



**Implicações taxonômicas das variações anatômicas em
Hypotrachyna s.l. (Parmeliaceae, Ascomycota liquenizados)**

CAMILA APARECIDA ZANETTI

Tese apresentada ao Instituto de Biociências,
Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção
do título de Doutora no Programa de Pós-
Graduação em Ciências Biológicas
(Botânica), AC: Morfologia e Diversidade
Vegetal

**BOTUCATU – SP
- 2018 -**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

**Implicações taxonômicas das variações anatômicas em
Hypotrachyna s.l. (Parmeliaceae, Ascomycota liquenizados)**

CAMILA APARECIDA ZANETTI

MARCELO PINTO MARCELLI
ORIENTADOR

Tese apresentada ao Instituto de Biociências,
Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção
do título de Doutora no Programa de Pós-
Graduação em Ciências Biológicas
(Botânica), AC: Morfologia e Diversidade
Vegetal

BOTUCATU – SP
- 2018 –

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO – CAMPUS DE BOTUCATU –
UNESP BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Zanetti, Camila Aparecida.

Implicações taxonômicas das variações anatômicas em *Hypotrachyna* s.l.
(Parmeliaceae, Ascomycota liquenizados) / Camila Aparecida Zanetti. - Botucatu,
2018

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de
Biociências de Botucatu

Orientador: Marcelo Pinto Marcelli

Capes: 20304013

1. Anatomia comparada. 2. *Hypotrachyna*. 3. Parmeliaceae. 4. Líquens.
5. Anatomia vegetal. 6. Taxonomia vegetal.

Palavras-chave: Anatomia comparada, córtex superior, *Hypotrachyna*,
Líquens, Parmelinopsis.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP – Botucatu), seu corpo docente e técnico-administrativo, por permitirem a realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado concedida.

Ao Departamento de Botânica por disponibilizar infraestrutura e equipamentos para a realização do projeto.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica da UNESP – Botucatu, pelo auxílio no preparo e processamento de amostras.

À Seção Técnica de Pós-Graduação por toda ajuda sempre que necessário.

Ao meu orientador Dr. Marcelo Marcelli, pelos sábios ensinamentos, pela confiança, compreensão e amizade ao longo destes anos de orientação.

À Profa. Silvia Machado e ao Laboratório de Pesquisas em Anatomia Vegetal (LPAV) por disponibilizarem infraestrutura e materiais de consumo para a realização deste trabalho.

Ao Kléber, técnico do laboratório de Anatomia, agradeço por toda ajuda sempre que necessário.

À Profa. Simone de Pádua Teixeira pela gentileza em disponibilizar seu laboratório para as análises finais da tese. Também agradeço a Flávia, Giseli e ao Edimárcio pela ótima recepção e ajuda nos dias em que estive no laboratório.

Aos meus amigos Clivia, Yve e Felipe, agradeço pela amizade e puxões de orelha e principalmente, pelo imenso apoio sempre que eu precisei.

Ao Sérgio, agradeço pela imensa paciência e carinho, além das preciosas sugestões e críticas para a melhora deste trabalho.

Aos meus pais Lê e Kido e ao meu irmão Victor que são meu porto seguro. Tudo é e sempre será para vocês. Muito obrigada!

Camila

SUMÁRIO

Resumo	6
Introdução Geral	10
Referências Bibliográficas	15
Capítulo 1 - Caracterização anatômica de <i>Hypotrachyna</i> s.s. (Parmeliaceae), com ênfase nas variações corticais	20
Resumo.....	21
Introdução	22
Material e Métodos	24
Resultados	26
Discussão.....	32
Considerações Finais.....	40
Agradecimentos	40
Referências Bibliográficas	41
Tabela 1.....	45
Tabela 2.....	46
Lista de figuras:.....	50
Capítulo 2 - Estudos anatômicos em <i>Hypotrachyna</i> s.l. (Ascomycota Liqueenizados) e suas aplicações taxonômicas	59
Resumo.....	59
Introdução	60
Material e Métodos	62
Resultados e Discussão	64
Considerações Finais.....	77
Agradecimentos.....	78
Referências Bibliográficas	78
Lista de Figuras	89
Capítulo 3 - A anatomia corrobora a recente sinonimização de <i>Parmelinopsis</i> em <i>Hypotrachyna</i> ?	102
Resumo:.....	102
Introdução	103
Material e Métodos	105

Resultados e Discussão	107
Considerações Finais.....	115
Agradecimentos.....	115
Referências Bibliográficas	116
Tabela 1.....	119
Tabela 2.....	120
Lista de Figuras	124
Considerações Finais	135

ZANETTI, C.A. Implicações taxonômicas das variações anatômicas em *Hypotrachyna* s.l. (Parmeliaceae, Ascomycota liquenizados). 2018. 135 p. TESE (DOUTORADO) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.

RESUMO - *Hypotrachyna* (Parmeliaceae) foi proposto por Hale em 1974 baseado em *Parmelia* subgênero *Parmelia* seção *Hypotrachyna*. Sua circunscrição incluía espécies com ramos sublineares, as vezes alongados e apicalmente subtruncados, apotécios imperfurados e adnatos, raramente subestipitados, rizinas dicotomicamente ramificadas, uniformemente distribuídas na superfície inferior negra. Segundo ele, o córtex superior seria plectenquimático paliádico com epicórtex porado. Foi apenas cerca de 30 anos depois que Divakar et al. mostraram que *Hypotrachyna*, como então circunscrito, é polifilético e sugeriram uma detalhada revisão morfológica e anatômica para a reestruturação do gênero. Em 2013 *Parmelinopsis*, *Cetrariastrum* e *Everniastrum* foram reduzidos a subgêneros de *Hypotrachyna*, mas *Parmelinopsis* e *Hypotrachyna* continuaram sendo polifiléticos. Estudos morfológicos recentes têm levantado a possibilidade de que algumas características anatômicas ainda não estudadas, aliadas a uma abordagem minuciosa de outras já consideradas, muito provavelmente forneceriam importante subsídio a um rearranjo na classificação de gêneros e definição de espécies em Parmeliaceae, especialmente *Hypotrachyna*. Tendo isso em vista foram aqui anatomicamente estudadas 23 espécies de *Hypotrachyna* s.l., que foram processadas de acordo com o protocolo de Barbosa et al. e adaptado por Zanetti et al., desenvolvidos na UNESP/Botucatu. O córtex superior continua sendo um caráter útil na separação de espécies, apresentando características próprias dentro de um mesmo grupo. A medula e a camada de algas, no entanto, apresentam variações específicas, não sendo bons caracteres para a separação de gêneros. O córtex inferior, por não apresentar grande variação dentro de Parmeliaceae, não é um bom caráter para separar grupos. Foi possível sugerir que a atual delimitação de *Hypotrachyna* não é monofilética e que da forma como se encontra organizado apresenta grupos de espécies que podem ser separadas em diferentes gêneros, o que pode ser visto aqui baseado principalmente nas características do córtex superior. Em *Hypotrachynella*, *Lyngenella* e *Vainia* (gêneros ainda não publicados), foi possível concluir que as características anatômicas do córtex superior são constantes para cada gênero estudado corroborando com a recente

segregação de *Hypotrachyna*, embora esta característica não tenha sido eficiente para separar sozinha *Lyngenella* de *Vainia*, que apresentam características muito parecidas entre si. Para *Parmelinopsis*, as características anatômicas encontradas são diferentes daquelas vistas em *Hypotrachyna* s.s. e desta forma, os estudos anatômicos não corroboram com a sua sinonimização em *Hypotrachyna*.

Palavras-chave: Anatomia comparada, córtex superior, líquens, *Parmelinopsis*.

ZANETTI, C.A. Taxonomic implications of anatomical variations in *Hypotrachyna* s.l. (Parmeliaceae, Ascomycota lichenized). 2018. 135 p. THESIS (DOCTORATE DEGREE) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.

ABSTRACT - *Hypotrachyna* (Parmeliaceae) was proposed by Hale in 1974 based on *Parmelia* subgenus *Parmelia* section *Hypotrachyna*. Its circumscription included species with sublinear branches, sometimes elongated and apically subtruncate, imperforate apothecia and adnate, rarely subestipitate, and dichotomically branched rhizines, uniformly distributed in the lower black surface. According to him, the upper cortex would be palisade plectenchymatous with porate epicortex. It was only about 30 years later that Divakar et al. showed that *Hypotrachyna*, as then circumscribed, is polyphyletic and suggested a detailed morphological and anatomical revision for the restructuring of the genus. In 2013 *Parmelinopsis*, *Cetrariastrum* and *Everniastrum* were reduced to *Hypotrachyna* subgenera, but *Parmelinopsis* and *Hypotrachyna* remained polyphyletic. Recent morphological studies have raised the possibility that some anatomical features not yet studied, coupled with a thorough approach to others already considered, would probably provide important support for a rearrangement of genus classification and species definition in Parmeliaceae, especially in *Hypotrachyna*. Twenty-three species of *Hypotrachyna* s.l. were anatomically studied and processed according the protocol of Barbosa et al. adapted by Zanetti et al., both developed in studies developed at UNESP / Botucatu. The upper cortex continues to be a useful character in the separation of species, that present its own characteristics within a same group. The medulla and algal layer, however, present specific variations, not being good characters for the separation of genera. The lower cortex does not show significative variation within Parmeliaceae and is not a good character to separate groups. It was possible to suggest that the current delimitation of *Hypotrachyna* is not monophyletic and the manner how it is organized nowadays this name encloses several groups of species, some of them here represented mainly by the variation of the upper cortex structure. In *Hypotrachynella*, *Lyngenella* and *Vainia* (unpublished genera), it was possible to conclude that the anatomical characteristics of the upper cortex are constant for each genus studied, corroborating the recent segregation of *Hypotrachyna*, although this characteristic was not efficient alone to separate *Lyngenella* from *Vainia*, which are very similar in anatomy. For *Parmelinopsis*, the anatomical features found are quite

different from those seen in *Hypotrachyna* s.s. and thus the anatomical studies do not corroborate with its synonymizing under *Hypotrachyna*.

Keywords: Compared anatomy, upper cortex, lichens, *Parmelinopsis*

Introdução Geral

Fungos liquenizados são aqueles que obrigatoriamente se associam a fotobiontes, formando uma estrutura chamada líquen (Marcelli 1998). Eles não constituem uma unidade taxonômica, mas sim um grupo biológico formado por um fotobionte (alga ou cianobactéria) e um micobionte (fungo) (Nash III 2008). O micobionte pode ser um Ascomiceto ou Basidiomiceto (Hale 1983).

O elemento básico dos fungos é a hifa. Sua parede consiste em pelo menos duas camadas, uma multilaminada e uma granular, rodeadas extracelularmente por uma camada de polissacarídeo fibrilar, onde podem ser encontradas bactérias e cristais de substâncias liquênicas. As células hifais são altamente vacuoladas e o plasmalema é invaginado (Hale 1983).

Os líquens têm dois tipos de hifas: umas altamente gelatinizadas, que com o auxílio da capilaridade absorvem grandes quantidades de água com velocidade e eficiência, e outras de paredes finas com incrustações de cristais hidrofóbicos que, durante o umedecimento, impedem que a água preencha certas regiões onde são formadas bolhas de ar (Brodo 1961).

A estrutura e o desenvolvimento dos tecidos dependem da forma das células e do tipo particular de contato entre elas. Isto é conseguido pela aderência mútua das paredes celulares, pela formação de anastomoses ou pela gelatinização das paredes celulares. Outros fatores importantes são a direção do crescimento e a orientação das hifas entre si e na superfície do talo (Jahns 1973).

Os tecidos do talo consistem em certos tipos celulares, que são derivados das células das hifas (Jahns 1973). Eles são compostos por hifas compactadas, orientadas em várias direções dando aparência de organização celular. Para este tipo de organização, dá-se o nome de plectênquima (Hale 1983).

Alguns plectênquimas são similares a tecidos de plantas e com isso recebem nomes que expressam esta semelhança. Se a estrutura celular do plectênquima consistir em células compactadas com paredes delgadas, lembrando parênquima, ele será chamado de paraplectênquima ou pseudoparênquima. Se as paredes celulares forem fortemente gelatinizadas, similar ao colênquima, ele será chamado de prosoplectênquima (Jahns 1973). Há ainda o escleroplectênquima, que é formado por

células de paredes espessas e lúmen estreito, com organização semelhante ao esclerênquima de plantas superiores (Kitaura & Marcelli 2013).

