramificam no ápice para compor o córtex superior; na região mais jovem do talo o córtex superior é bem compactado, na região mais desenvolvida se torna mais espesso e com muitos espaços entre as células, com fissuras freqüentes associadas às máculas (Figs. 1A, 1B). **CAMADA DE ALGAS** 2–5 células alt. (7,50–17,50 μm), com células pequenas e arredondadas 2,50–5,00 μm diâm., conteúdo celular heterogêneo; hifas 5,00–6,25 μm larg., com células alongadas 10,00–12,50 comp. (Figs. 1A, 1B); **máculas** distintas formadas por feixes de hifas medulares paralelas com 12,50–25,00 μm larg., originam fissuras na região desenvolvida do talo (Fig. 1 B). **MEDULA** hifas horizontais transversais e longitudinais, hifas 2,50–5,00 μm larg., com células alongadas 7,50–12,50 comp., presença de cristais sobre as hifas da região inferior da medula na parte mais jovem do talo e por toda a medula na região desenvolvida do talo (Figs. 1A, 1C). **SORAIS** 200,00–600,00 μm larg.; **sorédios** arredondados 4–8 células de algas, 10,00–17,50 μm diâm. (Figs. 1D, 1E, 1F). **ISÍDIOS** ausentes. **CÓRTEX INFERIOR** prosoplectênquima, 1–2 células alt. (3,75–7,50 μm), com células pequenas de parede espessada 2,50–3,75 μm diâm. (Figs. 1A, 1C); **rizinas** não visualizadas.

***Parmotrema eitenii* Marcelli & Benatti**

Bibliotheca Lichenologica 96: 209-227. 2007.

Existem grandes diferenças entre os três espécimes identificados como *Parmotrema eitenii* estudados e por isso eles serão descritos separadamente; talvez constituam espécies distintas.

M.N. Benatti, I.P.R. Cunha, M.P. Marcelli & P. Jungbluth 1729 - Figura 2

EPICÓRTEX 0,70–1,75 μm alt. (Figs. 2 A, 2B). **CÓRTEX SUPERIOR** prosoplectênquima paliádico, 2–5 células alt. (12,50–25,00 μm), com células levemente alongadas de paredes espessadas 5,00–7,50 $\times$ 2,50–5,00 μm , formado a partir da justaposição das células apicais de hifas que se projetam a partir da medula e se ramificam no ápice para compor o córtex superior, presença de interstícios celulares (Figs. 2A, 2B). **CAMADA DE ALGAS** 2–4 céls. alt. (12,50–37,50 μm), com células arredondadas 7,50–12,50 μm diâm., conteúdo celular heterogêneo; hifas 2,50–3,75 μm larg., com células alongadas 10,00–12,50 comp. (Figs. 2A, 2B, 2D)., **máculas** distintas formadas por feixes de hifas medulares paralelas com 7,50–12,50 μm larg. **MEDULA** 75,00–125,00 μm larg., hifas horizontais predominantes, hifas horizontais transversais principalmente na metade superior da medula, hifas 2,50–3,75 μm larg, com células alongadas 12,50–25,00 comp., presença de cristais recobrimdo a superfície das hifas da região mediana e inferior da medula (Figs. 2A, 2B, 2C). **SORAIS** ausentes. **ISÍDIOS** 2,00–3,50 $\times$ 0,75–1,50 mm; com ápice erodido e se desmanchando em sorédios (Figs. 2D, 2E). **CÓRTEX INFERIOR** prosoplectênquima, 1–2 céls. alt. (7,50–10,00 μm), com células arredondadas de parede espessada 5,00–7,50 μm diâm. (Fig. 2F); **rizinas** corticadas, simples, 100,00–150,00 μm diâm., correspondendo a 15–25 hifas paralelas e aglutinadas com 1,25–2,50 μm larg., formadas a partir de tecido cortical e de hifas da medula (Fig. 2F).

M.P. Marcelli & O. Yano 14354 – Figura 3

EPICÓRTEX 0,75–2,00 μm alt. (Fig. 3A). **CÓRTEX SUPERIOR** prosoplectênquima paliádico, 2–5 células alt. (12,50–25,00 μm), com células alongadas de paredes espessadas 5,00–7,50 $\times$ 2,50–5,00 μm , formado a partir da justaposição das células apicais de hifas que se projetam a partir da medula e se ramificam no ápice para compor o córtex superior, presença de finos interstícios celulares (Fig. 3A). **CAMADA DE ALGAS** 1–4 céls. alt. (12,50–37,50 μm), com células arredondadas 7,50–12,50 μm diâm., conteúdo celular heterogêneo; hifas 2,50–3,75 μm larg., com células alongadas 10,00–12,50 comp. (Fig. 3A); **máculas** distintas formadas por feixes de hifas medulares paralelas com 7,50–12,50 μm larg.

(Fig. 3A). **MEDULA** 125,00–250,00 μm larg., hifas horizontais predominantes, hifas horizontais transversais principalmente na metade superior da medula, hifas 2,50–3,75 μm larg, com células alongadas 12,50–25,00 comp., presença de poucos cristais recobrimdo a superfície de parte das hifas na região mediana da medula (Figs. 3B, 3D, 3E). **SORAIS** aglutinados em grandes formações pustulares e corticadas em parte, com grandes espaços internos; **sorédios** arredondados, 4–15 células de algas, 25,00–50,00 μm diâm., às vezes corticados (Figs. 3B, 3C, 3D, 3E). **ISÍDIOS** ausentes. **CÓRTEX INFERIOR** prosoplectênquima, 1–2 céls alt. (7,50–12,50 μm), com células arredondadas de parede espessada 5,00–7,50 μm diâm. (Fig. 3B); **rizinas** corticadas, simples, 100,00–150,00 μm diâm, correspondendo a 15–25 hifas paralelas e aglutinadas com 1,25–2,50 μm larg., formadas a partir de tecido cortical e de hifas da medula (não mostradas).

M.P. Marcelli 27196 – Figura 4

EPICÓRTEX 0,65–1,25 μm alt. (Figs. 4A, 4B). **CÓRTEX SUPERIOR** prosoplectênquima paliádico (contínuo na região jovem do talo e mais frouxo na região desenvolvida, principalmente nas áreas próximas aos sorais), 2–5 células alt. (5,00–12,50 μm), com células levemente alongadas de paredes espessadas 2,50–5,00 $\times$ 1,25–2,50 μm , formado a partir da justaposição das células apicais de hifas que se projetam a partir da medula e se ramificam no ápice para compor o córtex superior, presença de finos interstícios celulares (Figs. 4A, 4B). **CAMADA DE ALGAS** 2–4 céls. alt. (7,50–25,00 μm), com células arredondadas 5,00–7,50 μm diâm., conteúdo celular heterogêneo; hifas 1,25–2,50 μm larg., com células alongadas 5,00–7,50 comp. (Figs. 4A, 4B); **máculas** distintas formadas por feixes de hifas medulares paralelas com 5,00–10,50 μm larg. **MEDULA** 65,00–125,00 μm larg., hifas horizontais predominantes, hifas horizontais transversais principalmente na metade superior da medula, hifas 1,25–2,50 μm larg., com células alongadas 12,50–25,00 comp., ausência de cristais (Figs. 4A, 4C, 4E). **SORAIS** típicos sem formações pustulares, com poucos vestígios de córtex; **sorédios** arredondados, 4–6 células de algas, 12,50–25,00 μm diâm., às vezes corticados (Figs. 4C, 4D). **CÓRTEX INFERIOR** prosoplectênquima, 1–2 céls alt. (7,50–10,00 μm), com células arredondadas de parede espessada 5,00–7,50 μm diâm. (Figs. 4E, 4F); **rizinas** corticadas, simples, 100,00–150,00 μm diâm, correspondendo a 15–25 hifas paralelas e aglutinadas com 1,25–2,50 μm larg., formadas a partir de tecido cortical e de hifas da medula (Fig. 4F).

***Parmotrema mordenii* (Hale) Hale**

Phytologia 28 (4): 337. 1974.

Figura 5

EPICÓRTEX 0,75–1,25 μm alt. (Figs. 5A, 5B), reage com Azul de Toluidina produzindo uma coloração enegrecida. **CÓRTEX SUPERIOR** prosoplectênquima paliçádico, 3–5 células alt. (12,50–17,50 μm), com células arredondadas de parede espessada 2,50–3,75 μm diâm., formado a partir da justaposição das células apicais de hifas que se projetam a partir da medula e se ramificam no ápice para compor o córtex superior, presença de finos interstícios celulares (Figs. 5A, 5B). **CAMADA DE ALGAS** 3–5 células alt. (7,50–12,50 μm), com células arredondadas 5,00–7,50 μm , conteúdo celular heterogêneo; hifas 2,50–3,75 μm larg., com células pouco alongadas 3,75–5,00 comp. (Figs. 5A, 5B, 5C); **máculas** formadas por feixes de normalmente uma ou poucas vezes duas hifas medulares paralelas com 2,50–3,75 μm larg. (Fig. 5B). **MEDULA** 75,00–100,00 μm , hifas horizontais longitudinais predominantes, hifas 2,50–3,75 μm larg., com células alongadas 12,50–17,50 comp., presença de cristais depositado na superfície das hifas principalmente na metade inferior (Figs. 5A, 5B, 5C). **SORAIS** formados no ápice de pequenas lacínulas marginais, que se abrem e liberam os sorédios; presença de cristais na região medular dessas estruturas (Figs. 5D, 5E), **sorédios** 2–4 células de algas, 12,50–25,00 μm diâm, às vezes com restos de células corticais, formados no interior das lacínulas (Figs. 5D, 5E). **ISÍDIOS** ausentes. **CÓRTEX INFERIOR** prosoplectênquima, 1–2 células alt. (10,00–12,50 μm), com células arredondadas de parede espessada 5,00–7,50 μm (Figs. 5A, 5F); **rizinas** corticadas, 75,00–100,00 μm diâm, formadas por 20–30 hifas paralelas e aglutinadas com 1,75–2,50 μm larg., formadas a partir de tecido cortical e de hifas da medula (Fig. 5 F).

***Parmotrema spinibarbe* (Kurok.) Hale & DePriest**

Bryologist 102(3): 462-544. 1999

Figura 6

EPICÓRTEX 0,65–1,75 μm alt., bem aderido ao córtex superior (Figs. 6A, 6B). **CÓRTEX SUPERIOR** prosoplectênquima paliçádico, 3–5 células alt. (25,00–30,00 μm), com células arredondadas de parede espessadas 5,00–7,50 μm diâm., formado a partir da justaposição das

células apicais de hifas que se projetam a partir da medula e se ramificam no ápice para compor o córtex superior, presença de finos interstícios celulares; na camada mais externa de células a matriz inter-hifal reage com Azul de Toluidina desenvolvendo uma coloração enegrecida, presença de lacunas formando um aeroplectênquima (Figs. 6A, 6B). **CAMADA DE ALGAS** 3–5 céls alt. (25,00–37,50 μm), com células arredondadas 5,00–7,50 μm diâm., conteúdo celular heterogêneo; hifas 3,75–5,00 μm larg., com células pouco alongadas 5,00–7,50 comp. (Figs. 6A, 6B); **máculas** distintas formadas por feixes de hifas medulares paralelas com 12,50–17,50 μm larg., às vezes originam quebras. **MEDULA** 125,00–162,50 μm larg., organização das hifas predominantemente horizontais, com hifas horizontais transversais principalmente na metade superior da medula e hifas horizontais longitudinais na metade inferior da medula, hifas 2,50–3,75 (–5,00) μm larg., com células alongadas 12,50–25,00 comp., ausência de cristais (Fig. 6A); **SORAIS** pustulares 400,00–600,00 μm larg. (Figs. 6C, 6D, 6E); **sorédios** granulares, 4–6 células de algas, 12,50–25,00 μm diâm. **ISÍDIOS** ausentes. **CÓRTEX INFERIOR** prosoplectênquima, 2–3 céls alt. (12,50–17,50 μm), com células arredondadas de parede espessada 2,50–5,00 μm diâm., formado a partir de hifas medulares (Fig. 6A, 6E); **rizinas** corticadas, simples, 25,00–37,50 μm diâm., 10–15 hifas paralelas e aglutinadas com 1,75–2,50 μm larg., formadas a partir de tecido cortical e de hifas da medula (não mostradas).

***Parmotrema tinctorum* (Dèspr. ex Nyl.) Hale**

Phytologia 28 (4): 339. 1974.

Existem grandes diferenças entre os dois espécimes identificados como *Parmotrema tinctorum* e por isso estes serão tratados aqui separadamente; talvez constituam espécies distintas.

P. Jungbluth, F.R. Martins, F.M. Santos & J.Y. Tamashiro 585 – Figura 7

EPICÓRTEX 0,60–0,75 μm alt. (Figs. 7A, 7B). **CÓRTEX SUPERIOR** prosoplectenquimático paliçádico, 1–2 (–4) células alt. (7,50–27,50 μm), com células pequenas alongadas de paredes espessadas (2,50–) 3,75–5,00 $\times$ 2,50–5,00 μm , formado a partir da justaposição das células apicais de hifas que se projetam a partir da medula e se ramificam no ápice para compor o córtex superior, presença de finos interstícios celulares (Figs. 7A, 7B). **CAMADA DE ALGAS** 1–3 células alt. (10,00–25,00 μm), com células

arredondadas 5,00–7,50 µm diâm., com paredes espessadas, conteúdo celular heterogêneo; hifas 0,75–2,50 µm larg., com células finas alongadas 7,50–10,00 µm comp. (Figs. 7A, 7B, 7D); **máculas** distintas formadas por feixes de hifas medulares paralelas com 7,50–17,50 µm larg., podem originar quebras (Fig. 7B). **MEDULA** 75,00–100,00 µm alt., hifas com arranjo horizontal predominante, hifas horizontais transversais principalmente na metade superior da medula, hifas 2,50–5,00 µm larg. com células alongadas 12,50–17,50 µm comp.; sem depósitos de cristais (Figs. 7A, 7B, 7C, 7D). **SORAIS** 25,00–125,00 µm larg., se formam a partir de isídios que se rompem no ápice e liberam sorédios (Fig. 7C), **sorédios** granulares; sorais associados à regiões com córtex superior erodido. **ISÍDIOS** simples com ápice erodido se desmanchando em sorédios, 25,00–62,50 µm comp. × 25,00–50,00 (–125,00) µm larg., córtex 1–2 células alt. 5,00–12,50 µm, camada de algas 1–3 células alt. 5,00–12,50 µm, medula 12,50–5,00 µm de espessura (Figs. 7D, 7E, 7F). **CÓRTEX INFERIOR** prosoplectenquimático, 1–2 células alt. (7,50–12,50 µm), com células pequenas arredondadas 2,50–5,00 µm diâm. (Fig. 7 A); **rizinas** simples, corticadas, 50,00–100,00 µm diâm, 10–15 hifas paralelas aglutinadas 1,25–2,50 µm diâm, formadas a partir de tecido cortical e de hifas da medula (não mostrado).

A.A. Spielmann, M.P. Marcelli, P. Jungbluth & M.N. Benatti 1042 – Figura 8

EPICÓRTEX 0,75–2,00 µm alt. (Figs. 8A, 8B). **CÓRTEX SUPERIOR** prosoplectenquimático paliádico, 1–3 (–4) células alt. (7,50–27,50 µm), com células pequenas alongadas de paredes espessadas (5,00–) 7,50–10,00 × 5,00–7,50 µm, formado a partir da justaposição das células apicais de hifas que se projetam a partir da medula e se ramificam no ápice para compor o córtex superior, presença de finos interstícios celulares (Figs. 8A, 8B). **CAMADA DE ALGAS** 1–3 células alt. (10,00–25,00 µm), com células arredondadas (5,00–) 7,50–10,00 µm diâm., com paredes espessadas, conteúdo celular heterogêneo; hifas 2,50–3,75 µm larg., com células finas alongadas (7,50–) 10,00 µm comp. (Figs. 8A, 8B); **máculas** distintas formadas por feixes de hifas medulares paralelas com 12,50–17,50 µm larg., podem originar quebras. **MEDULA** 125,00–175,00 µm alt., hifas com arranjo horizontal predominante, hifas horizontais transversais principalmente na metade superior da medula, hifas 2,50–5,00 µm larg. com células alongadas 12,50–17,50 µm comp.; cristais em grande quantidade principalmente na metade inferior da medula (Figs. 8A, 8C, 8E). **SORAIS** ausentes. **ISÍDIOS** simples ou ramificados, 50,00–250,00 µm comp. × 50,00–250,00 µm larg., córtex 1–3 células alt. 5,00–7,50 µm, camada de algas 1–3 células alt. 5,00–

12,50 μm , medula 12,50–5,00 μm de espessura (Figs. 8B, 8D). **CÓRTEX INFERIOR** prosoplectenquimático, 1–3 células alt. (7,50–17,50 μm), com células pequenas arredondadas (2,50–) 5,00–7,50 μm diâm. (Figs. 8E, 8F); **rizinas** simples, corticadas, 50,00–100,00 μm diâm, 10–15 hifas paralelas aglutinadas 1,25–2,50 μm diâm, formadas a partir de tecido cortical e de hifas da medula (Fig. 8F).

Diferenciação talina:

A margem do talo das espécies estudadas é caracterizada por possuir pequenas células de micobionte densamente compactadas, em divisão e não diferenciadas, não sendo possível a diferenciação de córtex superior e inferior; as células do micobionte são acompanhadas por células de algas (mais para o interior do talo) também em divisão. Essa região é considerada como sendo a região meristemática do talo liquênico, responsável pelo seu crescimento.

Logo após o término da região marginal inicia-se a região de alongamento, que corresponde à região jovem do talo, estratificada e composta por córtex superior, camada de algas, medula e córtex inferior. Nessa região o córtex superior é composto por células maiores e arredondadas que formam um prosoplectênquima paliádico e existe menor quantidade de células de alga em divisão, maiores que aquelas encontradas na região marginal.

A região totalmente diferenciada corresponde à área mais central do talo e é caracterizada por um córtex superior mais espesso. É nela que ocorre a senescência do líquen, com a presença de células mortas de ambos os biontes.

4. Discussão

Os resultados dos estudos realizados em espécies de fungos liquenizados brasileiros (Barbosa 2004, Barbosa et al. 2009a/b, Barbosa et al. in prep., Barbosa e Marcelli 2009 artigo1, artigo2, artigo3) têm mostrado que a anatomia é bastante eficiente na distinção de gêneros e espécies em *Parmelia* s.l.

O padrão de desenvolvimento talino interno é similar em todas as espécies estudadas e está de acordo com o observado por Honegger (1993, 2008) e Barbosa e Marcelli (2009 artigo 1, artigo 2, artigo 3).

As diferenças encontradas na estrutura do córtex das espécies aqui estudadas levantam dúvidas quanto ao posicionamento genérico ou infragenérico atualmente aceito para elas.

O córtex superior em *Parmotrema dilatatum*, *P. eitenii* e *P. tinctorum* é prosoplectenquimático paliádico e caracterizado pela presença de pequenos interstícios entre

as hifas do fungo (Figs. 1A, 1B, 2A, 2B, 3A, 4A, 4B, 7A, 7B, 8A, 8B). Embora as espécies do grupo de *Parmotrema* com máculas reticulares (antes em *Rimelia*) e do grupo de *Parmotrema* com rizinas dimórficas (antes em *Canomaculina*) também possuam córtex superior prosoplectenquimático paliçádico (Barbosa e Marcelli 2009 artigo 2, artigo 3) existem diferenças nítidas entre eles. O córtex superior de *Parmotrema* s. str. pode ser caracterizado por possuir células mais alongadas, ter as hifas bastante compactadas e com finos interstícios entre elas; já o córtex das espécies com máculas reticulares é caracterizado pela presença de máculas produzidas pela organização das hifas que dão origem ao córtex superior e que não são tão compactadas (Barbosa e Marcelli 2009 artigo 2), enquanto o córtex do grupo das espécies com rizinas dimórficas possui células menos alongadas, quase arredondadas, sem interstícios ou quebras mas acompanhados por aeroplectênquima, a primeira camada de células apresentando coloração diferencial com azul de toluidina e um epicórtex bem mais aderido (Barbosa e Marcelli 2009 artigo 3). Já em *Punctelia*, gênero considerado bem delimitado e grupo irmão de *Parmotrema*, o córtex é paraplectenquimático e bem distinto do córtex dos grupos acima mencionados (Barbosa e Marcelli 2009 artigo 1).

Quando se considera também as diferenças na estrutura do córtex observada em *Canoparmelia texana* (Barbosa et al. *in prep.*) e *Parmelinopsis minarum* (Barbosa et al. 2009b), fica claro que a estrutura cortical deveria ser efetivamente utilizada na delimitação genérica em *Parmeliaceae*, e que mesmo a sinonimização feita de *Rimelia* e *Canomaculina* com *Parmotrema* talvez devesse ser cuidadosamente reconsiderada.

Entretanto, apesar da semelhança cortical básica, diferenças claras puderam ser observadas entre as cinco espécies aqui estudadas. Em *P. mordenii* e *P. spinibarbe* as células corticais são arredondadas e mais compactadas em relação às outras três espécies estudadas, assemelhando-se mais ao córtex superior de *Parmotrema* com rizinas dimórficas (Figs. 5A, 5B, 6A, 6B). Nessas duas espécies também notou-se a mesma coloração diferencial na primeira camada de células do córtex superior relatada por Barbosa e Marcelli (2009 artigo 2) para o grupo de espécies com rizinas dimórficas. Além disso, o epicórtex em *P. spinibarbe* é bem aderido ao córtex superior (Figs. 6A, 6B) e existem grandes lacunas formando um aeroplectênquima abaixo do córtex superior, características também encontradas nas espécies de *Parmotrema* com rizinas dimórficas por Barbosa e Marcelli (2009 artigo 2). Elix (1997) já havia considerado que *P. spinibarbe* deveria ser tratada como *Canomaculina spinibarbe*; no entanto, Spielmann (2005) e Benatti (2005) não concordaram com a mudança genérica. Este estudo não permitiu a visualização do dimorfismo das rizinas, sendo necessários estudos mais aprofundados para decisão quanto a um melhor posicionamento dessa espécie.

O espécime identificado como *P. spinibarbe* apresenta pústulas que se desmancham em sorédios granulares que às vezes podem se agrupar em massas isidióides irregulares (Figs. 6C, 6D, 6E). Anatomicamente, difere de *P. eitenii* pela não formação inicial de isídios, concordando com o observado por Spielmann (2005).

Já *Parmotrema mordenii* faz parte de um grupo característico de espécies eciliadas que produzem apenas ácidos graxos em sua medula, podendo representar um subgrupo natural dentro do gênero ou mesmo um gênero distinto. Trata-se de uma espécie saxícola que produz sorais típicos formados nos ápices de pequenas lacínulas; os sorédios são granulares com restos de células corticais e não existem estruturas pustulares nem isidióides, e podem existir depósitos de cristais nas hifas da medula que formam os sorais (Figs. 5D, 5E).

P. dilatatum também é uma espécie com sorais típicos, mas esses são laminais, sem incrustações de cristais e os sorédios não são recobertos por células corticais (Figs. 1D, 1E, 1F), além disso *P. dilatatum* é uma espécie corticícola com química medular distinta de *P. mordenii* (Spielmann 2005, Benatti 2005).

Todas as espécies estudadas possuem rizinas corticadas, característica encontrada também no grupo de *Parmotrema* com máculas reticulares (Barbosa e Marcelli 2009 artigo 2) e nas rizinas mais grossas do grupo de *Parmotrema* com rizinas dimórficas (Barbosa e Marcelli 2009 artigo 3).

As maiores diferenças encontradas relacionam-se ao tipo de propágulo vegetativo encontrado e sua ontogenia, características normalmente utilizadas para separar espécies e que colocam dúvidas na delimitação daquelas amplas e confusas como o caso de *P. eitenii* e *P. tinctorum*.

A literatura menciona variações aceitas para os propágulos vegetativos de *P. tinctorum*, que vão desde isídios cilíndricos até sorédios grosseiros (Hale 1965, Swinscow and Krog 1988, Fleig 1997, Ribeiro 1998, Brodo et al. 2001, Eliasaro 2001, Donha 2005, Benatti 2005). Existem suspeitas que dentro dessa circunscrição de *P. tinctorum* existam táxons diferentes, que crescem lado a lado tanto nas árvores do cerrado quanto em ambientes de restinga, e é possível que a variação anatômica aqui encontrada e que obrigou a descrição separada dos espécimes corrobore esta idéia.

Benatti (2005) separou os espécimes de *P. tinctorum* por ele encontrado no litoral centro-sul do estado de São Paulo em dois grupos, um grupo incluindo os espécimes com isídios laminais cilíndricos de ápices escurecidos, não ornamentados e restritos às áreas centrais do talo (*P. tinctorum* s. str.) e o outro grupo cujos espécimes produzem diretamente sorais marginais ou em ápices de dobras. Neste segundo grupo, que acabou levando à

proposição da nova espécie *P. eitenii*, os sorais acabam crescendo por todo o talo, coalescendo com frequência, e os sorédios podem se tornar corticados, mas nunca se originando dos isídios. Segundo Benatti (2005), embora algumas aglomerações corticadas destes sorédios possam em parte ascender como pequenas estruturas que lembram o formato de isídios ou pústulas de aspecto irregular, pode-se notar que não se tratam de verdadeiros isídios cilíndricos de base constrita como aqueles observados nos espécimes de *P. tinctorum*. No entanto, o estudo anatômico de *P. eitenii* mostrou que na verdade existe uma formação isidial inicial, que se desestrutura em sorédios muito cedo, o que levou seus autores a considerar a produção direta de sorédios. Na verdade, os três espécimes de *P. eitenii* estudados (todos parátipos) possuem estruturas de reprodução direta muito distintas, o que indica tratar-se possivelmente de espécies distintas. O espécime 14354 é o mais próximo à descrição de *P. eitenii* e os sorais possuem grandes espaços internos lembrando uma estrutura pustular (Figs. 3B, 3D, 3E), como observado por Marcelli e Benatti na descrição da espécie (Marcelli et al. 2007); o espécime 27196 produz sorais típicos não apresentando nenhuma formação pustular (Fig. 4C), com poucos vestígios de córtex nos sorais, levando a hipótese de ser uma espécie nova distinta; e o espécime 1729 possui isídios verdadeiros com ápice erodido e se desmanchando em sorédios (Figs. 2D, 2E), sendo mais parecido com *P. tinctorum*.