A definição de plectênquima não é padronizada e varia de acordo com o autor (Hale 1983; Barbosa & Marcelli 2009). A principal divergência refere-se ao fato de que enquanto alguns autores utilizam um termo para definir um tipo morfológico de estrutura, outros utilizam os mesmos termos para descrever regiões específicas do talo (Ozenda 1963). Essas divergências levam a problemas conceituais, que interferem diretamente nas descrições anatômicas (Barbosa 2004).

O plectênquima pode ser considerado um falso tecido próprio dos fungos (Font-Quer 1977), falso tecido formado por filamentos celulares das talófitas (Ozenda 1963) ou ainda um falso tecido formado por hifas fracamente entrelaçadas, interconectadas por anastomoses ou firmemente compactadas (Jahns 1973).

Alguns autores consideram o plectênquima como um tecido verdadeiro considerando-o um tecido formado por hifas que se tornam entrelaçadas e compactadas (Hawksworth et al. 1995; ABRs 2009).

A própria definição de tecido é muitas vezes controversa. Neste trabalho, para considerarmos o plectênquima como um tipo verdadeiro de tecido, adotamos por definição que tecidos são formados por células posicionadas lado a lado (Mauseth 1988).

A morfologia do talo é otimizada para absorção e/ou perda de água dentro de um habitat específico, e sua estrutura anatômica deve seguir princípios que permitam um ótimo ganho de dióxido de carbono do fotobionte sob um determinado regime de umidade (Büdel & Scheidegger 2008). Os tipos morfológicos mais comuns são crostosos, foliosos e fruticosos (Marcelli 2006).

Os talos foliosos possuem estrutura laminar e dorsiventral, comumente apresentam córtex inferior e se prendem ao substrato por rizinas. Suas ramificações podem ser chamadas de lobos, quando são arredondados, e lacínios, quando são estreitos e alongados, com formato de fita (Marcelli 2006).

Anatomicamente, os talos foliosos podem ser separados em dois tipos distintos: os talos homômeros, que não apresentam diferenciação em camadas na estrutura interna e os heterômeros, que possuem pelos menos dois estratos internos distintos: a medula e a camada de algas (Hale 1961, Marcelli 2006).

Em *Parmeliaceae*, a maioria dos talos é folioso e podem variar quanto a sua forma, dimensão e contato com o substrato, mas sua estrutura anatômica apresenta certa unidade (Ozenda 1963).

Parmeliaceae é a família mais importante e diversificada na paisagem liquênica do Brasil (Marcelli 1998, 2012) e por isso tem sido objetivo principal dos estudos do Grupo de Estudos Liquenológicos (Benatti 2005, 2010; Canêz 2005, 2009; Jungbluth 2006; Marcelli et al. 2011; Spielmann 2005, 2010), inclusive na abordagem anatômica, que já revelou boa quantidade de estruturas inéditas (Barbosa 2004, 2009; Kitaura 2012; Zanetti et al. 2015), estabeleceu e adequou terminologia e registrou diferenças significativas entre a anatomia do talo de alguns gêneros e espécies importantes (Barbosa 2009; Barbosa & Marcelli 2009, 2010a/b; Barbosa et al. 2009a/b, 2010; Zanetti et al. 2015), porém baseadas principalmente no estudo metódico do córtex superior.

A estrutura dos líquens foliosos heterômeros normalmente é composta por córtex superior, camada de algas, medula e córtex inferior, que pode estar ausente em alguns gêneros (Hale 1979).

O córtex pode ser formado por uma ou várias camadas de células, com diferentes espessuras da parede e padrões de orientação celular distintos, variando de acordo com gêneros e espécies e nem sempre formando um estrato contínuo (Jahns 1973).

Em *Parmeliaceae*, o córtex é constituído por plectênquima paliádico, mais ou menos verticalmente organizado, fracamente compactado e pode ser recoberto por um epicórtex, uma fina camada de polissacarídeos, perfurada por poros de 10-20 µm de diâmetro, que podem estar relacionados às trocas gasosas (Hale 1981, 1983). As camadas corticais e o epicórtex contêm frequentemente substâncias liquênicas específicas (Hale 1983).

A anatomia do córtex inferior pode diferir do córtex superior em uma mesma espécie (Barbosa 2009).

O córtex superior serve como uma cobertura protetora sobre a superfície do talo, como a epiderme de uma planta. Estudos utilizando o Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) revelaram novos detalhes de modificações estruturais que servem para suporte e troca gasosa, mostrando que o córtex é muito mais complexo do que se imaginava (Hale 1983).

É dentro da camada de algas que se estabelece o contato entre os parceiros da simbiose, e as relações entre algas e hifas variam consideravelmente. A espessura da camada de algas varia em diferentes gêneros e a posição da camada de algas pode variar no talo. No entanto, as algas estão situadas na parte do talo onde as hifas são suficientemente frouxas deixando espaço entre elas e onde têm um ótimo de intensidade luminosa, sendo que elas raramente serão encontradas na superfície ou no interior do talo (Jahns 1973).

A maioria das espécies de fungos liquenizados contém algas verdes como fotobiontes. Na ordem Lecanorales (onde é encontrada a família Parmeliaceae), *Trebouxia* é o fotobionte mais frequente (Nash III 2008).

Na maioria dos líquens foliosos, a medula ocupa a maior parte do volume interno do talo. Normalmente consiste em hifas de células longas e frouxamente entrelaçadas, formando uma camada com aparência felpuda, com amplo espaço entre as hifas. A parte superior da medula forma a camada de algas (Büdel & Scheidegger 2008).

O hábito de um líquen é devido não só à forma de crescimento, mas também é resultado de características anatômicas especiais. A forma da superfície do talo depende da anatomia do córtex superior, mostrando que a aparência externa e a estrutura interna são interdependentes (Jahns 1973).

Os líquens produzem estruturas vegetativas e reprodutivas de importância taxonômica que são fundamentais para identificação de gêneros e espécies (Hale 1983). Assim como a morfologia externa, vários aspectos anatômicos necessitam de maior detalhamento (Marcelli 2012).

Hypotrachyna (Parmeliaceae) foi proposto por Hale (1974), baseado em *Parmelia* subgênero *Parmelia* seção *Hypotrachyna*. Sua circunscrição incluía espécies com lobos sublineares, as vezes alongados e apicalmente subtruncados, apotécios imperfurados e adnatos, raramente subestipitados, rizinas dicotomicamente ramificadas, uniformemente distribuídas na superfície inferior negra. Segundo ele, o córtex superior seria plectenquimático paliádico com epicórtex porado.

Divakar et al. (2006) mostraram que *Hypotrachyna* é polifilético e sugeriram uma detalhada revisão morfológica e anatômica para a reestruturação do gênero. Em 2010, *Remototrachyna* foi segregado de *Hypotrachyna* baseado em características morfológicas e moleculares (Divakar et al. 2010) e em 2013 *Parmelinopsis*,

Cetrariastrum e *Everniastrum* foram reduzidos a subgênero de *Hypotrachyna*, mas mesmo assim, *Parmelinopsis* e *Hypotrachyna* continuaram sendo polifiléticos (Divakar et al. 2013). Nesta nova circunscrição o gênero tem cerca de 270 espécies.

Uma extensa revisão taxonômica do gênero baseada em caracteres morfológicos, anatômicos e químicos, propôs a divisão de *Hypotrachyna* em quatro novos gêneros: *Lyngenella*, com ácido livídico como seu composto principal, relacionado ao grupo *Hypotrachyna livida*; *Hypotrachynella*, que agrega espécies com ácido girofórico e está relacionado ao grupo de *Hypotrachyna pluriformis*; *Vainia*, com ácidos equinocárpico e lecanórico; e *Martiana*, que produz os ácidos evérnico e lecanórico conjuntamente e não possui ácido barbático, além de *Hypotrachyna* s.s. (Hora 2015; Hora et al. 2017a,b no prelo).

Estudos morfológicos recentes têm levantado a possibilidade de que algumas características anatômicas ainda não estudadas, aliadas a uma abordagem minuciosa de outras já estudadas, muito provavelmente fornecerão importante subsídio a um rearranjo na classificação de gêneros e definição de espécies em Parmeliaceae, especialmente *Hypotrachyna*, cujo estudo químico e morfológico (Hora et al. 2017a,b no prelo) já tem encontrado apoio em dados moleculares recém-publicados (Divakar et al. 2013).

Neste trabalho, seguiu-se a nomenclatura e nova divisão taxonômica sugerida por Hora (2015). Desta forma, os nomes dos gêneros e algumas espécies novas estudados ainda não foram publicados pela autora, mas estão sendo aqui utilizados para perfeita correlação e corroboração ao seu trabalho.

Tendo em vista a grande complexidade anatômica e a necessidade de reestruturação de *Hypotrachyna*, este trabalho tem por objetivos:

1. Atualizar e agregar informações anatômicas para os gêneros estudados;
2. Verificar a possível relevância taxonômica das características anatômicas em *Hypotrachyna* s.l.;
3. Descrever detalhadamente a anatomia do talo de espécies de *Hypotrachyna* s.l., verificando se a anatomia corrobora a recente segregação de gêneros.
4. Verificar se a anatomia corrobora sinonimização de *Parmelinopsis* em *Hypotrachyna*.

Referências Bibliográficas

- ABRS.** 2009. Australian Faunal Directory. Australian Biological Resources Study, Canberra.
<http://www.environment.gov.au/biodiversity/abrs/online-resources/fauna/afd/index.htm>
Acesso em 21 de dezembro de 2016.
- Barbosa, S.B.** 2004. Estudos anatômicos em quatro espécies de Parmeliaceae (Ascomycota liquenizados). Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista – UNESP, Botucatu.
- Barbosa, S.B.** 2009. Aplicabilidade taxonômica de variações anatômicas em fungos liquenizados. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista - UNESP, Botucatu.
- Barbosa, S.B. & Marcelli, M.P.** 2009. Plectênquimas – tipos e definições. *Glalia* 2(1): 1-9.
- Barbosa, S.B. & Marcelli, M.P.** 2010a. Comparative thallus anatomy of two *Parmotrema* (Parmeliaceae, lichenized Ascomycetes) with reticulate maculae. *Acta bot. bras.* 24(3): 803-811.
- Barbosa, S.B. & Marcelli, M.P.** 2010b. Considerações sobre a definição de epicórtex. *Glalia* 3(1): 1-11.
- Barbosa, S.B., Marcelli, M.P. & Machado, S.R.** 2009a. Evaluation of different protocols for anatomical studies in Parmeliaceae (lichenized Ascomycota). *Micron* 40: 218–225.
- Barbosa, S.B., Marcelli, M.P. & Machado, S.R.** 2009b. Thallus structure and isidium development in two Parmeliaceae species (lichenized Ascomycota). *Micron* 40: 536–542.
- Barbosa, S.B., Marcelli, M.P. & Machado, S.R.** 2010. Thallus anatomy of *Canoparmelia texana* (Parmeliaceae, lichenized Ascomycota). *Biota Neotropica* 10(3): 150-154.
- Benatti, M.N.** 2005. Os gêneros *Canomaculina*, *Parmotrema* e *Rimelia* (Parmeliaceae, Ascomycetes) no litoral centro-sul do Estado de São Paulo. Dissertação de mestrado. Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo.
- Benatti, M.N.** 2010. Revisão taxonômica do gênero *Bulbothrix* Hale (Parmeliaceae, Ascomycota liquenizados). Tese de doutorado. Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo.

- Brodo, I.M.** 1961. A Study of Lichen Ecology in Central Long Island, New York. *Am. Midl. Natur.* 65(2): 290–310.
- Büdel, B. & Scheidegger, C.** 2008. Thallus morphology and anatomy. In Nash, T. H. III. (ed.), *Lichen Biology*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 40-68.
- Canêz, L.S.** 2005. A família Parmeliaceae na localidade de Fazenda da Estrela, município de Vacaria, Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação (mestrado). Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo. 292 p.
- Canêz, L.S.** 2009. Estudos taxonômicos em *Punctelia* (Parmeliaceae, Ascomycetes Liqueenizados) Tese de doutorado. Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo.
- Divakar, P. K., Crespo, A., Blanco, O. & 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.
- Divakar, P. K., Lumbsch, H. T., Ferencova, Z., Del Prado, R. & Crespo, A.** 2010. Remototrachyna, a newly recognized tropical lineage of lichens in the Hypotrachyna clade (Parmeliaceae, Ascomycota), originated in the Indian subcontinent. *American Journal of Botany* 97: 579–590.
- Divakar, P.K. Crespo, A., Núñez-Zapata, J., FLAKUS, A., Sipman, H. J. M., Elix, J. A. & Thorsten Lumbsch, H.** 2013. A molecular perspective on generic concepts in the *Hypotrachyna* clade (Parmeliaceae, Ascomycota). *Phytotaxa* 132 (1), 21–38.
- Font-Quer, P.** 1977. *Diccionario de Botánica*. 6ed. Editorial Labor, Barcelona.
- Hale, M.E.** 1974. Delimitation of the lichen genus *Hypotrachyna* (Vainio) Hale. *Phytologia* 28 (4): 340-342.
- Hale, M.E.** 1961. Morphology and anatomy lichens. *In*: Hale, M.E. (ed.). *Lichen Handbook – A guide to the lichens of eastern North America*. Smithsonian Institution, Washington, pp. 3-21.
- Hale, M.E.** 1973. Growth. *In*: Ahmadjian, V. & Hale, H.E. *The lichens*. Academic Press, New York: pp. 473-492.
- Hale, M.E.** 1979. *How to know the lichens*. 2nd ed. Wm. C. Brown Company Publishers Dubuque, Iowa.
- 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. 3rd ed. Edward Arnold, London. 190 p.
- Hawksworth, D.L., Kirk, P.M., Sutton, B.C. & Pegler, D.N.** 1995. Dictionary of the Fungi. 8th Edn. International Mycological Institute, CAB International.
- Hora, B.R.** 2015. Estudos taxonômicos em espécies de *Hypotrachyna* (fungos liquenizados, Parmeliaceae) saxícolas do sudeste brasileiro. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista - UNESP, Botucatu.
- Hora B.R., Marcelli M.P. & Kitaura M.J.** 2017a – *Vainia*, a new genus segregated from *Hypotrachyna* (Parmeliaceae). *Hoehnea*. In press.
- Hora B.R., Marcelli M.P. & Kitaura M.J.** 2017b. *Lyngenella*, a new genus segregate from *Hypotrachyna* (Parmeliaceae). *Mycosphere*. In press.
- Jahns, H.M.** 1973. Anatomy, morphology and development. In: The Lichens. Ahmadjian, V. & Hale, M.E (eds.). Academic Press, London, pp. 3-57.
- Jungbluth, P.** 2006. A família Parmeliaceae (fungos liquenizados) em cerrados do Estado de São Paulo, Brasil. Dissertação de mestrado. Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo.
- Kitaura, M.J.** 2012. Estudos taxonômicos de *Leptogium* (Ach.) S.F. Gray (Collemataceae, fungos liquenizados). Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista - UNESP, Botucatu.
- Kitaura, M.J. & Marcelli, M.P.** 2013. A revision of *Leptogium* species with spherical-celled hairs (section *Mallotium* p.p.). *The Bryologist* 116: 15-27.
- Marcelli, M.P.** 1998. History and current knowledge of Brazilian lichenology. In: Marcelli, M.P. & M.R.D. Seaward (Eds). Lichenology in Latin America: history, current knowledge and applications, p. 25-45. CETESB. São Paulo.
- Marcelli, M.P.** 2006. Fungos Liquenizados. In: Xavier Filho, L. (ed.). *Biologia de Líquens*, João Pessoa, pp. 1-25.
- Marcelli, M.P.** 2012. A diversidade oculta dos líquens foliosos no Brasil. In: Pereira, E.C., Mota-Filho, F.O., Martins, Buril, M.L.L. & M.C.B, Rodrigues (Eds). *A liquenologia brasileira no início do século XXI*, p. 41-54. Editora e gráfica CCS, Recife.
- Marcelli, M.P., Canêz, L.S., Benatti, M.N., Spielmann, A.A., Jungbluth, P. & Elix J. A.** 2011. Taxonomical novelties in Parmeliaceae. *Bibliotheca Lichenologica* 106: 211-224.
- Mauseth, J. D.** Plant Anatomy. 1st ed. Longman Publishing Group, Londres.
- Nash, T.H.** 2008. Lichen Biology. 2nd ed. University Press, Cambridge.

Ozenda, P. 1963. Lichens: Traité d'anatomie végétale. Gebrüder Borntraeger. Nikolassee.

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 (mestrado). Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo. 204p.

Spielmann, A.A. 2010. Estudos taxonômicos em *Parmotrema* s.l. (Parmeliaceae, Ascomycota liquenizados) com ácido salazínico. Tese de doutorado. Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo.

Zanetti, C.A., Jungbluth, P. & Marcelli, M.P. 2015. Comparative anatomy in *Canoparmelia* and *Crespoa* species (Parmeliaceae, lichenized fungi). *Bryologist* 118(2): 184–194

De acordo com as normas do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica) do IBB – UNESP, os capítulos desta tese deverão ser apresentados na forma de manuscritos a serem submetidos para publicação.

Desta forma, os capítulos serão apresentados de acordo com as normas das seguintes revistas, com pequenas alterações a fim de melhorar a estética e compreensão do texto:

➤ Capítulo 1: Acta Botanica Brasilica

Caracterização anatômica de *Hypotrachyna* s.s. (Parmeliaceae), com ênfase nas variações corticais

➤ Capítulo 2: The Bryologist

Estudos anatômicos em *Hypotrachyna* s.l. (Ascomycota Liqueenizados) e suas aplicações taxonômicas

➤ Capítulo 3: Canadian Journal of Botany

A anatomia corrobora a recente sinonimização de *Parmelinopsis* em *Hypotrachyna*?

CAPÍTULO 1

Artigo original

Caracterização anatômica de *Hypotrachyna* s.s. (Parmeliaceae), com ênfase nas variações corticais

Camila Aparecida Zanetti^{1,*} & Marcelo Pinto Marcelli²

¹. Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 18618-970, Botucatu, SP, Brasil; ² Seção de Micologia e Liquenologia, Instituto de Botânica, 04301-902, São Paulo, SP, Brasil

* Autor para correspondência: camilazanetti11@yahoo.com.br

Resumo – *Hypotrachyna* foi proposto como gênero por Hale baseado em *Parmelia* subgênero *Parmelia* seção *Hypotrachyna*. Segundo este autor, o córtex superior seria plectenquimático paliçádico com epicórtex porado. Estudos mostraram que *Hypotrachyna* é um gênero parafilético que necessitaria maiores estudos para sua correta delimitação e sugeriram uma detalhada revisão morfológica e anatômica para a reestruturação mesmo. Assim, uma revisão taxonômica baseada em caracteres morfológicos, anatômicos e químicos foi realizada e propôs a segregação de quatro novos gêneros de *Hypotrachyna* *sensu* Hale que, além de serem morfológicamente diferenciados, também produzem metabólitos secundários característicos: *Lyngenella*, *Hypotrachynella*, *Martiana* e *Vainia*. Este estudo tem por objetivo elencar características estruturais, especialmente relacionadas a organização e variação do córtex superior, verificando se elas sustentam ou não a recente divisão genérica proposta por Hora. Foram estudadas nove espécies de *Hypotrachyna*, coletadas na região da Serra da Mantiqueira (SP) e municípios de Minas Gerais. Todo material foi preparado de acordo com o protocolo de Barbosa *et al.* (2009). Como resultado foi possível separar as espécies em cinco grupos de acordo com as características do córtex superior e foi possível sugerir que a atual delimitação de *Hypotrachyna* não é monofilética e que da forma com que está organizado apresenta grupos de espécies.

Palavras-chave: Anatomia comparada, córtex superior, líquens, medula, plectênquima,

Introdução

Hypotrachyna (Vainio) Hale foi proposto por Hale (1974, 1975) baseado em *Parmelia* subgênero *Parmelia* seção *Hypotrachyna*. Sua circunscrição incluía espécies com lobos sublineares, às vezes alongados e apicalmente subtruncados, apotécios imperfurados e adnatos, raramente subestipitados e rizinas dicotomicamente ramificadas uniformemente distribuídas pela superfície inferior negra. Segundo este autor, o córtex superior seria plectenquimático paliádico com epicórtex porado. O gênero possuía cerca de 110 espécies ocorrendo principalmente em áreas mais elevadas de regiões tropicais.

Divakar *et al.* (2006) mostraram que *Hypotrachyna* é um gênero parafilético que necessitaria maiores estudos para sua correta delimitação e sugeriram uma detalhada revisão morfológica e anatômica para a reestruturação do gênero. Além disso, a filogenia apresentada nesse trabalho sugeria a inclusão de *Parmelinopsis* Elix & Hale, *Cetrariastrum* Sipman e *Everniastrum* Hale ex Sipman dentro de *Hypotrachyna*. Em 2010, uma linhagem indiana com 15 espécies foi segregada de *Hypotrachyna*, dando origem ao gênero *Remototrachyna* Divakar & A. Crespo (Divakar *et al.* 2010).

Em 2013, *Parmelinopsis*, *Cetrariastrum* e *Everniastrum* foram então reduzidos a subgêneros de *Hypotrachyna*. Além disso, foram criados 2 novos subgêneros: *Longilobae* e *Sinuosae*. Mesmo com esta alteração, continuaram sendo polifiléticos (Divakar *et al.* 2013). Nesta nova circunscrição o gênero passou a ter cerca de 260 espécies (Lücking *et al.* 2017).

Recentemente, uma revisão taxonômica baseada em caracteres morfológicos, anatômicos e químicos propôs a segregação de quatro novos gêneros de *Hypotrachyna* *sensu* Hale (Hora 2015). Comparando os espécimes-tipo com as novas coletas feitas, os autores notaram que a grande maioria das espécies coletadas eram novas ou sequer fariam parte de *Hypotrachyna* (Hora & Marcelli, comunicação pessoal). Desta forma, foram propostos novos gêneros que, além de serem morfológicamente diferenciados, também produzem metabólitos secundários característicos: *Lyngenella* B. R. Hora & Marcelli, com substâncias do complexo ácido livídico como metabólito secundário principal, relacionado ao grupo *Hypotrachyna livida*; *Hypotrachynella* Marcelli & B.R. Hora, que agrega espécies com ácido girofórico e está relacionado ao grupo de *Hypotrachyna pluriformis*; *Vainia* B.R. Hora & Marcelli, com ácidos equinocárpico e lecanórico; e *Martiana* Marcelli & B.R. Hora, que produz os ácidos evérnico e lecanórico conjuntamente e não produz ácido barbático (Hora 2015).

Parmeliaceae Eschw. é a família mais estudada anatomicamente por ser um dos maiores e mais diversos grupos de fungos liquenizados do mundo. *Hypotrachyna* encontra-se dentro deste grande grupo. Os estudos têm revelado estruturas inéditas e características talinas importantes que podem ser usadas como caracteres taxonômicos (Barbosa *et al.* 2009; 2010; Zanetti *et al.* 2015), principalmente no que diz respeito a caracterização e formação dos córtices, caracterização das hifas medulares, distribuição e forma dos cristais dos ácidos liquênicos e ontogenia de pseudocifelas (Barbosa *et al.* 2009; 2010; Barbosa & Marcelli 2009; 2010; Zanetti *et al.* 2015).

Além disso, a anatomia se mostra a cada dia mais satisfatória para a resolução de problemas taxonômicos em líquens, como por exemplo em *Physcia pungens* (Physciaceae), em que a dificuldade de identificação pôde ser resolvida com estudos anatômicos (Jungbluth 2012), a separação entre *Canoparmelia* e *Crespoa*

(Parmeliaceae), em que o córtex superior pode facilmente distinguir esses gêneros (Zanetti *et al.* 2015) e em *Punctelia*, em que as características anatômicas das pseudocifelas podem auxiliar na identificação de espécies (Zanetti *et al.* 2017).

A abordagem minuciosa das espécies mostrou que morfologia e anatomia são muito importantes, revelando diferenças existentes entre estruturas que se acreditava idênticas, resolvendo muitas dúvidas a respeito de espécies brasileiras (Marcelli 2012) e que vários aspectos anatômicos mostram necessidade de maior detalhamento e muitas vezes novos termos necessitam ser cunhados (Marcelli 2012) para explicar a variabilidade existente.

Neste estudo buscamos elencar características estruturais, especialmente relacionadas a organização e variação do córtex superior em *Hypotrachyna* s.s. , verificando se elas sustentam ou não a recente divisão genérica proposta por Hora (2015).