No entanto os espécimes estudados de *P. tinctorum* também são bastante distintos, levando de novo à hipótese de serem espécies distintas. O espécime 585 possui estruturas de reprodução direta bem diversificadas apresentando lado a lado sorais e estruturas ascendentes que se parecem com isídios verdadeiros com ápice erodido se desmanchando em sorédios (Figs. 7C, 7D, 7E, 7F), essas estruturas parecem estar sempre associadas a regiões do talo cujo córtex superior também é erodido; além disso o talo é mais delgado, as células do córtex superior são menores e a espessura do epicórtex é menor quando comparadas com o outro espécime estudado (1042), que é caracterizado pela presença de isídios verdadeiros com ápice ramificado, mas nunca erodido (Figs. 8B, 8D).

Assim, a análise da morfologia e ontogenia das estruturas de reprodução direta mostraram-se bastante eficazes no reconhecimento de subgrupos existentes em *P. tinctorum* e *P. eitenii*.

Agradecimentos - Ao CAPES pela concessão da bolsa de doutorado a S. B. Barbosa e ao CNPq por bolsa de pesquisa a M. P. Marcelli.

Referências

- Barbosa, S.B. 2004. Estudos anatômicos em quatro espécies de *Parmeliaceae* (Ascomycota liquenizados). Dissertação de mestrado em Ciências Biológicas (Botânica). Universidade Estadual de São Paulo – UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil. (disponível em: <http://www.4shared.com/dir/4830094/950e897d/sharing.html>)
- Barbosa, S.B. 2009. Aplicabilidade taxonômica de variações anatômicas em fungos liquenizados. Tese de doutorado em Ciências Biológicas (Botânica). UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil.
- Barbosa, S.B. and Marcelli, M.P. 2009 (artigo 1). Morfoanatomia comparada do talo de espécies de *Punctelia* (*Parmeliaceae*: Ascomycota liquenizados) e sua aplicação taxonômica. In: Barbosa, S.B. Aplicabilidade taxonômica de variações anatômicas em fungos liquenizados. Tese de doutorado em Ciências Biológicas (Botânica). UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil.
- Barbosa, S.B. and Marcelli, M.P. 2009 (artigo 2) Morfoanatomia comparada do talo de espécies de *Parmotrema* (*Parmeliaceae*, Ascomycota liquenizados) com máculas reticulares. In: Barbosa, S.B. Aplicabilidade taxonômica de variações anatômicas em fungos liquenizados. Tese de doutorado em Ciências Biológicas (Botânica). UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil.
- Barbosa, S.B. and Marcelli, M.P. 2009 (artigo 3). Morfoanatomia comparada do talo de três espécies de *Parmotrema* com rizinas dimórficas (*Parmeliaceae*, Ascomycota liquenizados). In: Barbosa, S.B. Aplicabilidade taxonômica de variações anatômicas em fungos liquenizados. Tese de doutorado em Ciências Biológicas (Botânica). UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil.
- Barbosa, S.B., Marcelli, M.P. and Machado, S.R. 2009a. Evaluation of different protocols for anatomical studies in *Parmeliaceae* (lichenized Ascomycota). *Micron* **40**: 218-225.
- Barbosa, S.B., Machado, S.R. and Marcelli, M.P. 2009b. Thallus structure and isidium development in two *Parmeliaceae* species (lichenized Ascomycota). *Micron* (*in press*) 10.1016/j.micron.2009.04.004
- Barbosa, S.B., Machado, S.R. and Marcelli, M.P. Thallus anatomy of *Canoparmelia texana* (*Parmeliaceae*, lichenized Ascomycota) with emphasis on lacunar upper cortex. *in prep.*
- Benatti, M.N. 2005. Os gêneros *Canomaculina*, *Parmotrema* e *Rimelia* (*Parmeliaceae*,

- Ascomycetes) no litoral centro-sul do Estado de São Paulo. Dissertação (mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente). Instituto de Botânica, SP.
- Blanco, O., Crespo, A., Divakar, P.K., Elix, J.A. and Lumbsch, H.T. 2005. Molecular phylogeny of parmotremaid lichens (Ascomycota, Parmeliaceae). *Mycologia* **97**: 150-159.
- Brodo, I.M., Sharnoff, S.D. and Sharnoff, S. 2001. *Lichens of North América*. Yale University Press, New Haven & London. 795p.
- Crespo, A., Blanco, O. and Hawksworth, D.L. 2001. The potencial of mitochondrial DNA for establishing phylogeny and stabilising generic concepts in the parmelioid lichens. *Taxon* **50**: 807-819.
- Crespo, A. and Cubero, O.F. 1998. A molecular approach to the circumscription and evaluation of some genera segretgated from *Parmelia* s. lat. *The Lichenologist* **30**: 369-380.
- Crespo, A., Gavilán, R., Elix, J.A. and Gutiérrez, G. 1999. A comparison of morphological, chemical and molecular characters in some parmelioid genera. *The Lichenologist* **31**: 451-460.
- Donha, C.G. 2005. Os gêneros *Canomaculina*, *Parmotrema* e *Rimelia* (Ascomycota liquenizados, *Parmeliaceae*) na área de proteção ambiental de Guaraqueçaba – Paraná – Brasil. Dissertação (mestrado). Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 118p.
- Eliasaro, S. 2001. Estudio taxonómico y florístico sobre las *Parmeliaceae sensu stricto* (Ascomycota Liquenizados) del Segundo Planalto del Estado de Paraná, Brasil. Buenos Aires. Tesis de Doctor (en Ciencias Biológicas). Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. 267 p.
- Elix, J.A. 1997. The lichen genera *Canomaculina* and *Rimeliella* (Ascomycotina: *Parmeliaceae*). *Mycotaxon* **65**: 465-479.
- Fleig, M. 1997. Os gêneros *Parmotrema*, *Rimelia* e *Rimeliella* (Lichenes-Ascomycotina, *Parmeliaceae*) no Rio Grande do Sul, Brasil. Tese de Doutorado. IBB – USP. São Paulo.
- Hale, B.W. and DePriest, P.T. 1999. Mason E. Hale's list of epithets in the parmelioid genera. *Bryologist* **102**(3): 462-544.
- Hale, M.E. 1965. A monograph of *Parmelia* subgenus *Amphigymnia*. Contribution from the United States National Herbarium **36**: 193-358.
- Hale, M.E. 1974. New combinations in the lichen genus *Parmotrema* Massalongo. *Phytologia* **28**: 334-339.
- Hawksworth, D.L., Kirk, P.M., Sutton, B.C. and Pegler, D.N. 1995. *Dictionary of the Fungi*. 8th Edn. International Mycological Institute, CAB International.

- Honegger, R. 1993. Developmental biology of lichens. *New Phytol.* **125**: 659-677.
- Honegger, R. 2008. Morphogenesis. In: Nash III TH (ed) *Lichen biology*. Cambridge University Press. pp. 69-93.
- Jahns, H.M. 1973. Anatomy, morphology and development. In: *The Lichens. Edited by V. Ahmadjian and M.E. Hale*. New York: Academic Press.
- Louwhoff, S.H.J.J. and Crisp, M.D. 2000. Phylogenetic analysis of *Parmotrema* (Parmeliaceae: Lichenized Ascomycotina). *The Bryologist* **103**: 541-554.
- Marcelli, M.P. 2004. Checklist of lichens and lichenicolous fungi of Brazil. Versão 1: junho 2004. http://www.biologie.uni-hamburg.de/checklists/brazil_l.htm.
- Marcelli, M.P., Jungbluth, P., Benatti, M.N., Spielmann, A.A., Canêz, L.S., Cunha, I.P.R. and Martins, M.F.N. 2007. Some new species and combinations of Brazilian Lichenized fungi. In: *Lichenologische Nebenstunden – Contr. to lichen taxonomy and ecology in honour of Klaus Kalb. Edited by A. Frisch, U. Lange and B. Staiger*. Bibliotheca Lichenologica **96**:209-227.
- Marcelli, M.P. and Benatti, M.N. 2008. Espécies de *Parmotrema* (Parmeliaceae, Ascomycetes liquenizados) com rizinas dimórficas do litoral centro-sul do Estado de São Paulo. *Hoehnea* **35**: 7-19
- Nash, T.H. and Elix, J.A. 2002. *Parmotrema*. In: Nash III, T.H., Ryan, B.D., Gries, C. & Bungartz, F. (eds.). *Lichen Flora of the greater Sonoran Desert Region. Volume 1. Lichens Unlimited*, Arizona State University, Tempe, Arizona, USA. p. 318-329.
- O'Brien, T.P., Feder, N. and McCully, M.E. 1965. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* **63**, 443-478.
- Ribeiro, C.H. 1998. A família *Parmeliaceae* (Ascomycota liquenizados) em regiões montanhosas dos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo. Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.
- Spielmann, A.A. 2005. A família *Parmeliaceae* (fungos liquenizados) nos barrancos e peraus da encosta da Serra Geral, Vale do Rio Pardo, Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação de mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente). Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo, SP, Brasil.
- Swinscow, T.D.V. and Krog, H. 1988. *Macrolichens of East Africa*. British Museum (Natural History), London. 390p.

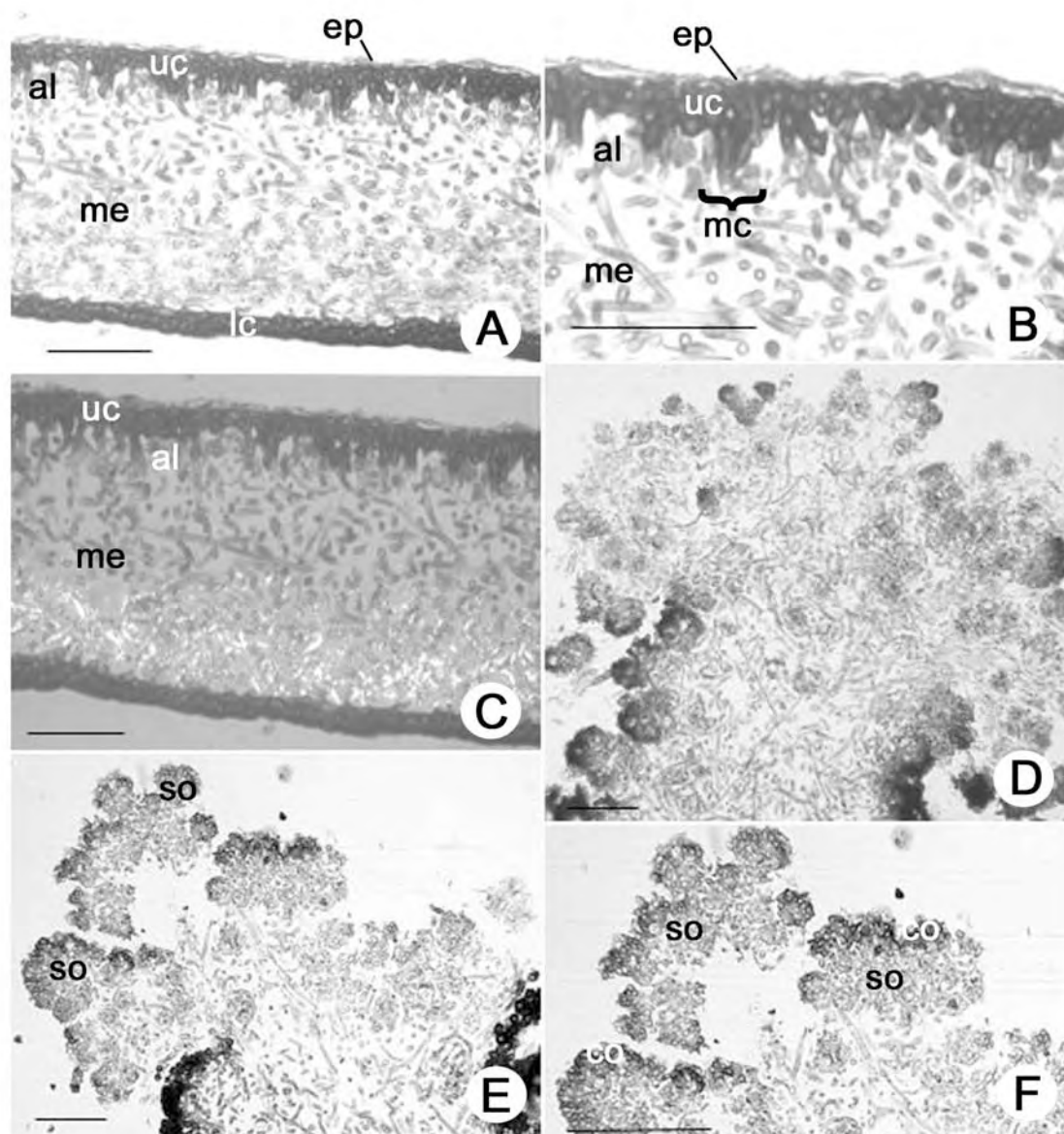


Figura 1. Anatomia do talo de *Parmotrema dilatatum*. A. Secção transversal mostrando epicórtex (ep), córtex superior (uc), camada de algas (al), medula (me) e córtex inferior (lc). B. Detalhe da região superior do talo mostrando epicórtex (ep), córtex superior (uc), mácula (mc), camada de alga (al) e parte da medula (me). C. Secção transversal visualizada com auxílio de polarizador mostrando presença de cristais na medula (me). D. Detalhe mostrando soral. E – F. Detalhe de soral mostrando massas de sorédios (so) recobertos parcialmente com camada cortical (co). Barras=50µm.