Material e Métodos

Foram estudadas nove espécies inéditas de *Hypotrachyna* s.s.: *H. corrugata* B.R. Hora & Marcelli, *H. etii* B.R. Hora & Marcelli, *H. fracta* B.R. Hora & Marcelli, *H. iarae* B.R. Hora & Marcelli, *H. martiana* B.R. Hora & Marcelli, *H. nashii* Marcelli & B.R. Hora, *H. palui* B.R. Hora & Marcelli, *H. protentoides* B.R. Hora & Marcelli e *H. vexillina* B.R. Hora & Marcelli.

As amostras foram coletadas na região da Serra da Mantiqueira nas seguintes localidades: Parque Nacional do Caparaó (ES), Parque Nacional do Itatiaia (MG), Reserva Particular do Patrimônio Natural Santuário do Caraça (MG), além dos municípios de São Tomé das Letras (MG) e Carrancas (MG) (Tabela 1). Todas estas são

áreas de Mata Atlântica, com presença de campos de altitude e matas montanas, além de campos rochosos, onde há abundância de espécies saxícolas de fungos liquenizados, como as aqui estudadas.

Todo material foi preparado de acordo com o protocolo desenvolvido por Barbosa *et al.* (2009) e adaptado por Zanetti *et al.* (2015).

Foram descritos os lacínios das regiões distal (mais jovem, próximo as bordas) e proximal (mais velha, próxima ao centro) do talo. Foram mensurados epicórtex, córtex superior, linha negra, cílios (quando presentes), camada de algas, medula, cristais, sorédios e/ou isídios, córtex inferior e rizinas, de acordo com o protocolo de descrição desenvolvido por Barbosa (2004).

As observações e documentação foram feitas usando microscópio de luz (Leica DMR) com câmera digital acoplada (Leica DFC 425). As medidas foram feitas em secções transversais usando programa digital de imagem LAS (Leica).

As lâminas foram fotografadas com e sem filtro polarizador de luz, a fim de verificar a presença e morfologia dos cristais de ácidos liquênicos.

Durante a análise foram visualizadas algumas características que necessitaram de novos termos para possibilitar a correta descrição; além disso algumas definições adicionais se mostram necessárias para evitar confusão com nomenclatura descritiva existente. São elas:

- **Plectênquima:** Tecido compacto formado por hifas que se tornam entrelaçadas e compactadas (Hawksworth *et al.* 1995)
- **Córtex desestruturado:** as hifas se agrupam de forma desorganizada e sem padrão definido, podendo haver falhas e cavidades. Neste tipo de córtex não há formação de plectênquima.

- **Prosoplectênquima:** formado por células com paredes celulares gelatinizadas, com arranjo periclinal ou paralelo das hifas e é similar ao esclerênquima das plantas superiores (Ozenda 1963).
- **Prosoplectênquima compacto:** Formado por células pouco dilatadas e muito compactadas entre si. Difere do prosoplectênquima comum devido ao alto grau de compactação e a pouca (ou quase nenhuma) dilatação do lúmen das células. Normalmente neste tipo de tecido a paliçada é ausente ou pouco evidente.
- **Prosoplectênquima descontínuo:** Plectênquima descontinuado por grandes falhas verticais. A morfologia das células é semelhante à do prosoplectênquima compacto, com lúmen pouco dilatado e células muito compactadas entre si, só interrompido pelas falhas que dão nome ao tecido. Em algumas espécies, ele é formado apenas por uma camada de células.
- **Aeroplectênquima:** tecido caracterizado pela presença de grandes lacunas preenchidas de ar (Barbosa 2009).

Por existirem algumas diferenças anatômicas entre os quatro espécimes estudados de *H. protentoides*, em alguns momentos eles serão tratados separadamente como *H. protentoides* 1204, *H. protentoides* 1300, *H. protentoides* 1301 e *H. protentoides* 1304.

Resultados

Epicórtex

O epicórtex está presente em todas as espécies e varia entre 0.5–1.5 µm de espessura, podendo chegar até 2.0 µm em *H. palui* (Figs 1D-H, 2A-H). É característico

desta estrutura ser pouco evidente e parecer como se estivesse se descolando do córtex superior e sofrendo algumas interrupções ao longo do talo.

Córtex superior

Foi possível estabelecer cinco grupos de espécies baseados nas características do córtex superior (Figs. 1 e 2, Tabela 2):

- **Grupo 1 - Córtex superior prosoplectenquimático compacto na região distal e lacunoso na região proximal:** *H. corrugata*, *H. etii*, *H. protentoides* 1301 e 1304.
- **Grupo 2 – Córtex superior prosoplectenquimático compacto:** *H. protentoides* 1204 e 1300.
- **Grupo 3 - Córtex superior prosoplectenquimático paliçádico:** *H. iarae*, *H. fracta*, *H. palui* e *H. vexillina*.
- **Grupo 4 – Córtex superior descontínuo:** *H. martiana*.
- **Grupo 5 – Córtex superior lacunoso:** *H. nashii*.

Hypotrachyna corrugata, *H. etii* e *H. protentoides* 1301, 1304 apresentaram variação entre as regiões do talo (Figs. 1 e 2, Tabela 2), sendo prosoplectenquimático compacto na região distal e lacunoso na região proximal. Este parece ser o tipo de córtex característico de *Hypotrachyna* s.s.

Diferente de *Hypotrachyna protentoides* 1204 e 1300, os espécimes 1301 e 1304 não apresentam variação entre as regiões do talo, assim como também ocorre nas demais espécies estudadas.

Em *H. protentoides* 1301 há uma característica peculiar na região distal do talo: o córtex é biestratificado, sendo o estrato superior formado por prosoplectênquima

poroso com células muito pequenas (menores que 2 μm), arredondadas e firmemente compactadas, com paliçada pouco evidente, enquanto o estrato inferior é formado pela compactação de hifas curtas e não dilatadas. Além disso, a região proximal possui córtex desestruturado com falhas e cavidades (Fig. 2C–D).

Apenas *H. martiana* apresenta córtex superior descontínuo, formado por apenas 1 camada de células, assim como o que foi visto anteriormente em *Parmelinopsis minarum* (Barbosa 2004). Da mesma forma, apenas *H. nashii* possui córtex superior lacunoso, como encontrado em *Canoparmelia texana* (Barbosa *et al.* 2010, Zanetti *et al.* 2015).

A espessura do córtex superior varia pouco entre as espécies. Normalmente a espessura fica entre 13.0–51.0 μm , sendo o mais delgado visto em *H. nashii* (13.0–21.0 μm) e os mais espessos em *H. fracta* (44.0–51.0 μm) e *H. protentoides* 1301 (46.0–50.0 μm).

O padrão de disposição das hifas em paliçada é variável. Enquanto em *H. fracta*, *H. iarae* e *H. palui* ela é evidente em todas as regiões do talo, em *H. martiana*, *H. nashii* e *H. protentoides* ela é ausente ou pouco evidente. Já nas demais espécies (*H. corrugata*, *H. etii* e *H. vexillina*), ela varia entre as regiões do talo (Figs. 1 e 2, Tabela 2).

A formação do córtex superior é pouco variável entre as espécies de *Hypotrachyna* estudadas. De forma geral, o córtex é formado por hifas que partem da medula, se ramificam e atravessam a camada de algas para formar o córtex superior. As particularidades ocorrem no padrão de ramificação e o local da medula de onde partem as hifas.

A ramificação das hifas formadoras do córtex superior pode ocorrer abaixo ou acima da camada de algas. Quando abaixo, o córtex adquire padrão em paliçada

evidente. Se acima, a paliçada será ausente ou pouco evidente (como em *H. protentoides* 1204). Quanto à origem, essas hifas podem se originar da metade superior da medula, mas normalmente, elas partem de toda a medula.

Em *Hypotrachyna corrugata* (região distal), *H. etii*, *H. iarae*, *H. martiana*, *H. nashii*, *H. protentoides* e *H. vexillina*, as hifas partem de todos os pontos da medula, inclusive da região próxima ao córtex inferior.

Em *Hypotrachyna corrugata* (região proximal), *H. fracta* e *H. palui* as hifas partem da metade superior da medula.

Aeroplectênquima

O aeroplectênquima está localizado entre o córtex superior e a camada de algas. *Hypotrachyna fracta* (Fig. 1D) e *H. protentoides* (Fig. 2A–H) apresentam aeroplectênquima na região proximal do talo, com lacunas arredondadas e ovais que variam entre 6.0–11.5 µm de diâmetro.

Linha negra

A linha negra é uma linha de coloração negra que contorna as margens dos lacínios, como uma extensão do córtex inferior que vai até o superior (Fig. 3E). É dela que saem os cílios. Ela está presente em todas as espécies e é formada por um escleroplectênquima contínuo na maior parte das vezes com 7.5–25.5 µm de altura, sendo a mais espessa vista em *H. fracta*, onde varia entre 21.0–46.0 µm (Tabela 2). Mesmo quando dita ausente ou pouco evidente em estudos morfológicos, ela se mostrou presente na anatomia.

Camada de algas

A camada de algas não apresentou um padrão definido. Nas espécies analisadas ela aparece disposta na forma de camada, como células individuais ou como glomérulos (agrupamentos circulares) dispostos ao longo do talo e foram vistas algumas células em divisão.

Quando em agrupamentos ou camada, ela conta com 2 a 15 células empilhadas ou agrupadas em glomérulos aproximadamente esféricos, podendo chegar até 20 células em *H. etii* e *H. protentoides* 1300 e 1304 (Figs 1 e 2, Tabela 2). O diâmetro das células varia de 4.5 µm em *H. nashii* e *H. protentoides* 1204 até 12,0 em *H. corrugata*. As hifas medulares que cortam a camada de algas medem 1.5–5.5 µm de largura.

Medula

Com exceção de *H. fracta* e da região proximal de *H. corrugata*, todas as espécies possuem medula uniestratificada. Quando esta característica ocorre, a medula não possui arranjo definido e as hifas transversais e longitudinais estão dispostas aleatoriamente pela medula.

Em *H. corrugata* o estrato superior ocupa 1/3 da medula e é formado por hifas verticais e inclinadas, curtas e mais espessas (9.5–16.5 µm) que atuam na formação do córtex superior. O estrato inferior (2/3 restantes) é formado por hifas transversais horizontais e longitudinais com arranjo compactado (Fig. 3C). Já *H. fracta* possui a medula organizada da seguinte forma: um estrato superior que possui hifas transversais dispostas de forma predominantemente vertical, atuando diretamente na formação do córtex superior, e um estrato inferior que possui hifas transversais horizontalmente dispostas e longitudinais, ambas arranjadas de forma compactada (Fig. 3D).

A espessura das hifas medulares varia entre 1.5–4.5 μm , chegando até 6.5 μm em *H. corrugata*. A disposição, espessura e tamanho das hifas e seu arranjo medular variam de acordo com a espécie.

Morfologia e distribuição dos cristais

Os cristais não foram visualizados em *H. etii*, *H. nashii*, *H. protentoides* 1204, 1301 e 1304 e em *H. vexillina*. Nas outras espécies, eles possuem morfologia variada e estão localizados em diferentes regiões do talo. Em *H. corrugata* os cristais estão dispostos como um colar de contas ao redor das hifas do córtex superior, na metade inferior da medula e na região central das rizinas. Eles possuem brilho azulado na região superior do córtex superior, na medula e rizinas. No restante do córtex, o brilho é rosado (Figs 3A–3B). Eles não foram vistos sem uso de luz polarizada.

Em *H. iarae* (Fig. 3F) e *H. martiana* (Fig. 4A), os cristais são granulares, estão localizados no córtex superior, possuem cor azulada e só foram vistos com polarizador. *H. fracta* (Fig. 3D) e *H. protentoides* 1300 (Fig. 4B) possuem cristais localizados no córtex superior, amarelados sem polarizador e azulados a branco azulados quando vistos com polarizador. No entanto, em *H. protentoides* 1300 (Figs. 2C e 4B) eles são dispostos como um colar de contas ao redor das hifas do córtex superior.

H. palui possui a maior abundância de cristais. Eles são retangulares a filiformes, marrons e vão desde a região logo abaixo do córtex superior até a base da medula. Em luz polarizada são brancos azulados (Figs. 4C-4D).

Sorédios e Isídios

Nenhuma das espécies estudadas possui sorédios ou isídios.

Córtex inferior

O córtex inferior de todas as espécies é escleroplectenquimático contínuo, sendo mais espesso no local onde estão/serão formadas as rizinas. A espessura do tecido varia entre 8.5–30.0 μm de altura.

Rizinas

As rizinas são inteiramente corticadas e formadas pela aglutinação de cerca de 5–13 hifas paralelas. Como muitas rizinas estavam cortadas, possivelmente pelo manuseio na hora da coleta, optamos por medi-las apenas na base, onde possuem 37.0–99.5 μm de diâmetro.

Discussão

Estudos mostram que *Hypotrachyna* apresenta córtex superior plectenquimático paliçádico ou paraplectenquimático (Hale 1974, Divakar *et al.* 2006). No entanto, as espécies aqui estudadas mostraram grande variação no córtex superior, apresentando córtices desestruturado, prosoplectênquima descontínuo, prosoplectênquima compacto ou prosoplectênquima paliçádico. De acordo com o tipo de tecido do córtex superior foi possível separar pequenos grupos de espécies, corroborando a hipótese de se tratar de um grupo de espécies (Hora & Marcelli, comunicação pessoal).

De acordo com o padrão observado para as espécies, é possível inferir que algumas espécies não deveriam estar incluídas dentro de *Hypotrachyna* s.s. O padrão cortical predominante parece ser a presença de 2 regiões do talo com características distintas, apresentando córtex prosoplectenquimático compacto na região distal e prosoplectenquimático descontínuo na região proximal. Desta forma, apenas *H.*

corrugata, *H. etii*, *H. protentoides* 1301 e 1304 e *H. vexillina* deveriam estar incluídas em *Hypotrachyna* s.s.

As máculas presentes em *Hypotrachyna* podem explicar a presença de córtex lacunoso neste gênero, principalmente na região proximal, onde são mais constantes e marcantes, algumas vezes formando quebras na superfície do talo.

A presença de córtex superior descontínuo em *H. martiana* e *H. vexillina*, visto anteriormente apenas em *Parmelinopsis* (Barbosa 2004), gênero recentemente colocado como subgênero de *Hypotrachyna* (Divakar *et al.* 2013), confirmando sua proximidade filogenética.

Assim como em *Canoparmelia*, *Crespoa* e *Parmotrema*, em *Hypotrachyna* foi possível observar como ocorre a formação do córtex superior (Barbosa & Marcelli 2010a; b; Barbosa *et al.* 2010; Zanetti *et al.* 2015). As hifas são fáceis de serem visualizadas partindo da medula, atravessando a cada de algas e se ramificando ou não para formar o córtex.

Dois grupos de *Hypotrachyna* anteriormente estudados mostraram que a anatomia cortical também pode ser usada como uma característica adicional na classificação do gênero (Divakar *et al.* 2006). Os autores ainda afirmaram que se devia aguardar um reexame completo da morfologia e anatomia, para melhor delimitação deste clado (Divakar *et al.* 2006).

Quando analisadas ao estereomicroscópio, as espécies aqui estudadas apresentam um “brilho” composto por pequenos pontos na superfície dos talos, o que foi chamado de padrão “acetinado” quando os pontos brilhantes são facilmente distinguíveis e de “aveludado” quando os pontos são difíceis de serem visualizados (Hora 2015). Além disso, a autora atribuiu este padrão à estrutura cortical e

convexidade do epicórtex no topo das células corticais das espécies, o que em parte pôde ser aqui confirmado.

Analisando *Hypotrachyna* anatomicamente foi possível perceber que a camada de células que fica em contato direto com o epicórtex possui o ápice convexo, formando o que é chamado de superfície nodular (Hale 1973). Esta característica já havia sido vista em espécies com epicórtex não porado, utilizando MEV (Hale 1981). Aqui, identificamos esta característica em microscopia de luz e acreditamos que esta convexidade possa atribuir brilho à superfície do talo quando há incidência de luz. Apesar disso, não foi possível estabelecer anatomicamente a distinção entre acetinado e aveludado.

Em outros gêneros de Parmeliaceae estudados, como por exemplo *Canoparmelia*, *Crespoa*, *Parmotrema* e *Punctelia*, não havia sido visualizado este padrão de superfície (Barbosa 2009; Barbosa *et al.* 2009a; b; Barbosa & Marcelli 2010a; b; Zanetti *et al.* 2015).

Hale (1973), estudando espécies com Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), separou o córtex superior em dois tipos: um com as hifas expostas e outro com as hifas cobertas por uma fina camada de polissacarídeos, que chamou de epicórtex. Quando o epicórtex está presente, ele pode ser porado ou contínuo (sem poros). Espécies com epicórtex porado, nunca produzem pseudocifelas e vice-versa. Ainda, segundo o mesmo autor, somente espécies com epicórtex não porado possuem superfície nodular. No entanto, as espécies de *Hypotrachyna* estudadas possuem epicórtex porado e superfície nodular, que pode ser vista mesmo tendo as espécies sido analisadas apenas com microscopia de luz.

Vainia e *Lyngenella* (gêneros recentemente segregados de *Hypotrachyna*) foram analisadas em MEV e mostraram variação no padrão dos poros no epicórtex porado

(Zanetti 2017, in prep.). Em alguns casos os poros são arredondados, menores e mais abundantes, enquanto em outros eles são ovais, maiores e mais escassos. Hale (1981) já havia observado que em *Hypotrachyna gigas* (Kurok.) Hale o epicórtex porado começa a se formar depois de 3-4 semanas de desenvolvimento e o tamanho máximo e densidade dos poros variam de acordo com a espécie, mas, segundo ele, em muitos gêneros o tamanho máximo dos poros não passa de 15.0–40.0 µm. Barbosa (2004) também já havia estudado espécies com epicórtex porado, mas não forneceu qualquer informação sobre os tipos e disposição dos poros no epicórtex, o que reforça a necessidade de se estudar detalhadamente esta característica.

Espécies de *Hypotrachyna* podem apresentar ramos secundários que se formam posteriormente e crescem sobrepostos aos primários nas regiões mais velhas do talo (Hora 2015). Quando presentes, estes ramos foram estudados e comparados com os ramos primários, mas não apresentaram diferença anatômica.

Normalmente os córtices superior e inferior se encontram e se diferenciam na região mediana da margem do talo. É na margem do talo que as algas se dividem mais frequentemente e o fungo penetra entre elas. Já próximo à região mais central, os simbiontes se estratificam e apresentam menos divisões (Greenhalgh & Anglesea 1979) e as células do córtex amadurecem (Sanders 2001).

Nesta região de crescimento ocorre a linha negra, que é a extensão do córtex inferior até o córtex superior. As estruturas que saem desta região lateral do talo, são chamadas de cílios (Hora 2015). A correta distinção entre cílios e rizinas é de fundamental importância, principalmente por *Hypotrachyna* ter sido considerada como um gênero eciliado por muito tempo (Hora 2015).

Anatomicamente, todas as espécies de *Hypotrachyna* estudadas possuem linha negra e os córtices não se diferenciam na região central da margem do talo, mas sim, em

uma região um pouco acima, próximo à altura da camada de algas. A anatomia confirmou a presença da linha negra em casos onde a morfologia deixou dúvida.

A presença do aeroplectênquima somente na região proximal (mais velha do talo), pode estar relacionada à senescência do líquen. Parece ocorrer a morte das células das algas nestas partes e as novas células surgem em locais diferentes, deixando a lacuna vazia no lugar anteriormente ocupado por elas. As algas liquenizadas estão confinadas uma camada bem definida imediatamente abaixo do córtex superior, e as células podem ocorrer em blocos separados por hifas transversais verticais, em pequenos grupos ou agrupamentos e aparentemente como células ocasionais quando vistas na seção transversal (Greenhalgh & Anglesea 1979).

Há um modelo para distribuição de algas em *Squamaria crassa* var. *crassa* (Huds.) Poelt e uma espécie de *Aspicilia* A. Massal., sugerindo que as células jovens se encontram mais profundamente dentro do talo e as células senescentes mais próximas ao no córtex superior. À medida que as células envelhecem, elas aparentemente migram para cima, embora nenhum mecanismo para este movimento seja descrito (Galun *et al.* 1970). Este movimento, apesar de relatado, é pouco compreendido (Jahns 1974). Foi visto que a baixa frequência de divisão de células de algas nas regiões mais centrais do talo representa um tipo de crescimento intercalar, indicando que é mais provável que o líquen se ocupe mais com a substituição de células mortas do que com seu crescimento em extensão (Greenhalgh & Anglesea 1979).

Em *Hypotrachyna*, a espessura da camada de algas e a disposição das células não são uniformes, variando até mesmo dentro da mesma espécie. Em *Parmelia saxatilis* (L.) Ach., a espessura da camada e o estado das células algais também não é uniforme, variando com a localização no talo e também dentro de uma população de líquens (Greenhalgh & Anglesea 1979).

Em talos de *Aspicilia* sp. e *Squamarina* sp. apenas as células de algas mais profundas se dividem e, portanto, à medida que as células individuais amadurecem, elas se movem para cima em direção ao córtex superior e à superfície. Se as células são movidas pelo mecanismo descrito acima, presumivelmente a divisão só ocorre nas camadas inferiores e aquelas células filhas que tomam uma posição final perto da superfície superior crescem e amadurecem, mas não são estimuladas a dividir (Galun *et al.* 1970). No entanto, em *Parmelia saxatilis* foi visto que a divisão de algas ocorre mais na parte superior da camada de algas de modo que a sequência descrita acima parece ser invertida (Greenhalgh & Anglesea 1979). Aqui, vimos que em *Hypotrachyna* toda a região da camada de algas possui células em divisão, não sendo possível estabelecer um local exato, nem mesmo um padrão de divisão.

A medula está localizada logo abaixo da camada de algas. Ela é composta por hifas entrelaçadas, normalmente de paredes mais espessas que as da camada de algas, ocupa a maior parte do talo e é o local de armazenamento de água, nutrientes e algumas substâncias liquênicas específicas (Marcelli 2006). Como já pôde ser visto em alguns gêneros de *Parmeliaceae* (Barbosa *et al.* 2004; 2009; Zanetti *et al.* 2015), ela apresenta variações intra e interespecíficas.

Além disso, acredita-se que as hifas medulares desempenhem também um importante papel na distribuição e divisão das células da alga dentro do talo. Observações mostraram que as hifas comumente penetram na parede da célula mãe de “pacotes” de aplanósporos, desempenhando um papel na separação física destas células. Parece provável que os aplanósporos recém-formados, vazem pequenas quantidades de metabólitos para o talo imediatamente ao seu redor. Se for assim, estas substâncias podem estimular o crescimento de fungos, resultando em uma ou mais hifas que penetram a parede da célula mãe e crescem intrusivamente entre as células filhas.

Nestas circunstâncias, as hifas podem ser estimuladas a se ramificar e certamente a crescer mais, e tal crescimento deve necessariamente estar nas pontas das hifas no centro do aglomerado. As hifas fúngicas são, portanto, capazes de empurrar as células filhas para posições relativamente espaçadas (Greenhalgh & Anglesea 1979).

Esta hipótese, de que as hifas podem ser estimuladas a penetrar em aplanósporos por vazamento de nutrientes, sugere que o contato inicial resultante pode ser importante na transferência de nutrientes e a expansão contínua do talo é uma consequência automática da natureza do crescimento de fungos. A posição, extremamente próxima, observada entre os dois simbiossios poderia então resultar nas condições necessárias para as alterações de potencial de membrana sugerido por Smith (1974) como um possível mecanismo de transferência (Greenhalgh & Anglesea 1979).

Os líquens produzem uma série de compostos orgânicos que são insolúveis em água e incrustam-se como cristais na superfície das hifas, ocorrendo em quase todos os gêneros, sendo particulares de determinado grupo (Hale 1961; Hawksworth & Hill 1984; Nash 2008). Enquanto alguns ácidos possuem pigmentos laranja ou amarelo, a maioria são incolores. Os pigmentos ocorrem geralmente no córtex superior e os ácidos incolores são depositados na medula (Hale 1961).

Hale (1975) citou que *Hypotrachyna* é um gênero quimicamente muito diverso e relacionou alguns compostos químicos com a morfologia, além de sugerir que o gênero pudesse ser dividido em 10 subgrupos químicos (ácido alectorônico, ácido evérnico-lecanórico, ácido girofórico, ácido livídico, ácido colensóico, ácido equinocárpico, ácido α -colatólico, ácido protocetrário, ácido úsnico e liquexantona).