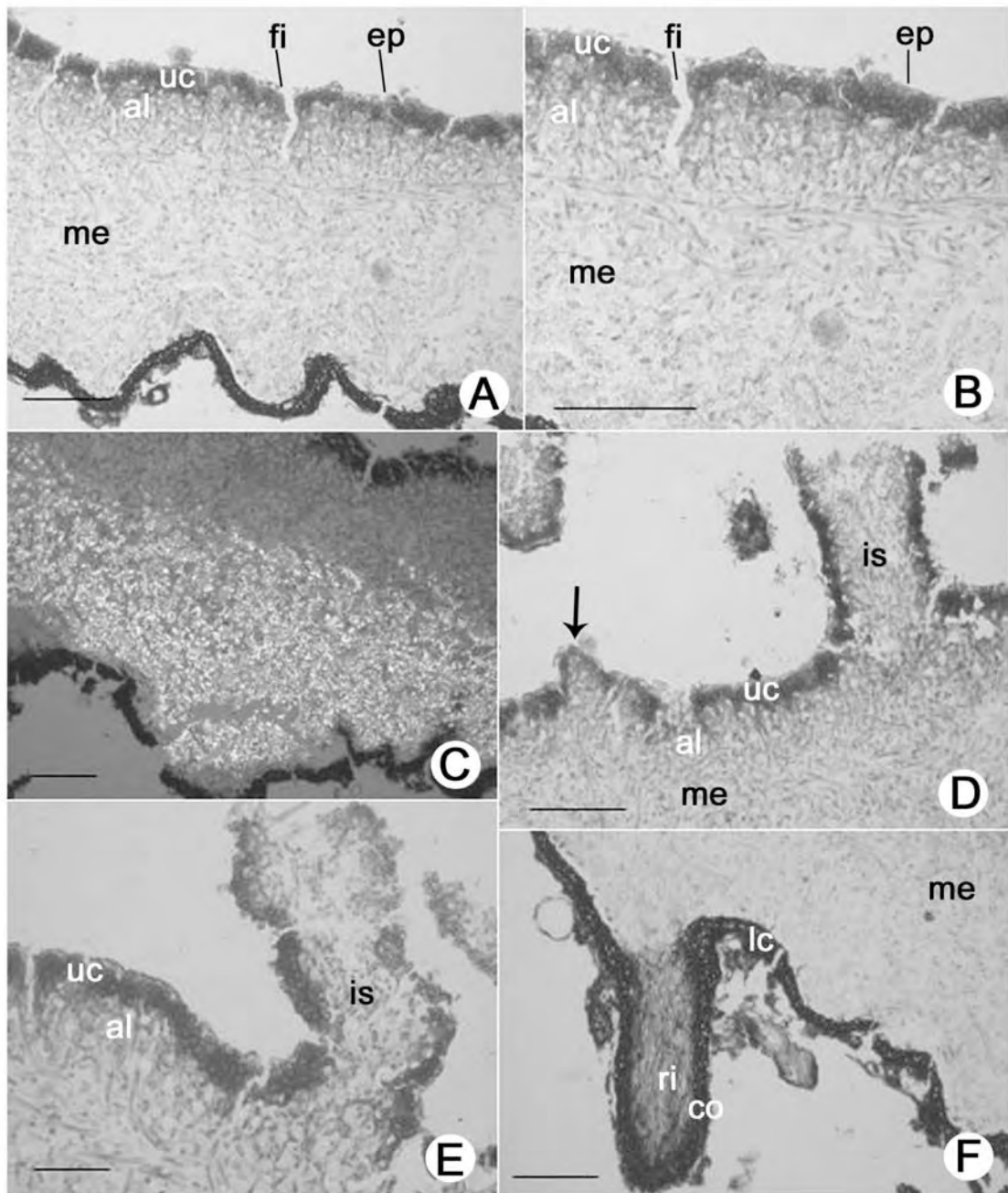


Figura 2. Anatomia do talo de *Parmotrema eitenii* (1729). A. Secção transversal mostrando epicórtex (ep) e córtex superior (uc), medula (me) e córtex inferior (lc). B. Detalhe do córtex superior (uc) mostrando fissura (fi), camada de alga (al) e medula (me). C. Secção transversal visualizada com auxílio de polarizador mostrando cristais na medula. D. Detalhe mostrando isídio em estágio inicial de formação (seta) e isídio (is) formado com ápice erodido. E. Detalhe mostrando isídio (is), córtex superior (uc) e camada de alga (al). F. Detalhe mostrando córtex inferior (lc) e rizina (ri) corticada (co). Barras: 50 µm.

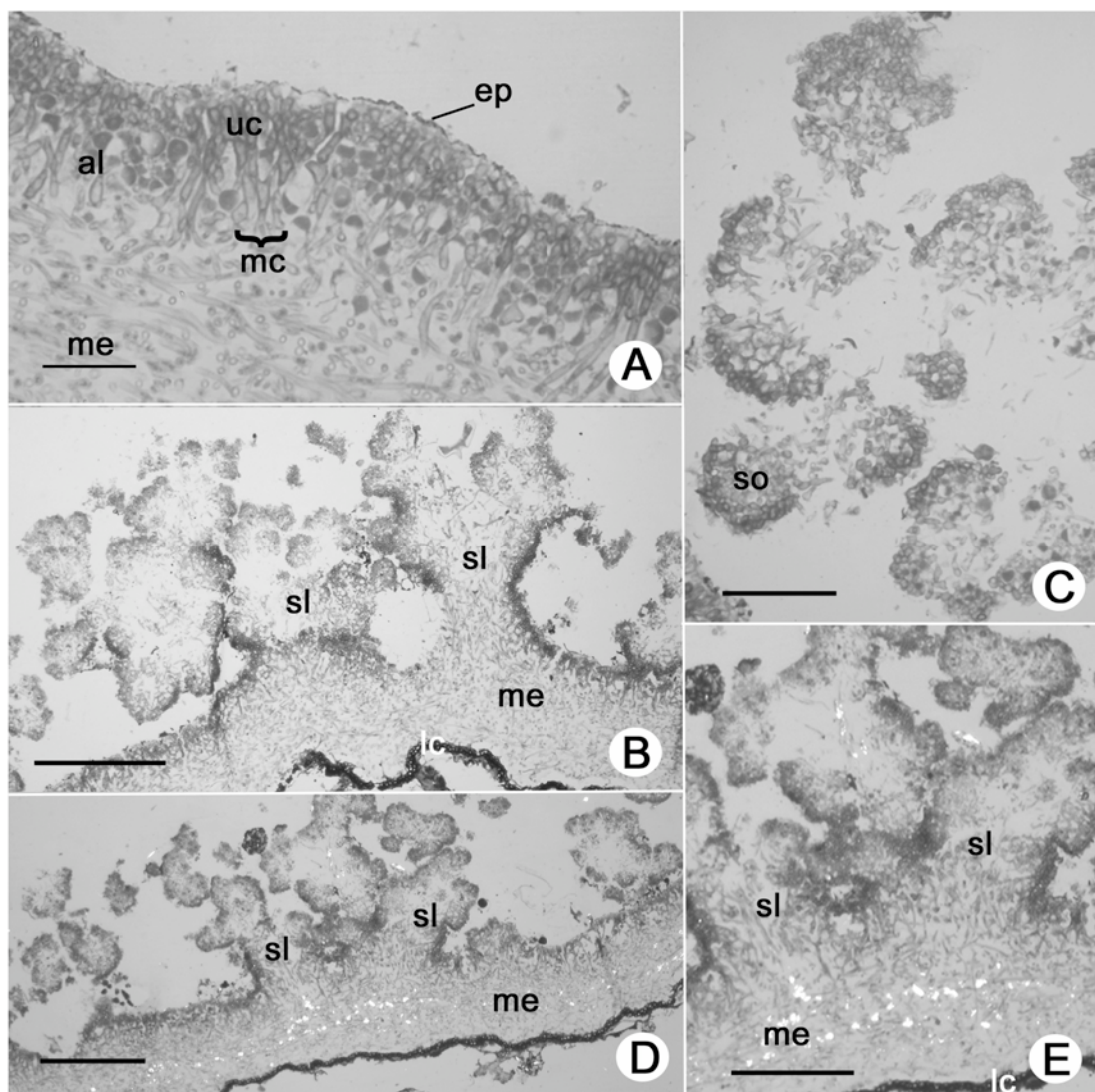


Figura 3. Anatomia do talo de *Parmotrema eitenii* 14354. A. Detalhe da região superior do talo, mostrando epicórtex (ep), córtex superior (uc), mácula (mc), camada de algas (al) e medula (me). B. Secção transversal mostrando sorais (sl) aglutinados em grandes formações pustulares e corticadas, medula (me) e córtex inferior (lc). C. Detalhe mostrando sorédios (so) recobertos por células corticais. D - E. Secção transversal visualizada com auxílio de polarizador mostrando poucos cristais presentes na região mediana da medula (me) e sorais (sl). Barras= 50 μ m (A, B, C, E), 100 μ m (D).

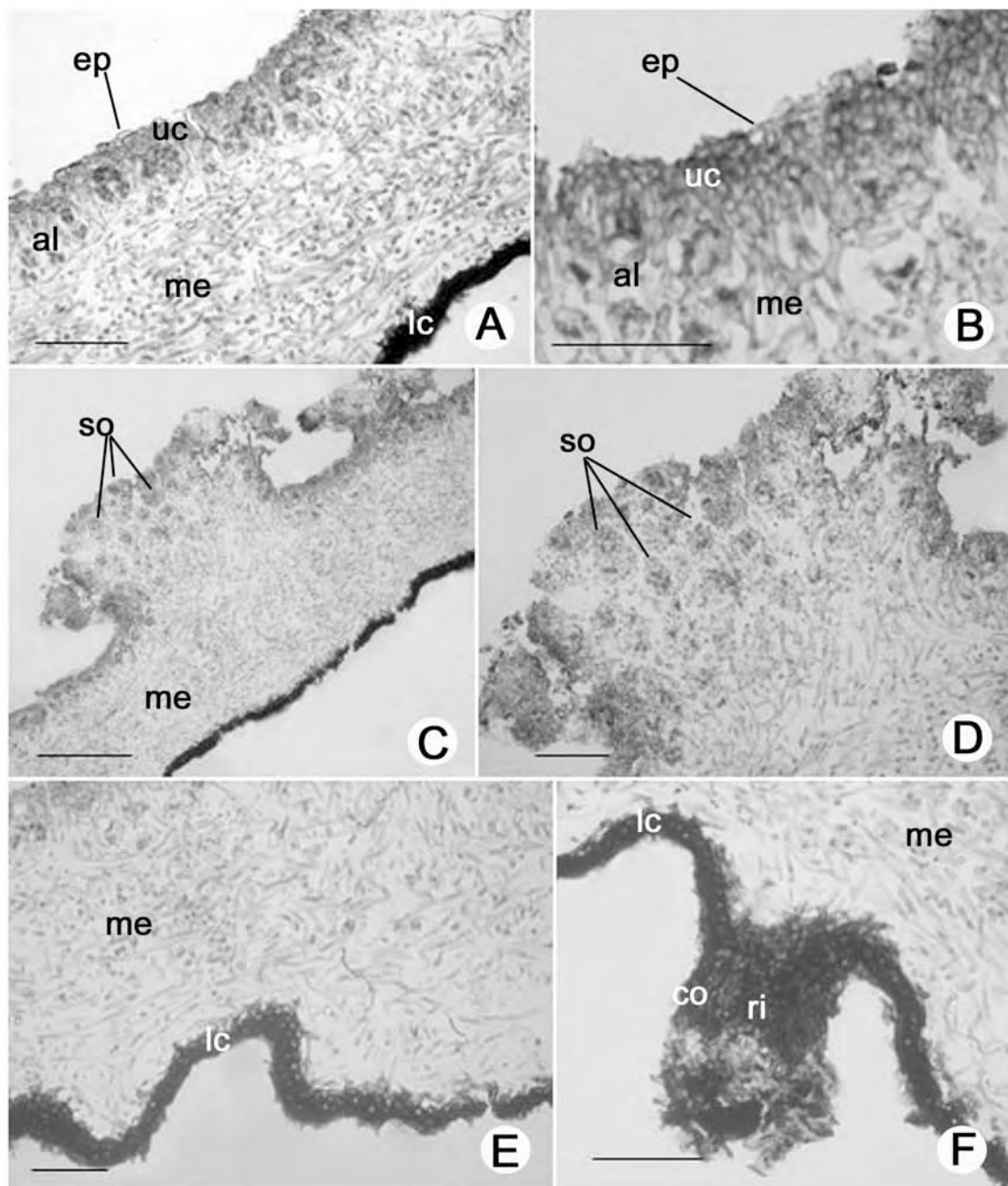


Figura 4. Anatomia do talo de *Parmotrema eitenii* (27196). A. Secção transversal mostrando epicórtex (ep), córtex superior (uc), camada de alga (al), medula (me) e córtex inferior (lc). B. Detalhe da região superior do talo mostrando epicórtex (ep), córtex superior (uc), camada de alga (al) e parte da medula (me). C. Secção transversal mostrando soral sem formação pustular e sorédios (so). D. Detalhe de soral mostrando sorédios (so). E. Detalhe da região inferior do talo mostrando medula (me) e córtex inferior (lc). F. Detalhe de rizina (ri) recoberta por córtex (co). Barras= 100 μ m (C), 50 μ m (A, B, D, E, F).

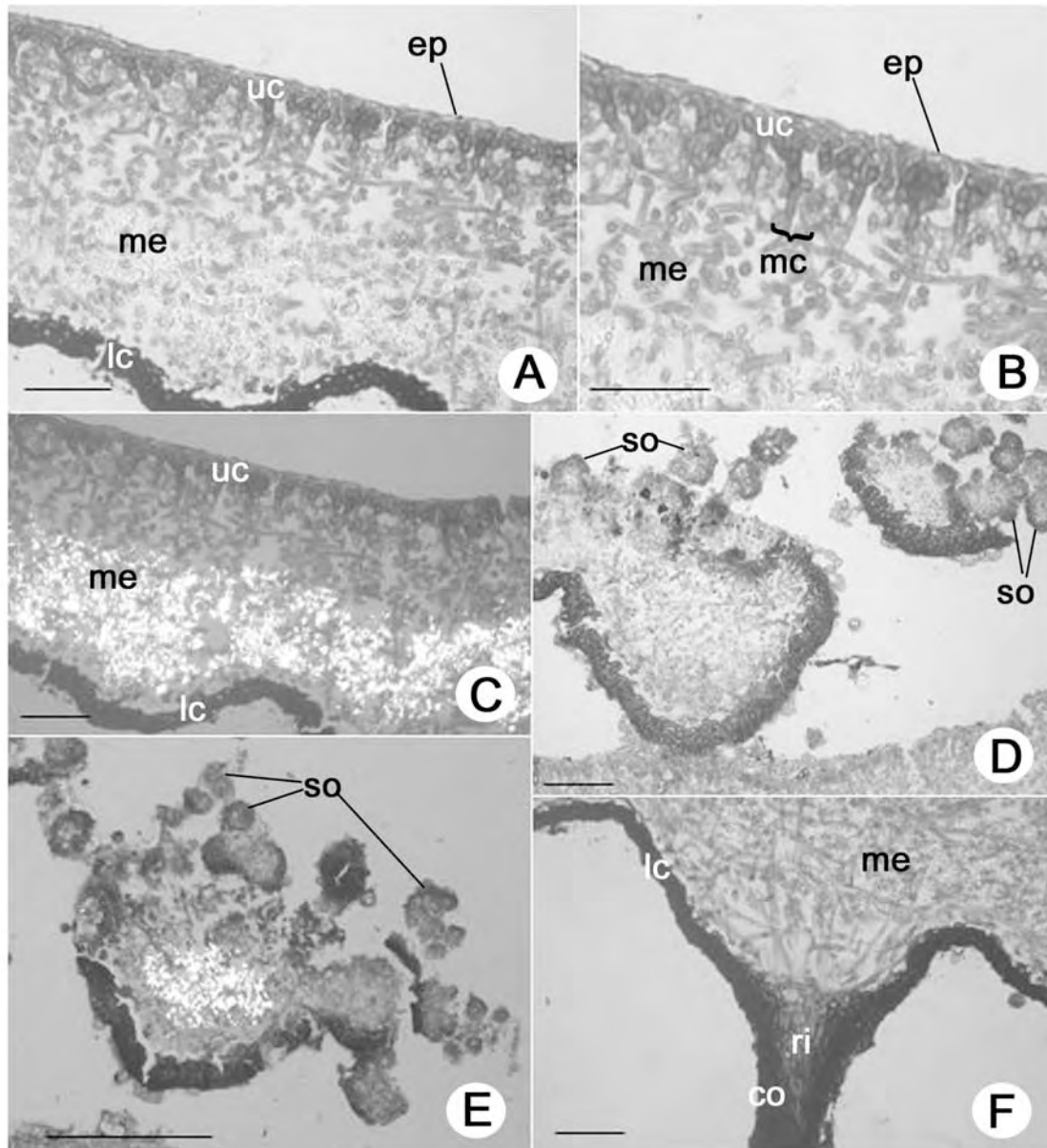


Figura 5. Anatomia do talo de *Parmotrema mordenii*. A. Corte transversal mostrando epicórtex (ep), córtex superior (uc), medula (me) e córtex inferior (lc). B Detalhe da região superior do talo mostrando epicórtex (ep), Córtex superior (uc), mácula (mc) e medula (me). C. Secção transversal visualizada com auxílio de polarizador mostrando cristais recobrindo as hifas medulares. D. Detalhe de sorédios (so) e sorais formados no ápice de pequenas lacínulas marginais. E. Detalhe de sorédios (so) e sorais visualizados com auxílio de polarizador mostrando a presença de cristais. F. Detalhe da região inferior do talo mostrando córtex inferior (lc) e rizina (ri) corticada (co). Barras=50µm.

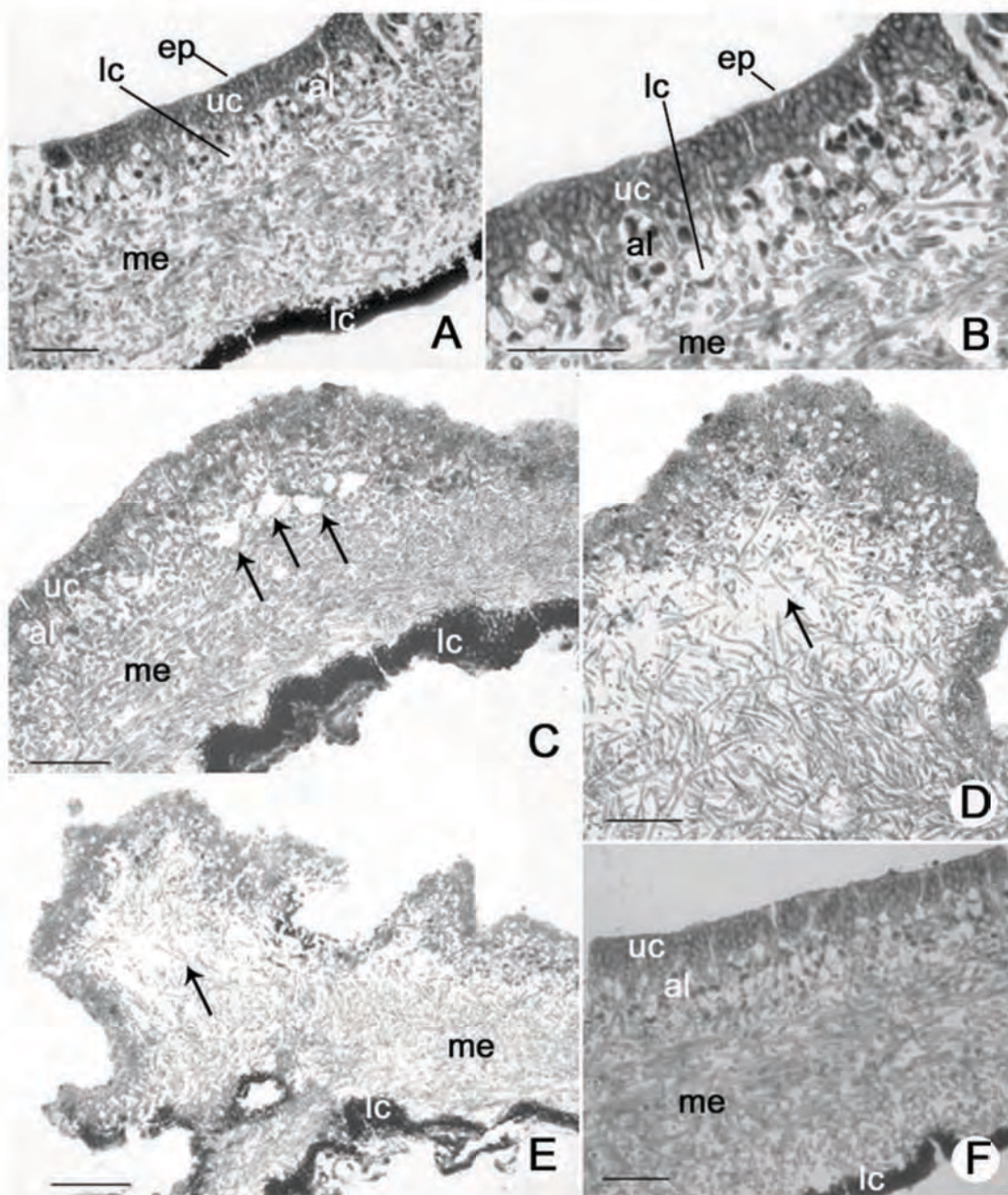


Figura 6. Anatomia do talo de *Parmotrema spinibarbe*. A. Secção transversal mostrando epicórtex (ep) aderido ao córtex superior, córtex superior (uc), camada de alga (al), lacunas (lc), medula (me) e córtex inferior (lc). B. Detalhe mostrando epicórtex (ep) aderido ao córtex superior, córtex superior (uc), lacunas (lc) e parte da medula (me). C, D, E. Detalhe de sorais mostrando a presença de grandes espaços internos (setas) responsáveis pela aparência pustular. F. Secção transversal visualizada com auxílio de luz polarizada mostrando a ausência de cristais. Barras= 50 µm.

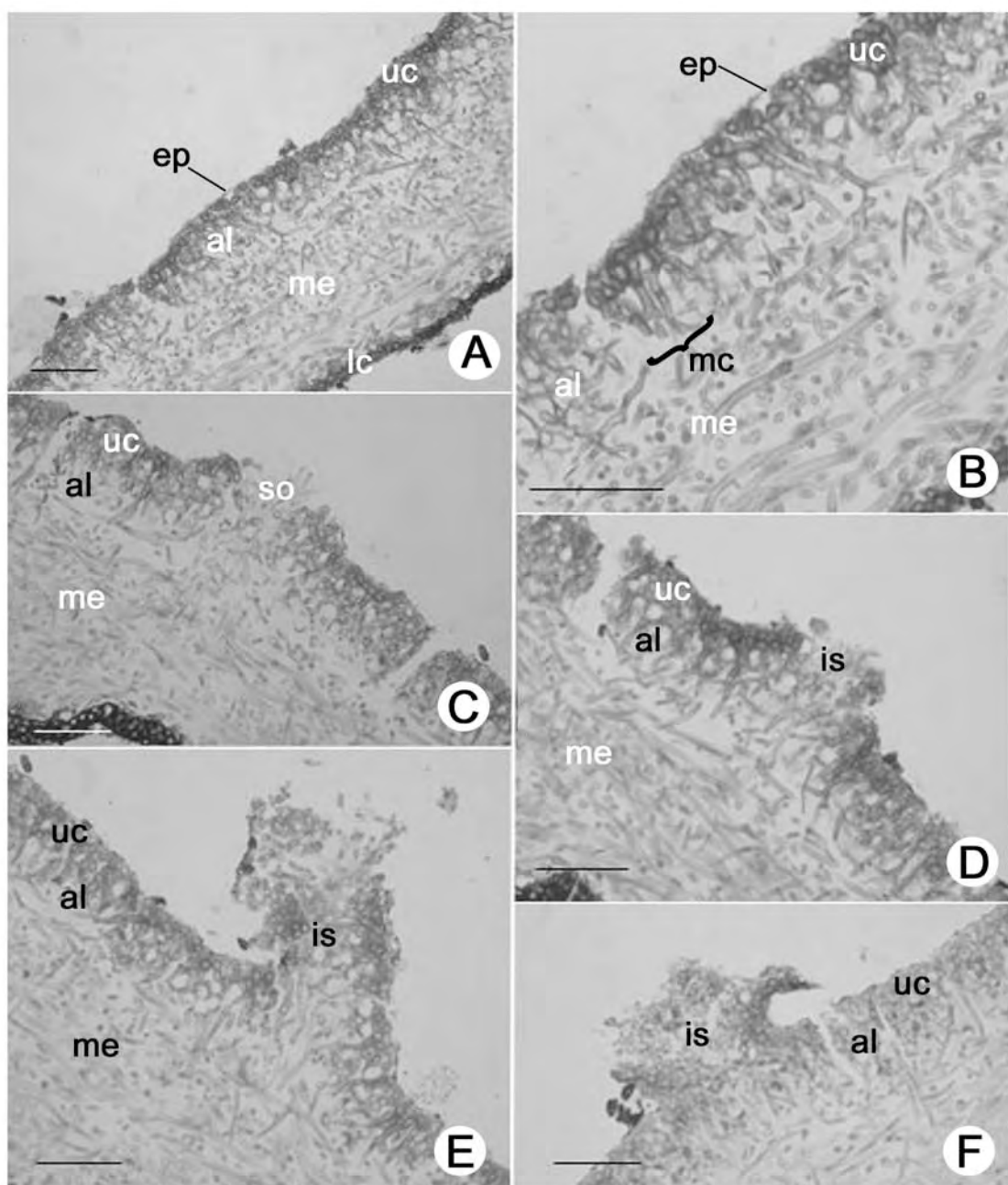


Figura 7. Anatomia do talo de *Parmotrema tinctorum* (585). A. Corte transversal mostrando epicórtex (ep), córtex superior (uc), medula (me) e córtex inferior (lc). B. Detalhe da região superior do talo mostrando epicórtex (ep), córtex superior (uc), mácula (mc) e medula (me). C. Detalhe mostrando soral (so). D. - E. - F. Detalhe de isídio com ápice erodido e se desmanchando em sorédios. Barras=50µm.