Hoje, sabe-se que o gênero produz cerca de 110 produtos naturais conhecidos (Sipman *et al.* 2009). No entanto, em algumas das espécies estudadas, não foram vistos cristais de ácidos líquênicos. Não podemos precisar se o processamento das amostras

acabou dissolvendo-os ou se simplesmente os cristais são menores que 4,0 μm e por isso não foram vistos.

Quando presentes, os cristais ocorreram sempre no córtex superior, indicando serem cristais atranorina, um depsídeo comum em líquens (Hale 1961). É possível que a atranorina possa ser útil como fotoprotetor e pode aumentar a capacidade de a alga usar luz de comprimentos de onda menores e assim permitir a utilização máxima de baixas intensidades luminosas (Rao & LeBlanc 1965).

A complexa química dos fungos liquenizados fez com que os cristais merecessem destaque no estudo de outros gêneros de Parmeliaceae. Em *Canoparmelia*, foram vistos cristais na medula e/ou região central dos sorédios e com morfologia variada, indo desde colar de contas até formato de anel ao redor das hifas (Barbosa *et al.* 2010; Zanetti *et al.* 2015). Já em *Punctelia*, os cristais são granulares e puderam ser vistos também no córtex superior (Barbosa 2009; Zanetti *et al.* 2017). Nos dois gêneros os cristais brilham sob luz polarizada.

A presença e o tipo de metabólito secundário produzidos pelo líquen possuem grande importância taxonômica, inclusive muito autores levam em consideração as substâncias líquênicas na separação de espécies (Hale & Kurokawa 1964; Hale 1965).

Morfológica e anatomicamente cílios e rizinas são iguais, diferindo apenas por sua localização e função no talo. Ambos são formados por hifas paralelas aglutinadas, podendo ser corticados ou não. Não se sabe ao certo a função dos cílios, mas, em algumas situações, eles podem atuar como rizinas na fixação do talo (Hora 2015).

Apesar de o gênero possuir rizinas abundantes, poucas foram vistas presas aos talos, nas secções anatômicas. A maioria delas se desprende do talo durante o processamento das amostras, sendo vistas “soltas” nas lâminas analisadas. No entanto, isso não comprometeu o estudo das espécies.

Considerações Finais

O córtex superior continua sendo um caráter útil na separação de espécies, apresentando características próprias dentro de um mesmo grupo. A medula e a camada de algas, no entanto, apresentam variações específicas, não sendo bons caracteres para a separação de gêneros. O córtex inferior, no entanto, por não apresentar grande variação dentro de Parmeliaceae, não é um bom caráter para separar grupos.

Foi possível sugerir que a atual delimitação de *Hypotrachyna* não é monofilética e que da forma com que está organizado apresenta grupos de espécies, o que pode ser visto aqui baseado também nas características do córtex superior.

Mais uma vez foi visto que os estudos anatômicos são essenciais para a atualização do conhecimento em liquenologia, auxiliando na compreensão de processos fisiológicos, sendo possível correlacionar a formação de algumas estruturas especiais, como poros e/ou lacunas com a necessidade fisiológica do talo.

Além disso, como os estudos taxonômicos envolvem apenas secções anatômicas feitas à mão livre, não se tem o detalhamento necessário de algumas estruturas importantes, como por exemplo, o córtex superior e medula.

Agradecimentos

A CAPES pela bolsa de doutorado concedida à Camila Aparecida Zanetti e ao Laboratório de Pesquisas em Anatomia Vegetal – LAPAV, por disponibilizar infraestrutura e material de consumo para o desenvolvimento deste trabalho.

Referências Bibliográficas

- Barbosa SB, Marcelli MP. 2010a. Comparative thallus anatomy of two *Parmotrema* (*Parmeliaceae*, lichenized Ascomycetes) with reticulate maculae. *Acta botanica brasiliica* 24: 803-811.
- Barbosa SB, Marcelli MP. 2010b. Considerações sobre a definição de epicórtex. *Glalia* 3: 1-11.
- Barbosa SB. 2004. Estudos anatômicos em quatro espécies de *Parmeliaceae* (*Ascomycota* liquenizados). Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista – UNESP, Botucatu.
- Barbosa SB. 2009. Aplicabilidade taxonômica de variações anatômicas em fungos liquenizados. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista - UNESP, Botucatu.
- Barbosa SB, Marcelli MP, Machado SR. 2009a. Evaluation of different protocols for anatomical studies in *Parmeliaceae* (lichenized *Ascomycota*). *Micron* 40: 218–225.
- Barbosa SB, Marcelli MP, Machado SR. 2009b. Thallus structure and isidium development in two *Parmeliaceae* species (lichenized *Ascomycota*). *Micron* 40: 536–542
- Barbosa SB, Marcelli MP, Machado SR. 2010. Thallus anatomy of *Canoparmelia texana* (*Parmeliaceae*, lichenized *Ascomycota*). *Biota Neotropica* 10: 150-154.
- Crespo A, Lumbsh T, Mattsson JE, Blanco O, Divakar PK., Articus K, Wiklund E, Bawingan PA, 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 PK, Crespo A, Blanco O, Lumbsch TH. 2006. Phylogenetic significance of morphological characters in the tropical *Hypotrachyna* clade of parmelioid lichens (Parmeliaceae, Ascomycota). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 40: 448-458.
- Divakar PK, Lumbsch HT, Ferencova Z, Del Prado R, Crespo A. 2010. *Remototrachyna*, a newly recognized tropical lineage of lichens in the *Hypotrachyna* clade (Parmeliaceae, Ascomycota), originated in the Indian subcontinent. *American Journal of Botany* 97: 579-590.
- Galun M, Paran N, Ben-Shaul Y. 1970. Structural modifications of the phycobiont in the lichen thallus. *Protoplasma* 69: 85-96.
- Greenhalgh GN, Anglesea D. 1979. The distribution of algal cells in lichen thalli. *Lichenologist* 11(3): 283-292.
- Hale ME. 1961. Lichen handbook - a guide to the lichens of eastern north America. Smithsonian Institution, Washington, D. C.
- Hale ME. 1965. A monograph of *Parmelia* subgenus *Amphigymnia*. *Bulletin of the United States National Museum* 36(5): 193-357
- Hale ME. 1973. Fine structure of cortex in the family Parmeliaceae viewed with the scanning electron microscope. *Smithsonian Contributions to Botany* 10:1-92.
- Hale ME. 1974. Delimitation of the lichen genus *Hypotrachyna* (Vainio) Hale. *Phytologia* 28 (4): 340-342.
- Hale ME. 1975. A revision of the lichen genus *Hypotrachyna* (Parmeliaceae) in Tropical America. *Smithsonian Contributions to Botany* 25, 1-73.
- Hale ME. 1981. Pseudocyphellae and pored epicortex in the Parmeliaceae: their delimitation and evolutionary significance. *Lichenologist* 13: 1-10.
- Hale ME, Kurokawa S. 1964. Studies on *Parmelia* subgenus *Parmelia*. *Contributions from the United States National Herbarium*. 36:121-191

- Hawksworth DL, Kirk PM, Sutton BC, Pegler DN. 1995. Dictionary of the Fungi. 8th Edn. International Mycological Institute, CAB International.
- Henssen A, Jahns HM. 1974. Lichenes. Eine Einführung in die Flechtenkunde. Thieme. Stuttgart.
- Hora BR. 2015. Estudos taxonômicos em espécies de *Hypotrachyna* (fungos liquenizados, Parmeliaceae) saxícolas do sudeste brasileiro. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista - UNESP, Botucatu.
- Jungbluth P, Marcelli MP. 2012. Identificação de *Physciaceae* s.l. foliosas brasileiras. *Glalia* 4(1): 65-101.
- Lücking R, Hodkinson BP, Leavitt SD. 2017. The 2016 classification of lichenized fungi in the Ascomycota and Basidiomycota – approaching one thousand genera. *The Bryologist* 119(4): 361-416.
- Marcelli MP. 2006. Fungos Liquenizados. In: Xavier Filho, L. (ed.). *Biologia de Liquens*, João Pessoa, pp. 1-25.
- Marcelli, M.P. 2012. A diversidade oculta dos liquens foliosos no Brasil. In: Pereira, E.C., Mota-Filho, F.O., Martins, Buril, M.L.L. & M.C.B, Rodrigues (Eds). *A liquenologia brasileira no início do século XXI*, p. 41-54. Editora e gráfica CCS, Recife.
- Nash, III, T. (Ed.). (2008). *Lichen Biology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Ozenda P. 1963 *Lichens: Traité d'anatomie végétale*. Gebrüder Borntraeger. Nikolassee.
- RAO D, LEBLANC BF. 1965. A possible role of atranorin in the lichen thallus. *The Bryologist* 68:284- 289.
- Sanders W. 2001. Lichens: The Interface between Mycology and Plant Morphology. *Bioscience* 51: 1025-1035.

Sipman HJ, Elix JA, Nash III TH. 2009. *Hypotrachyna* (Parmeliaceae Lichenized Fungi). Flora Neotropica Monograph 104. 166p.

Zanetti CA, Jungbluth P, Marcelli MP. 2015. Comparative anatomy in *Canoparmelia* and *Crespoa* species (Parmeliaceae, lichenized fungi). Bryologist 118(2): 184–194.

Zanetti CA, Barbosa SB, Adachi SA, Marcelli MP. 2017. Pseudocyphellae ontogeny and thallus anatomy in *Punctelia* Krog species (Parmeliaceae, lichenized Ascomycota). Acta Botanica Brasilica. 31(1): 51–57.

Tabela 1 – Material examinado.

Espécie	Material examinado	Local de coleta	Coordenadas	Tipo
<i>H. corrugata</i>	B.R. Hora 1594	Brasil, Minas Gerais, Município de Catas Altas, Reserva Particular do Patrimônio Natural Santuário do Caraça	20°06'58.5"S 43°31'01.3"W	Holotipo
<i>H. etii</i>	B.R. Hora 1784	Minas Gerais, Município de São Tomé das Letras, área urbana	21°42'54.8"S 44°58'31.8"W	Holotipo
<i>H. fracta</i>	B.R. Hora 1570	Brasil, Minas Gerais, Município de Catas Altas, Reserva Particular do Patrimônio Natural Santuário do Caraça	20°06'58.5"S 43°31'01.3"W	Holotipo
<i>H. iarae</i>	B.R. Hora & M.P. Marcelli 809	Brasil, Minas Gerais, Município de Catas Altas, Reserva Particular do Patrimônio Natural Santuário do Caraça	20°06'58.5"S 43°31'01.3"W	Holotipo
<i>H. martiana</i>	B.R. Hora 1422	Minas Gerais, Município de Itamonte, Parque Nacional do Itatiaia	22°21'57.5"S 44°42'58.6"W	Holotipo
<i>H. nashii</i>	B.R. Hora 1160	Brasil, Espírito Santo, Município de Alto Caparaó, Parque Nacional do Caparaó	20°27.3'S 41°48.3"W	Holotipo
<i>H. palui</i>	B.R. Hora 1608	Brasil, Minas Gerais, Município de Catas Altas, Reserva Particular do Patrimônio Natural Santuário do Caraça	20°25'48.1"S 43°29'16.8"W	Holotipo
<i>H. protentoides</i>	B.R. Hora 1204	Brasil, Espírito Santo, Município de Alto Caparaó, Parque Nacional do Caparaó	20°27.3 'S 41°48.3' W	Holotipo
	B.R. Hora 1300	Minas Gerais, Município de Itamonte, Parque Nacional do Itatiaia	20°23'08.2"S 44°43'46"W	Paratipo

	B.R. Hora 1301	Minas Gerais, Município de Itamonte, Parque Nacional do Itatiaia	20°23'08.2"S 44°43'46"W	Paratipo
	B.R. Hora 1304	Minas Gerais, Município de Itamonte, Parque Nacional do Itatiaia	20°23'08.2"S 44°43'46"W	Paratipo
<i>H. vexillina</i>	B.R. Hora 1222	Brasil, Espírito Santo, Alto Caparaó, Parque Nacional do Caparaó	20°26'26,40"S 41°47'93"W	Holotipo

Tabela 2 – Principais características anatômicas encontradas nas espécies estudadas.

Espécies	Espécimes	Epicórtex (altura)	Córtex superior	Paliçada	Aeroplectênquima
<i>H. corrugata</i>	1594	1,0 µm	Prosoplectênquima compacto (distal); Lacunoso (proximal)	Pouco evidente (distal); evidente (proximal)	Ausente
<i>H. etii</i>	1784	0,5–1,2 µm	Prosoplectênquima compacto (distal); Lacunoso (proximal)	Pouco evidente (distal); evidente (proximal)	Ausente
<i>H. fracta</i>	1570	1,0 µm	Prosoplectênquima paliçádico;	Evidente	Presente (proximal)
<i>H. iarae</i>	809	0,8–1,3 µm	Prosoplectênquima paliçádico;	Evidente	Ausente
<i>H. martiana</i>	1422	0,5–1,0 µm	Prosoplectênquima descontínuo;	Pouco evidente	Ausente
<i>H. nashii</i>	1160	1,0 µm	Prosoplectênquima lacunoso;	Pouco evidente	Ausente
<i>H. palui</i>	1608	0,7–2,0 µm	Prosoplectênquima paliçádico;	Evidente	Ausente
<i>H. protentoides</i>	1204	1,0–1,5 µm	Prosoplectênquima compacto;	Pouco evidente	Presente (proximal)
	1300	1,0 µm	Prosoplectênquima compacto;	Pouco evidente	Presente (proximal)
	1301	1,0 µm	Prosoplectênquima compacto (distal); Lacunoso (proximal)	Pouco evidente	Presente (proximal)
	1304	1,0 µm	Prosoplectênquima compacto (distal); Lacunoso (proximal)	Evidente	Presente (proximal)
<i>H. vexillina</i>	1222	1,0–1,5 µm	Prosoplectênquima paliçádico;	Evidente (distal); pouco evidente (proximal)	Ausente

Tabela 2 (continuação) – Principais características anatômicas encontradas nas espécies estudadas.

Espécies	Espécimes	Camada de algas (disposição)	Medula (altura e estratificação)	Cristais (formato e disposição)	Córtex inferior	Rizinas	Cílios
<i>H. corrugata</i>	1594	Glomérulos	Uniestratificada Biestratificada (proximal)	Colar de contas ao redor das hifas; Córtex superior, medula e rizinas	Escleroplectenquimático contínuo	Não vistas	Não vistos
<i>H. etii</i>	1784	Individuais ou glomérulos	Uniestratificada	Não vistos	Escleroplectenquimático contínuo	Simples	Simples
<i>H. fracta</i>	1570	Individuais ou glomérulos	Biestratificada	Granulares; Córtex superior	Escleroplectenquimático contínuo	Simples ou dicotomicamente ramificadas;	Não vistos
<i>H. iarae</i>	809	Individuais ou glomérulos	Uniestratificada	Granulares; Córtex superior	Escleroplectenquimático contínuo	Simples ou dicotomicamente ramificadas	Não vistos
<i>H. martiana</i>	1422	Individuais ou glomérulos	Uniestratificada	Granulares; Córtex superior	Escleroplectenquimático contínuo	Simples ou dicotomicamente ramificadas	Não vistos
<i>H. nashii</i>	1160	Glomérulos	Uniestratificada	Não vistos	Escleroplectenquimático contínuo	Simples	Não vistos

<i>H. palui</i>	1608	Individuais ou glomérulos	Uniestratificada	Retangulares a filiformes; Córtex superior, camada de algas e medula	Escleroplectenquimático contínuo	Simples ou dicotomicamente ramificadas	Não vistos
<i>H. protentoides</i>	1204	Individuais ou glomérulos	Uniestratificada	Não vistos	Escleroplectenquimático contínuo	Simples	Não vistos
	1300	Camada	Uniestratificada	Formato de anel ao redor das hifas; Córtex superior	Escleroplectenquimático contínuo	Simples	Não vistos
	1301	Individuais ou glomérulos	Uniestratificada	Não vistos	Escleroplectenquimático contínuo	Simples	Não vistos
	1304	Individuais ou glomérulos	Uniestratificada	Não vistos	Escleroplectenquimático contínuo	Simples	Simples, 50,0 µm larg. base
<i>H. vexillina</i>	1222	Individuais ou glomérulos	Uniestratificada	Não vistos	Escleroplectenquimático contínuo	Não vistas	Não vistos

Lista de figuras:

Figura 1 – Secções transversais mostrando variação do córtex superior. A. Região distal de *Hypotrachyna corrugata*: prosoplectênquima compacto; B. Região proximal de *H. corrugata*: córtex lacunoso; C. *H. etii* proximal: prosoplectênquima compacto; D. *H. etii* distal: córtex lacunoso; E. *H. fracta*: córtex prosoplectênquima paliçádico com presença de aeroplectênquima (asteriscos) e epicórtex; F. *H. iarae*: prosoplectênquima paliçádico; G. *H. martiana*: prosoplectênquima descontínuo; H. *H. nashii*: prosoplectênquima lacunoso com presença de epicórtex.

Legendas – córtex superior (uc), camada de algas (al), epicórtex (cabeça de seta).

Escalas – 20 µm: A, C, E–H; 50 µm: B, D.

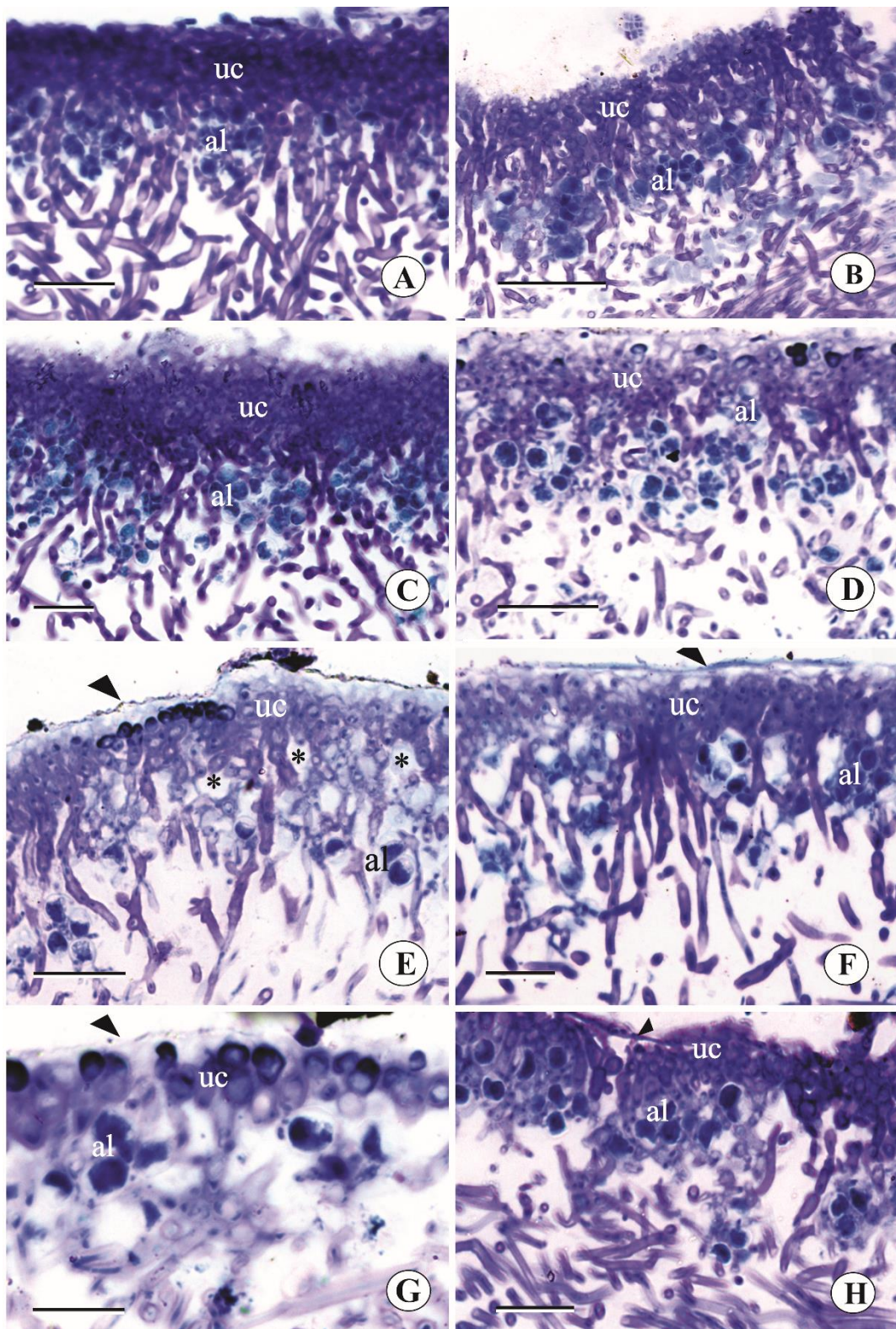


Figura 2 – Secções transversais mostrando variação do córtex superior (cont.). A. 1204 prosoplectênquima compacto mostrando epicórtex; B-H: *Hypotrachyna protentoides*; B. 1300 prosoplectênquima compacto mostrando cristais sem polarizador de luz (seta); C. 1301 córtex biestratificado na região distal (estrelas). Estrato superior com prosoplectênquima compacto e estrato inferior formado pela compactação de hifas curtas e pouco dilatadas; D. 1301 região proximal: córtex lacunoso com aeroplectênquima; E. 1304 região distal: prosoplectênquima compacto com presença de epicórtex; F. 1304 região proximal: córtex lacunoso com aeroplectênquima; G. *H. palui*: prosoplectênquima paliçádico, mostrando cristais sem polarizador de luz (setas); I. Região distal de *Hypotrachyna vexillina*: prosoplectênquima paliçádico. Legendas – córtex superior (uc), camada de algas (al), epicórtex (cabeças de seta), aeroplectênquima (asteriscos). Escalas – 20 µm: A–F, 50 µm: G, H