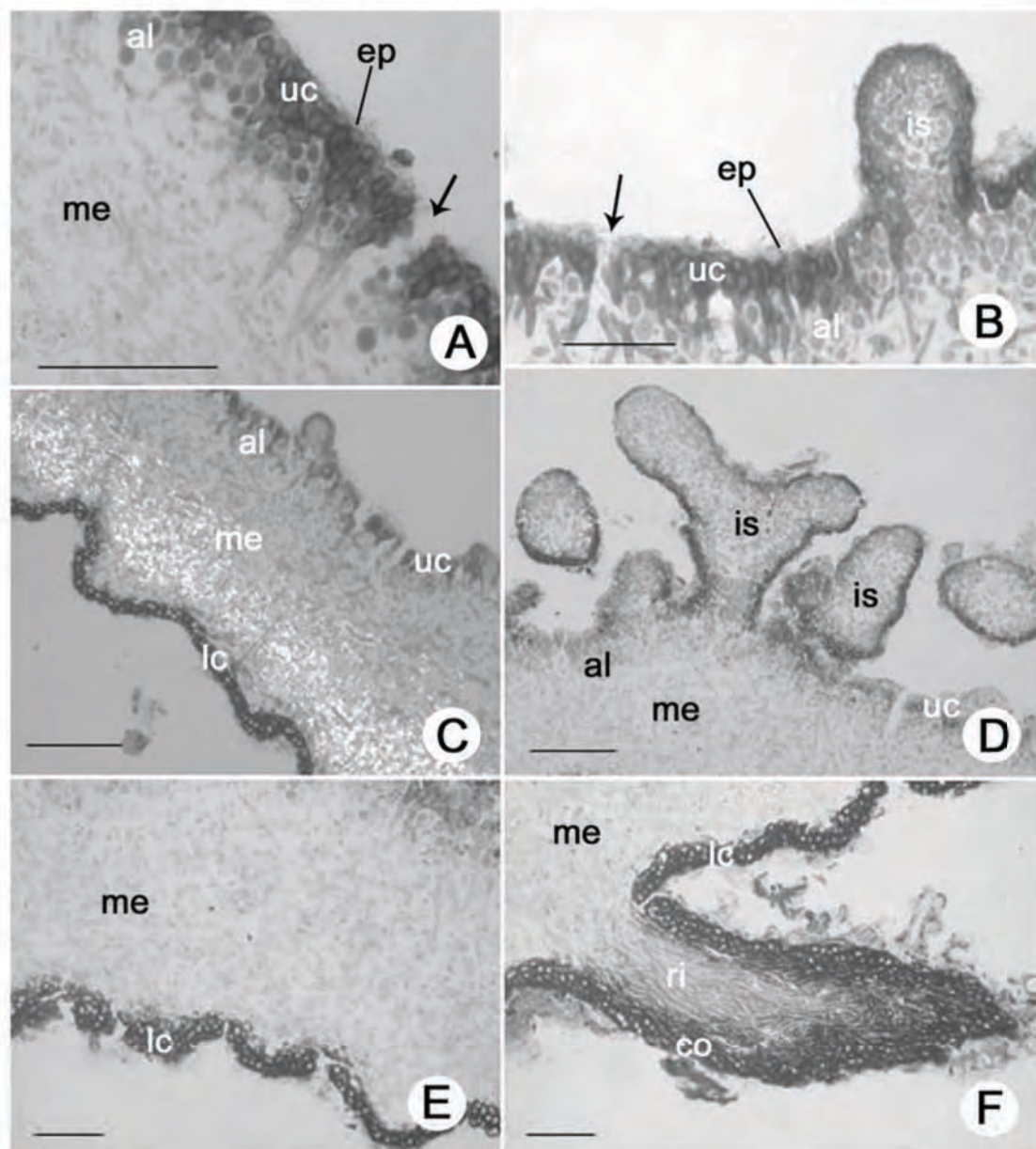


Figura 8. Anatomia do talo de *Parmotrema tinctorum* (1042). A. Secção transversal mostrando epicórtex (ep), córtex superior (uc), fissura (seta) no local de formação de mácula, camada de alga (al) e medula (me). B. Detalhe mostrando isídio (is), epicórtex (ep), córtex superior (uc), fissura (seta) no local de formação de mácula e camada de alga (al). C. Secção transversal visualizada com auxílio de polarizador mostrando cristais recobrindo as hifas medulares. D. Detalhe mostrando isídios (is). E. Detalhe da região inferior do talo mostrando medula (me) e córtex inferior (lc). F. Detalhe de rizina (ri) mostrando a presença de córtex (co) recobrindo toda a sua extensão. Barras=50μm.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Parmeliaceae inclui um grande número de espécies e os conceitos genéricos e específicos nesta família estão em constante modificação. Algumas espécies de gêneros amplos como os estudados aqui se mostraram como provavelmente apenas conceituais, incluindo táxons possivelmente coletivos, como o caso de *Parmotrema tinctorum*, *Parmotrema eitenii* e *Punctelia graminicola*: os táxons que devem estar incluídos nessas espécies apresentam ligeiras diferenças morfológicas e os estudos anatômicos mostraram-se bastante eficazes no seu reconhecimento, principalmente através da análise da morfologia e ontogenia de estruturas de reprodução direta.

A amostragem inicialmente foi considerada boa para os estudos propostos de diferenciação e caracterização de gêneros, no entanto o desenvolvimento desse trabalho aconteceu concomitantemente com estudos taxonômicos realizados pelo Grupo de Estudos Liquenológicos do Instituto de Botânica, e alguns dos espécimes utilizados neste estudo foram descritos como espécies inéditas, como *Punctelia imbricata*, *Punctelia roseola*, *Parmotrema* sp. (espécie inédita, tratada como *Canomaculina isousnica* em Canêz 2005) e *Parmotrema* sp. (espécie inédita, tratada como *Rimelia divaricatica* em Spielmann 2005) afetando diretamente os estudos propostos aqui. Assim a amostragem se mostrou insuficiente para a caracterização segura das espécies quando se descobriu, ao longo das análises, essas diferenças específicas. Por outro lado, foi essa mesma ocorrência que demonstrou quão efetiva a anatomia pode ser como auxiliar na interpretação e separação de táxons com delimitações confusas como *Punctelia graminicola* e *Parmotrema tinctorum*. As diferenças encontradas não são variações ambientais, já que os espécimes são encontrados crescendo lado a lado no campo.

Embora a amostragem para a anatomia tenha se tornado pequena, por causa das diferenciações específicas, o trabalho corrobora os estudos taxonômicos realizados pelo Grupo de Estudos Liquenológicos (GEL).

É importante ressaltar que os estudos anatômicos são essenciais para a atualização dos conhecimentos em liquenologia, podendo auxiliar na compreensão de processos como trocas gasosas e relocação de compostos secundários. Além disso, este estudo contribuiu para o entendimento da ontogenia de estruturas como pseudocifelas, e diferenciação e delimitação de estruturas como lóbulos, isídios e sorais. O estudo dessas estruturas em espécies crípticas apenas em lupa pode levar a conclusões errôneas acerca de sua natureza, o que faz com que o taxonomista inclua diferentes táxons em uma única espécie.

Além disso, estudos filogenéticos e moleculares recentes propuseram a união de três grandes gêneros da família, e o estudo anatômico desses grupos de espécies permitiu concluir

que as características anatômicas do córtex superior, do córtex inferior e das rizinas são constantes para os grupos estudados e possuem valor taxonômico para esses subgrupos da família *Parmeliaceae*. O nível de diferença encontrado na anatomia desses gêneros é de grau igual ou maior que aquele encontrado entre outras unidades genéricas como *Canoparmelia*, *Parmelinopsis* e *Punctelia*, razão pela qual se propõe que a sinonimização desses gêneros seja cuidadosamente revista e que outras unidades genéricas ainda podem existir dentro de *Parmotrema*, como o grupo representado por *P. mordenii*.

O córtex superior é distinto entre os grupos de espécies estudadas, em *Punctelia* é paraplectenquimático e existe sempre uma primeira camada de células pequenas e arredondadas localizada logo abaixo do epicórtex, o córtex superior de *Parmotrema* s. str. possui células alongadas e hifas bastante compactadas e com finos interstícios entre elas; o córtex das espécies com máculas reticulares é caracterizado pela presença de máculas produzidas pela organização das hifas que dão origem ao córtex superior e que não são tão compactadas, e o córtex do grupo das espécies com rizinas dimórficas possui células menos alongadas, quase arredondadas, sem interstícios ou quebras mas acompanhados por aeroplectênquima, a primeira camada de células apresentando coloração diferencial com azul de toluidina e um epicórtex bem mais aderido em comparação com as espécies dos outros grupos estudadas.

Este estudo indica também que são necessários estudos mais aprofundados em relação à composição química dos polissacarídeos típicos do epicórtex e córtex superior dos grupos estudados, que talvez possam ser utilizadas na circunscrição de gêneros ou ao menos subgêneros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acharius, E. 1803. Methodus qua omnes detectos lichenes. Stockholm. 394 p.
- Acharius, E. 1814. Synopsis Methodica Lichenum. Svanborg et Soc. Lundae.
- Acharius, E. 1810. Lichenographia universalis. J.F. Dankwerts. Gottingae.
- Adler, M. 1990. An artificial key to the genera of the *Parmeliaceae* (Lichenes, *Ascomycotina*). Mycotaxon **38**: 331-347.
- Anglesea, D., Velthkamp, C. and Greenhalgh, G.N. 1982. The upper cortex of *Parmelia saxatilis* and other lichen thalli. Lichenologist **14**: 29-38.
- Appezato-da-Glória, B. and Carmello-Guerreiro, S.M. 2003. Anatomia vegetal. Editoras – Viçosa: UFV.
- Barbosa, S.B. 2004. Estudos anatômicos em quatro espécies de *Parmeliaceae* (Ascomycota liquenizados). Dissertação de mestrado em Ciências Biológicas (Botânica). Universidade Estadual Paulista – UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil. (disponível em: <http://www.4shared.com/dir/4830094/950e897d/sharing.html>)
- Barbosa, S.B. 2005. O problema da descrição da anatomia do talo em *Parmeliaceae*. In: Programas e Resumos do VII Encontro do Grupo Latino Americano de Liqueólogos. UFP, Curitiba, PR. pp. 66-71.
- Beltman, H.A. 1978. Vegetative structuren der *Parmeliaceae* und ihre entwicklung. Bibliotheca Lichenologica **2**: 1-193.
- Benatti, M.N. 2005. Os gêneros *Canomaculina*, *Parmotrema* e *Rimelia* (*Parmeliaceae*, *Ascomycetes*) no litoral centro-sul do Estado de São Paulo. Dissertação de mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente. Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo, SP, Brasil.
- Bezerra, P. and Fernandes, A. 1989. Fundamentos de taxonomia vegetal. Fortaleza: Ed. Universidade Federal do Ceará.
- Blanco, O., Crespo, A., Divakar, P.K., Esslinger, T.L., Hawksworth, D.L., Lumbsch and T.H. 2004a. *Melanelixia* and *Melanohalea*, two new genera segregated from *Melanelia* (*Parmeliaceae*) based on molecular and morphological data. Mycological research **108**: 873-884.
- Blanco, O., Crespo, A., Elix, J.A., Hawksworth, D.L. and Lumbsch, H.T. 2004b. A molecular phylogeny and a new classification of parmelioid lichens containing *Xanthoparmelia*-type lichenan (*Ascomycota*: *Lecanorales*). Taxon **55**: 959-975.

- Blanco, O., Crespo, A., Divakar, P.K., Elix, J.A. and Lumbsch, H.T. 2005. Molecular phylogeny of parmotreoid lichens (Ascomycota, *Parmeliaceae*). *Mycologia* **97**: 150-159.
- Bowler, P.A. 1981. Cortical diversity in the Ramalinaceae. *Canadian Journal of Botany* **59**: 425-557.
- Calvelo, S. 1998. Key to genera and species of *Parmeliaceae* s. lat. from Patagonia, Tierra del Fuego and South Atlantic Islands (Argentina). In: *Lichenology in Latin America: history, current knowledge and applications*. Edited by M.P. Marcelli and M.R.D. Seaward. CETESB. São Paulo. pp. 25- 45.
- Canêz, L.S. 2005. A família *Parmeliaceae* na localidade de Fazenda da Estrela, município de Vacaria, Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação de mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente. Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo, SP, Brasil.
- Crespo, A., Arguello, A., Blanco, O., Gasca, C. and Molina, M.C. 2006. Sistemática e valor dos caracteres em líquens. In: *Biologia de Líquens*. Edited by L. Xavier Filho, M.E. Legaz, C.V. Cordoba and E.C. Pereira. Âmbito Cultural Edições Ltda.: Rio de Janeiro. pp. 471-502.
- Crespo, A., Blanco, O. and Hawksworth, D.L. 2001. The potencial of mitochondrial DNA for establishing phylogeny and stabilising generic concepts in the parmelioid lichens. *Taxon* **50**: 807-819.
- Crespo, A. and Cubero, O.F. 1998. A molecular approach to the circumscription and evaluation of some genera segregated from *Parmelia* s. lat. *The Lichenologist* **30**: 369-380.
- Crespo, A., Gavilán, R., Elix, J.A. and Gutiérrez, G. 1999. A comparison of morphological, chemical and molecular characters in some parmelioid genera. *The Lichenologist* **31**: 451-460.
- Crespo, A., Lumbsh, T., Mattsson, J.E., Blanco, O., Divakar, P.K., Articus, K., Wiklund, E., Bawingan, P.A. and Wedin, M. 2007. Testing morphology-based hypotheses of phylogenetic relationships in *Parmeliaceae* (Ascomycota) using three ribosomal markers and nuclear RPB1 gene. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **44**: 812-824.
- Culberson, W.L. and Culberson, C.F. 1981. The genera *Cetrariastrum* and *Concamerella* (*Parmeliaceae*): a chemosystematic synopsis. *Bryologist* **84**: 273-314.
- Cutler, D. F. and Gregory, M. 1998. *Anatomy of the dicotyledons*. 2.ed. Oxford: Clarendon Press.

- Dickison, W.C. 1975. The bases of angiosperm phylogeny: vegetative anatomy. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **62**:590-620.
- Divakar, P. K., Crespo, A., Blanco, O. and Lumbsch, T.H. 2006. Phylogenetic significance of morphological characters in the tropical *Hypotrachyna* clade of parmelioid lichens (*Parmeliaceae*, Ascomycota). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **40**: 448-458.
- Döring, H. and Lumbsch, H.T. 1998. Ascoma ontogeny: is this character set of any use in the systematics of lichenized ascomycetes? *Lichenologist* **30**:489-500.
- Eliasaro, S. 2001. Estudio taxonómico y florístico sobre las *Parmeliaceae sensu stricto* (Ascomycota Liqueñizados) del Segundo Planalto del Estado de Paraná, Brasil. Buenos Aires. Tesis de Doctor (en Ciencias Biológicas). Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. 267 p.
- Elix, J.A. 1993a. Progress in the generic delimitation of *Parmelia sensu lato* lichens (Ascomycotina: *Parmeliaceae*) and a synoptic key to the *Parmeliaceae*. *The Bryologist* **96**: 359-383.
- Elix, J.A. 1993b. New species in the lichen family *Parmeliaceae* (Ascomycotina) from Australia. *Mycotaxon* **47**: 101-129.
- Elix, J.A. 1997. The lichen genera *Canomaculina* and *Rimeliella* (Ascomycotina, *Parmeliaceae*). *Mycotaxon* **65**: 475-479.
- Elix, J.A. 2003. The lichen genus *Paraparmelia*, a synonym of *Xanthoparmelia* (Ascomycota, *Parmeliaceae*). *Mycotaxon* **87**: 395-403.
- Elix, J.A. and Hale, M.E. 1987. *Canomaculina*, *Myelochroa*, *Parmelinella*, *Parmelinopsis* and *Parmotremopsis*, five new genera in the *Parmeliaceae* (Lichenized Ascomycotina). *Mycotaxon* **29**: 233-244.
- Elix, J.A. and Stocker-Wörgötter, E. 2008. Biochemistry and secondary metabolites. In: *Lichen biology* 2nd ed. Edited by T.H. Nash III. Cambridge University Press. pp. 104-133.
- Elix, J.A., Johnston, J. and Verdon, D. 1986. *Canoparmelia*, *Paraparmelia* and *Relicinopsis*, three new genera in the *Parmeliaceae* (lichenized Ascomycotina). *Mycotaxon* **27**: 271-282.
- Eriksson, O. 2002. www.umu.se/myconet.
- Esau, K. 1977. *Anatomy of seed plants*. 2nd Edn. New York: John Wiley and Sonns.
- Fahn, A. 1990. *Plant anatomy*. Pergamon Press Ltd.
- Ferri, M.G. 1978. *Glossário ilustrado de Botânica*. São Paulo: Editora da USP.

- Feuerer, T. 1998. E.A. Vainio's contribution to the knowledge of the *Parmeliaceae*. In: Recollecting Edward August Vainio. Edited by M.P. Marcelli and T. Ahti. CETESB. São Paulo. pp. 47-60.
- Fleig, M. 1997. Os gêneros *Parmotrema*, *Rimelia* e *Rimeliella* (Lichenes-Ascomycotina, *Parmeliaceae*) no Rio Grande do Sul, Brasil. Tese de Doutorado. IBB – USP. São Paulo.
- Font-Quer, P. 1953. Diccionario de Botânica. Barcelona: Editorial Labor.
- Fryns-Claessens, E. and Van Cotthem, W. 1973. A new classification of the ontogenetic types of stomata. *Botanical Review* **39**:71-131.
- Galloway, D.J. 1999. Lichen Glossary. <http://www.anbg.gov.au/glossary/webpubl/lichglos.htm>
- Galloway, D.J. and Elix, J.A. 1983. The lichen genera *Parmelia* Ach. and *Punctelia* Krog, in Australasia. *New Zealand Journal of Botany* **21**: 397-420.
- Green, T.G.A., Snelgar, W.P. and Brown, D.H. 1981. Carbon dioxide exchange in lichens. Carbon dioxide exchange through the cyphellate lower cortex of *Sticta latifrons* Rich. *New Phytologist* **88**: 421-426.
- Guerreiro, R.T. and Silveira, M.B. 1996. Glossário ilustrado de fungos: termos e conceitos aplicados à micologia. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS.
- Hale, B.W. and DePriest, P.T. 1999. Mason E. Hale's list of epithets in the parmelioid genera. *Bryologist* **102**(3): 462-544.
- Hale, M.E. 1965. A monograph of *Parmelia* subgenus *Amphigymnia*. Contribution from the United States National Herbarium **36**: 193-358.
- Hale, M.E. 1972. *Parmelia pustulifera*, a new lichen from southeastern United States. *Brittonia*. **24**: 22-27.
- Hale, M.E. 1973. Fine structure of cortex in the family *Parmeliaceae* viewed with the scanning electron microscope. *Smithsonian Contributions to Botany* **10**:1-92.
- Hale, M.E. 1974a. New combinations in the lichen genus *Parmotrema* Massalongo. *Phytologia* **28**: 334-339.
- Hale, M.E. 1974b. Delimitation of the genus *Hypotrachyna* (Vainio) Hale. *Phytologia* **28**: 340-342.
- Hale, M.E. 1974c. *Bulbothrix*, *Parmelina*, *Relicina* and *Xanthoparmelia*, four new genera in the *Parmeliaceae* (lichens). *Phytologia* **28**: 479-490.
- Hale, M.E. 1974d. New combinations in the lichen genus *Pseudoparmelia* Lynge. *Phytologia* **29**: 188-191.
- Hale, M.E. 1975a. A revision of the lichen genus *Hypotrachyna* (*Parmeliaceae*) in tropical America. *Smithsonian Contributions to Botany* **25**: 1-73.

- Hale, M.E. 1975b. A monograph of the lichen genus *Relicina* (Parmeliaceae). Smithsonian Contributions to Botany **26**: 1-32.
- Hale, M.E. 1976a. Lichen structure viewed with the scanning electron microscope. In: Lichenology: Progress and Problems. Edited by D.H. Brown, D.L. Hawksworth and B.H. Bailey. London: Academic Press. pp. 1-15
- Hale, M.E. 1976b. A monograph of the lichen genus *Parmelina* Hale (Parmeliaceae). Smithsonian Contributions to Botany **33**: 1-60.
- Hale, M.E. 1976c. A monograph of the lichen genus *Bulbothrix* Hale (Parmeliaceae). Smithsonian Contributions to Botany **32**: 1-29.
- Hale, M.E. 1976d. Notes on *Parmelia* subgenus *Everniiformes* with descriptions of six new species. Phytologia **22**: 37-40.
- Hale, M.E. 1976e. A monograph of the lichen genus *Pseudoparmelia* Lynge (Parmeliaceae). Smithsonian Contributions to Botany **31**: 1-62.
- Hale, M.E. 1981. Pseudocyphellae and pored epicortex in the Parmeliaceae: their delimitation and evolutionary significance. Lichenologist **13**: 1-10.
- Hale, M.E. 1983. The Biology of Lichens, third ed. Edward Arnold, Baltimore.
- Hale, M.E. 1984a. *Flavopunctelia*, a new lichen genus in the Parmeliaceae (Ascomycotina). Mycotaxon **20**: 681-682.
- Hale, M.E. 1984b. An historical review of the genera concept in lichenology. Nova Hedwigia **79**: 11-23.
- Hale, M.E. 1985. *Xanthomaculina* Hale, a new lichen genus in the Parmeliaceae (Ascomycotina). Lichenologist **17**: 255-265.
- Hale, M.E. 1986. *Flavoparmelia*, a new genus in the lichen family Parmeliaceae (Ascomycotina). Mycotaxon **25**: 603-605.
- Hale, M.E. 1987. A monograph of the lichen genus *Parmelia* Acharius sensu stricto (Ascomycotina: Parmeliaceae). Smithsonian Contributions to Botany **66**: 1-55.
- Hale, M.E. 1990. New species of *Parmotrema* (Ascomycotina: Parmeliaceae) from Tropical America. Bibliotheca Lichenologica **38**: 109-119.
- Hammer, S. 1993. Development in *Cladonia ochrochlora*. Mycologia **85**:84-92.
- Hannemann, B. 1973. Anhangsorgane der flechten – ihre Strukturen und ihre systematische Verteilung. Bibliotheca Lichenologica **1**: 1-123.
- Hawksworth, D.J. and Hill, D.J. 1984. *The Lichen Forming Fungi*. 1st Edn. New York: Chapman & Hal.

- Hawksworth, D.L. 1969 The scanning electron microscope. An aid to the study of cortical hyphal orientation in the lichen genera *Alectoria* and *Cornicularia*. *Journal of Microscopie* **8**: 753-760.
- Hawksworth, D.L., Kirk, P.M., Sutton, B.C. and Pegler, D.N. 1995. Dictionary of the Fungi. 8th Edn. International Mycological Institute, CAB International.
- Hawksworth, D.L. and Crespo, A. 2002. Proposal to conserve the name *Xanthoparmelia* against *Chondropsis* nom. cons. (*Parmeliaceae*). *Taxon* **51**: 807-807.
- Hawksworth, D.L. and Sherwood, M.A. 1981. Proposals of nomina conservanda and rejicienda for ascomycete names (lichenized and non-lichenized). *Taxon* **30**: 338-348.
- Henssen, A. and Jahns, H. M. 1974. Lichenes. Eine Einführung in die Flechtenkunde. Thieme. Stuttgart.
- Honegger, R. 1986. Ultrastructural studies in lichens. II. Mycobionte and photobiont cell wall surface layers and adhering crystalline lichen products in four *Parmeliaceae*. *New Phytol.* **103**: 797-808.
- Honegger, R. 1998. The lichen symbiosis – what is so spectacular about it? *Lichenologist* **30**: 193-212.
- Honegger, R. 2008. Morphogenesis. In: Nash III TH (ed) *Lichen biology*. Cambridge University Press. pp. 69-93.
- Huneck, S. 1973. Nature of Lichens Substances. In: V. Ahmadjajian and M.E. Hale. *The Lichens*. London, Academic Press.
- Huneck, S. and Yoshimura, I. 1996. Identification of lichen Substances. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Germany.
- Jacobs, J.B. and Ahmadjian, V. 1969. The ultrastructure of lichens. I. A general survey. *J. Phycol.* **5**: 227-240.
- Jahns, H. M. 1973. Anatomy, morphology and development. In: *The Lichens. Edited by V. Ahmadjian and M.E. Hale*. New York: Academic Press.
- Janex-Favre, M.C. 1970. Ontogénie, organisation, asques de quelques pyrénolichens. *Revue Bryologique et Lichenologique*. Fasc. **3**.
- Judd, W.S. Campbell, C.S., Kellogg, E.A. and Stevens, P.F. 1999. *Plant systematics: a phylogenetic approach*. Massachusetts: Sinauer Associates.
- Jungbluth, P. 2006. A família *Parmeliaceae* (fungos liquenizados) em cerrados do Estado de São Paulo, Brasil. Dissertação de mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente). Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo, SP, Brasil.

- Kärnefelt, I. 1986. The genera *Bryocaulon*, *Coelocaulon* and *Cornicularia* and formerly associated taxa. *Opera Botanica* **86**: 1-90.
- Kärnefelt, I. Emanuelsson, K. and Thell, A. 1998. Anatomy and systematics of usneoid genera in the *Parmeliaceae*. *Nova Hedwigia* **67**: 71-92.
- Kärnefelt, I., Mattsson, J.E. and Thell, A. 1992. Evolution and phylogeny of cetrarioid lichens. *Pl. Syst. Evol.* **183**: 113-160.
- Kirk, P.M., Cannon, P.F., David, J.C. and Stalpers, J.A. 2001. *Ainsworth & Bisby's Dictionary of Fungi*. 9th Edn. CABI Publishing.
- Krempelhuber, A. 1869. *Geschichte und Litteratur der Lichenologie*. II. Die Flechten-Systeme und Flechten-Spezies. München. pp. 147.
- Krog, H. 1973. On *Umbilicaria pertusa* Rass. and some related lichen species. *Bryologist* **76**: 550-554.
- Krog, H. 1982. *Punctelia*, a new lichen genus in the *Parmeliaceae*. *Nord. J. Bot.* **2**: 287-292.
- Kurokawa, S. 1991. *Rimeliella*, a new lichen genus related to *Rimelia* of the *Parmeliaceae*. *Annals of the Tsukuba Botanical Garden* **10**: 1-14.
- Lawrey, J.D. 1986. Biological of lichens substances. *Bryologist* **89**: 111-122.
- Letrouit-Galinou, M.A. 1966. Recherches sur l'ontogénie et l'anatomie comparées des apothécies de quelques discolichens. *Revue Bryologique et Lichénologique* **34**: 413-588.
- Letrouit-Galinou, M.A. and Bellemère, A. 1989. Ascomatal development in lichens: a review. *Cryptogamie, Bryologie et Lichénologie* **10**: 189-233.
- Letrouit-Galinou, M.A. and Lallement, R. 1971. Le thalle, les apothécies et les asques du *Peltigera rufescens* (Weis) Humb. (Discolichen, Peltigeracée). *Lichenologist* **5**: 59-88.
- Lindau, G. 1888. Über die Anlage und Entwicklung einiger Flechtenapothezien. *Flora* **71**: 451-489.
- Louwhoff, S.H.J.J. and Crisp, M.D. 2000. Phylogenetic analylis of *Parmotrema* (*Parmeliaceae*: Lichenized Ascomycotina). *The Bryologist* **103**: 541-554.
- Lücking, R. and Herreira-Campos, M.A. 2006. Sistemática e evolução dos liquens. In: *Biologia de Liquens. Edited by L. Xavier Filho, M.E. Legaz, C.V. Cordoba and E.C. Pereira.. Âmbito Cultural Edições Ltda.: Rio de Janeiro*. pp. 455-468
- Lumbsch, H.T. 1997. Systematic studies in the suborder Agyriineae (Lecanorales). *Journal of the Hattori Botanical Laboratory* **83**: 1-73.
- Lumbsch, H.T., Lunke, T. Feige, G.B. and Huneke, S. 1995. Anamylopsoraceae - a new family of lichenized ascomycetes with stipitate apothecia (Lecanorales: Agyriineae). *Plant Systematics and Evolution* **198**: 275-286.

- Marcelli, M.P. 1998. Diversidade de fungos liquenizados no estado de São Paulo: um diagnóstico. *In: Biodiversidade do Estado de São Paulo: síntese do conhecimento ao final do século XX. Edited by C.E. de M. Bicudo and G.J. Shepherd. FAPESP: São Paulo. pp. 27-35*
- Marcelli, M.P. 2004. Checklist of lichens and lichenicolous fungi of Brazil. Versão 1: junho 2004. http://www.biologie.uni-hamburg.de/checklists/brazil_l.htm.
- Marcelli, M.P. 2006. Fungos Liquenizados. *In: Biologia de Liquens. Edited by L. Xavier Filho, M.E. Legaz, C.V. Cordoba and E.C. Pereira. Âmbito Cultural Edições Ltda.: Rio de Janeiro. pp. 503-520*
- Marcelli, M.P., Jungbluth, P., Benatti, M.N., Spielmann, A.A., Canêz, L.S., Cunha, I.P.R. and Martins, M.F.N. 2007. Some new species and combinations of Brazilian Lichenized fungi. *In: Lichenologische Nebenstunden – Contr. to lichen taxonomy and ecology in honour of Klaus Kalb. Edited by A. Frisch, U. Lange and B. Staiger. Bibliotheca Lichenologica 96:209-227.*
- Mauseth, J.D. 1988. Plant anatomy. California: The Benjamin/Cumming Plushing Comp.any, Inc.
- Meira, R.M.S.A. and Martins, F.M. 2003. Inclusão de material herborizado em metacrilato para estudos de anatomia vegetal. *Rev. Árvore 27.*
- Metcalf, C.F. 1987. Anatomy of the dicotyledons. Oxford: Clarendon Press.
- Metcalf, C.F. and Chalk, L. 1950. Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. Oxford: Clarendon Press.
- Metcalf, C.F. and Chalk, L. 1979. Anatomy of the dicotyledons. Systematic anatomy of leaf and stem, with a brief history of the subject. 2.ed. Oxford: Clarendon Press.
- Metcalf, C.F. and Chalk, L. 1983. Anatomy of the dicotyledons. Wood structure and conclusion of the general introduction. 2.ed. Oxford: Clarendon Press.
- Moberg, R. 1977. The lichen genus *Physcia* and allied genera in Fennoscandia. *Symbolae Botanicae Upsalienses 22: 1-108.*
- Modenesi, P. 1987. Histochemistry and generic delimitation in *Parmelia* and *Punctelia*. *Nova Hedwigia 45: 423-431.*
- Modenesi, P., Piana, M. and Pinna, D. 1998. Surface features in *Parmelia sulcata* (Lichenes) thalli growing in shaded or exposed habitats. *Nova Hedwigia 66: 535-547.*
- Modenesi, P. and Vanzo, C. 1986. The cortical surfaces in *Parmelia saxatilis* and *P. caperata*: a histochemical approach. *Lichenologist 18: 329-338.*

- Moreau, F. 1928. Lês lichens – morphologie, biologie, systématique. Paul Lechevalier: Paris. 154p.
- Nash, T.H. 2008. Lichen Biology. 2nd ed. Cambridge: University Press.
- Nash, T.H., Gries, C. and Elix, J.A. 1995. A revision of the lichen genus *Xanthoparmelia* in South America. *Bibliotheca Lichenologica* **56**: 1-157.
- Nash, T.H., Hafellner, J. and Common, R.S. 1990. *Omphalora*, a new genus in the *Parmeliaceae*. *The Lichenologist* **22**: 355-365.
- Orange, A., James, P.W. and White, F.J. 2001. Microchemical methods for the identification of lichens. British Lichen Society.
- Ozenda, P. 1963. Lichens: Traité d'anatomie végétale. Gebrüder Borntraeger. Berlin: Nikolassee.
- Poelt, J. 1973. Systematic evaluation of morphological characters. *In: The Lichens. Edited by V. Ahmadjian and M.E. Hale*. Academic Press, New York and London. pp. 91-115.
- Purvis, W. 2000. Lichens. Washington: Smithsonian Institution Press.
- Rambold, G. and Hagedorn, G. 1998. The distribution of selected diagnostic characters in the Lecanorales. *The Lichenologist* **30**: 473-487.
- Ribeiro, C.H. 1998. A família Parmeliaceae (Ascomycota liquenizados) em regiões montanhosas dos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo. Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociencias da Universidade de São Paulo.
- Rikkinen, J. 1995. What's behind the pretty colours? A study on the photobiology of lichens. *Bryobrothera* **4**: 1-239.
- Rundel, P.W. 1978 The ecological role of secondary lichen substances. *Biochemical systematics and ecology* **6**: 157-170.
- Sancho, L.G. and Balaguer, L. 1989. Estudio comparado de la anatomia del talo en el género *Lasallia* Mérat (*Umbilicariaceae*; Lichens). *Anales Jardín Botánico de Madrid* **46**: 273-281.
- Sanders, W.B. 2001. Lichens: the Interface between Mycology and Plant Morphology. *Bioscience* **51**: 1025-1035.
- Schwendener, A. 1860. Untersuchungen über den Flechtenthallus. *Naegeli's Beitr. wiss. bot.* **4**: 109-186.
- Solereider, H. 1908. Systematic anatomy of the dicotyledons. Claredon Press, Oxford, v.1.
- Souza, L.A. 2003 Morfologia e Anatomia Vegetal: célula, tecidos, órgãos e plântula. Ponta Grossa: Editora UEPG.

- Souza-Egipsy, V., Valladares, F. and Ascaso, C. 2000. Water distribution in foliose lichen species: interaction between method of hidration, lichen substances and thallus anatomy. *Annals of Botany* **86**: 595-601.
- Spielmann, A.A. 2005. A família *Parmeliaceae* (fungos liquenizados) nos barrancos e peraus da encosta da Serra Geral, Vale do Rio Pardo, Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação de mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente). Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo, SP, Brasil.
- Stace, C.A. 1989. Plant taxonomy and biosystematics. 2ed. Edward Arnold, London.
- Tehler, A. 1988. A cladistic outline of the Eumycota. *Cladistics* **4**: 227-277.
- Tretiach, M., Crisafulli, P., Pittao, E., Rinino, S., Roccotiello, E. and Modenesi, P. 2005. *Isidia* ontogeny and its effect on the CO₂ gas exchanges of the epiphytic lichen *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf. *The Lichenologist* **37**(5): 445-462.
- Valladares, F. 1994. Texture and hygroscopic features of the upper surface of the tallus in the lichen family *Umbilicariaceae*. *Annals of Botany* **73**: 493-500.
- Valladares, F., Sancho, G. 1995. Medullary structure of the *Umbilicariaceae*. *Lichenologist* **27**: 189-199.
- Van Cotthem, W.R.J. 1973. Stomatal types and systematics. *In: The phylogeny and classification of the ferns. Edited by J.A. Crabbe and B.A. Thomas.* Academic Press, London, *Botanical Journal of Linnean Society* **67** (1): 59-71.
- Walker, F.J. and James, P.W. 1980. A revised guide to microchemical techniques for the identification of lichens products. *Bull. Brit. Soc.* **46**: 13-29.
- White, R.A. 1974. Comparation anatomical studies of the ferns. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **61**:379-387.

ANEXO 1: PROTOCOLO DE DESCRIÇÃO MORFOLÓGICA

Nome específico Autor (Times New Roman 16)*Obra (times new roman 13) vol pp. ano.*

EPICÓRTEX ____-____ μm alt. **CÓRTEX SUPERIOR** tipo de tecido_____, cor_____, altura ____-____ células (____-____ μm), com células____ (____-) ____-____ $\times$ ____-____ (____-) μm (alt. $\times$ larg.), formado a partir_____; outras características_____.

CAMADA DE ALGAS cor_____, altura ____-____ células (____-____ μm), com células____ (____-) ____-____ $\times$ ____-____ (____-) μm (comp. $\times$ larg.), conteúdo celular____; hifas ____-____ μm larg, com células____ (____-) ____-____ $\times$ ____-____ (____-) μm (comp. $\times$ larg.), presença de incrustações e inclusões____; outras características____; **máculas** ____-____ μm larg. **PSEUDOCIFELAS** ____-____ μm larg.; outras características_____.

MEDULA organização das hifas_____, cor_____, hifas ____-____ μm larg, com células____ (____-) ____-____ $\times$ ____-____ (____-) μm (comp. $\times$ larg.), presença de incrustações e inclusões____; outras características_____.

SORAIS ausentes ou ____-____ μm larg.; **sorédios** forma geral_____, ____-____ células de algas, ____-____ μm diâm, formados_____. **ISÍDIOS** ausentes ou ramificação_____, ____-____ $\times$ ____-____ mm, descrever e medir córtex_____, camada de algas e espessura da medula____; originam_____.

CÓRTEX INFERIOR tipo de tecido_____, cor_____, altura ____-____ células (____-____ μm), com células____ (____-) ____-____ $\times$ ____-____ (____-) μm (alt. $\times$ larg.), formado a partir____; outras características____; **rizinas** cor_____, ramificação_____, ____-____ μm diâm, número e medida das hifas aglutinadas_____.

Material examinado:**Comentários:**