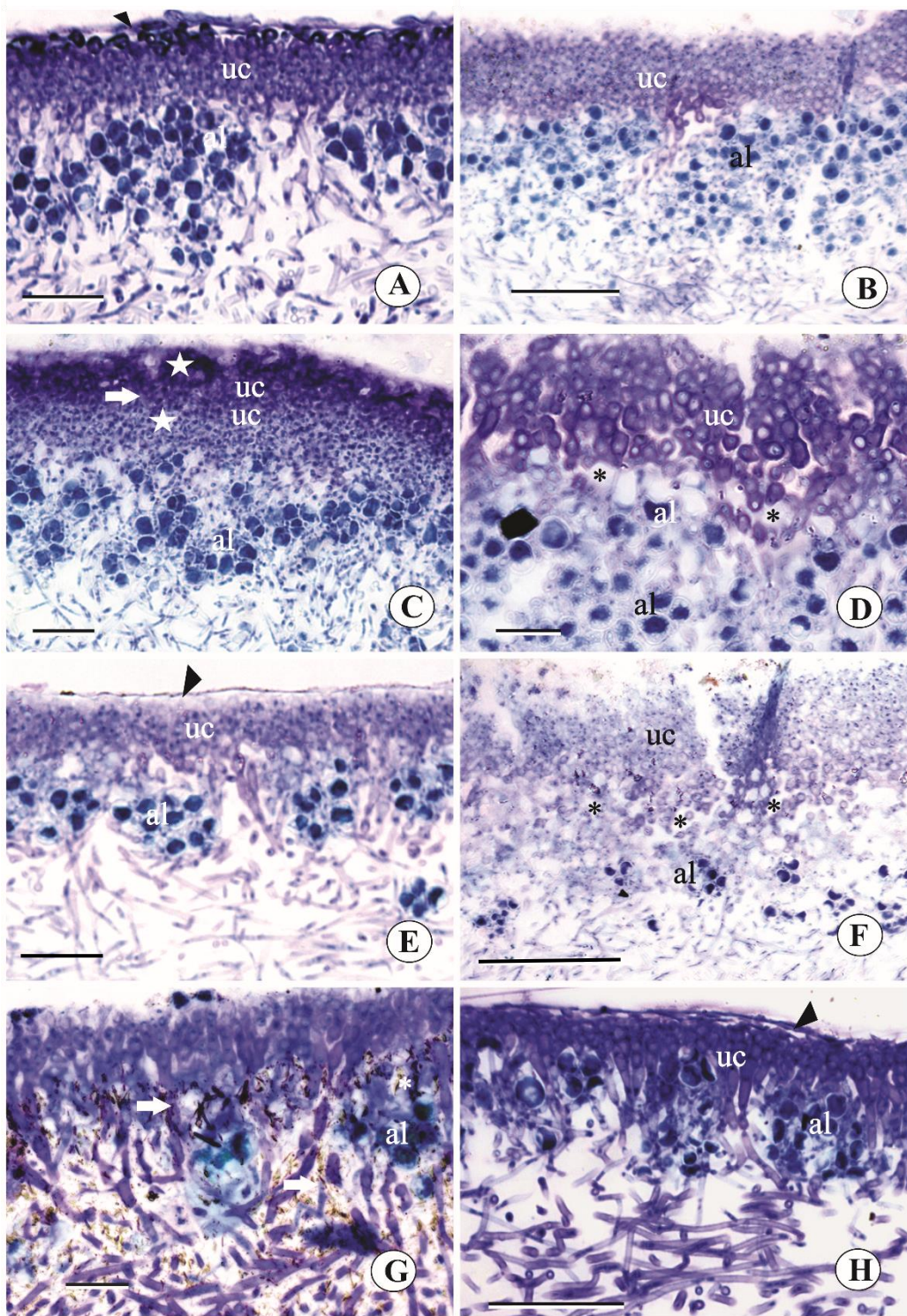


Figura 3 – Outras estruturas talinas. A – B. localização dos cristais em *Hypotrachyna corrugata* (setas); C. Secção transversal mostrando a medula biestratificada (estrelas); D. Cristais (setas) e medula biestratificada (estrelas) em *H. fracta*; E. linha negra em *H. fracta* (asterisco), que apresenta as mesmas características em todas as espécies; F. Cristais em *H. iarae*. Legendas – córtex superior (uc), camada de algas (al), medula (me). Escalas – 50 µm: B, C, E; 100 µm: A, D, F.

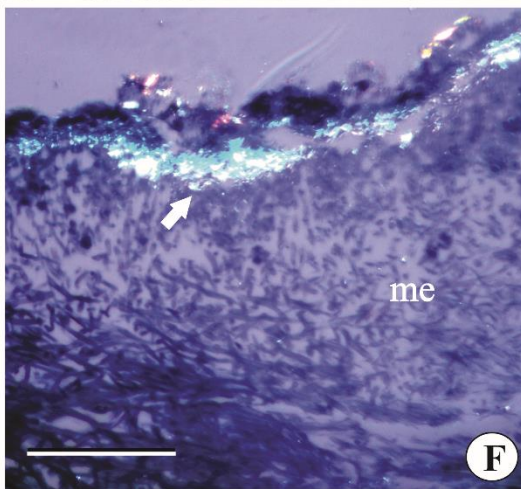
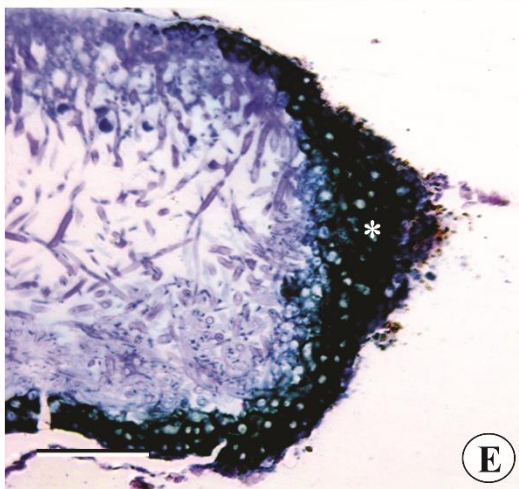
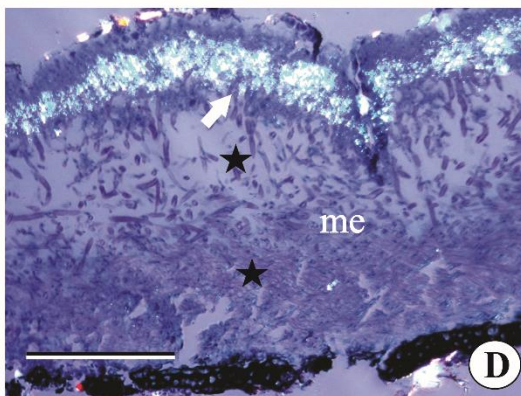
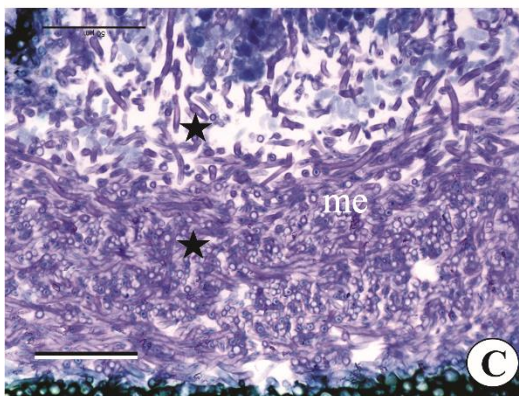
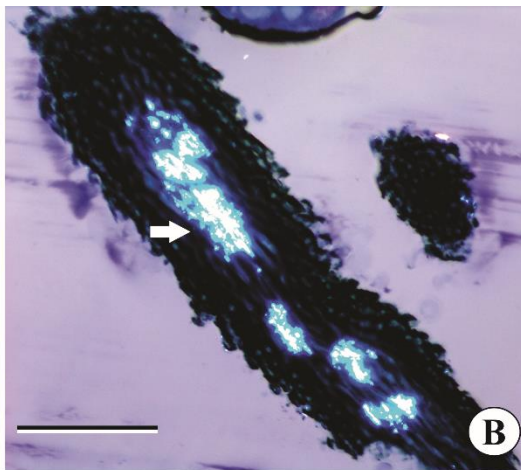
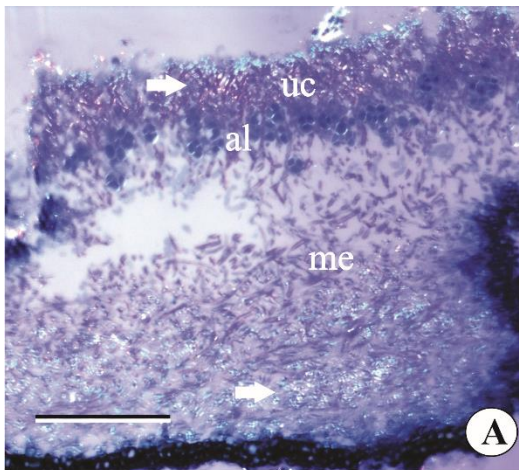
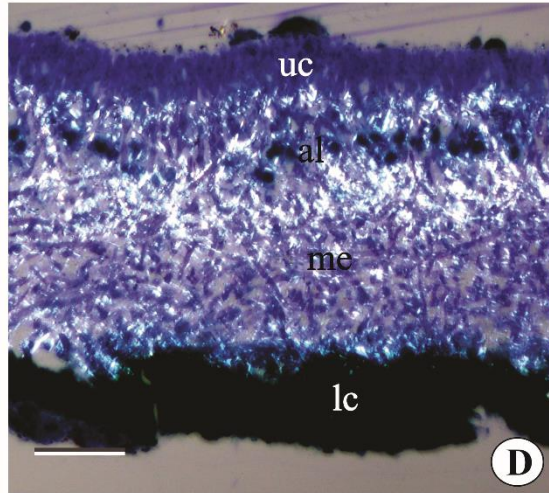
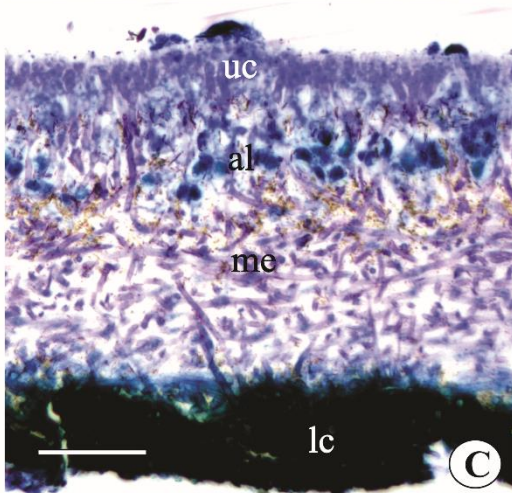
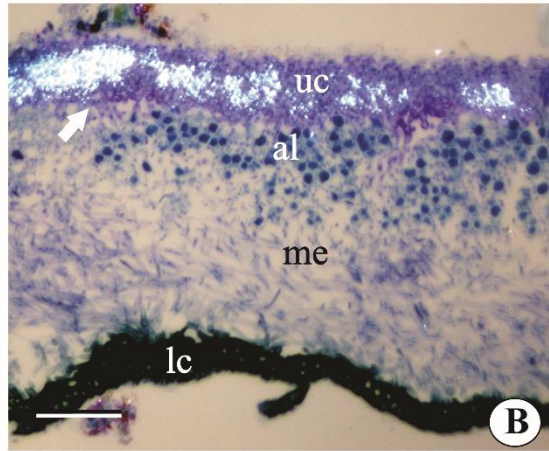
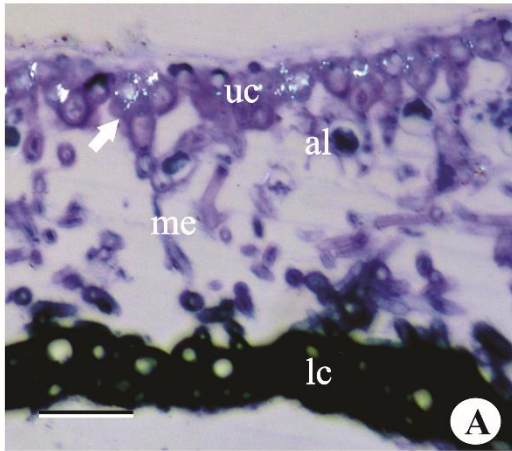


Figura 4 – Outras estruturas talinas (cont.). A. Cristais em *Hypotrachyna martiana*; B. Cristais em *H. protentoides* 1300; C–D. Cristais em *H. palui*, sem polarizador de luz (C) e com polarizador de luz (D). Legendas – córtex superior (uc), camada de algas (al), medula (me), córtex inferior (lc). Escalas – 50 μm .



CAPÍTULO 2

Estudos anatômicos em *Hypotrachyna* s.l. (Ascomycota Liqueenizados) e suas aplicações taxonômicas

Camila Aparecida Zanetti^{1,*} & Marcelo Pinto Marcelli²

¹. Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 18618-970, Botucatu, SP, Brasil; ² Instituto de Botânica, Micologia, Av. Miguel Stéfano 3687, 04301-902, São Paulo, SP, Brasil

* Autor para correspondência: camilazanetti11@yahoo.com.br

Resumo – *Hypotrachyna* (Vainio) Hale é um dos maiores gêneros da família Parmeliaceae Zenker, englobando cerca de 260 espécies. Estudos filogenéticos recentes comprovaram que esse gênero é polifilético e necessita de uma melhor compreensão. Recentemente foi proposta a segregação de quatro novos gêneros a partir de *Hypotrachyna*: *Hypotrachynella* Marcelli & B.R. Hora, *Lyngenella* B.R. Hora & Marcelli, *Martiana* Marcelli & B.R. Hora e *Vainia* B.R. Hora & Marcelli. Afim de oferecer um possível suporte a essa segregação, foram estudadas anatomicamente nove espécies de *Hypotrachynella*, *Lyngenella* e *Vainia*. Para as análises em Microscopia de Luz, o material foi processado de acordo com protocolo especialmente desenvolvido. Foi possível concluir que as características anatômicas do córtex superior são constantes para cada gênero estudado e, portanto, possui valor taxonômico, corroborando com a recente segregação de *Hypotrachynella*, *Lyngenella* e *Vainia* de *Hypotrachyna*. No entanto, esta característica não foi suficiente para separar *Lyngenella* de *Vainia*, que apresentam características muito parecidas entre si. Por variarem entre espécies e as regiões do talo, a camada de algas, medula e o córtex inferior não são caracteres que possam ser usados para distinção das espécies.

Palavras-chave: Anatomia comparada, córtex superior, liquens, Parmeliaceae

Introdução

Hypotrachyna (Vainio) Hale foi descrito por Vainio em 1890 como *Parmelia* subgênero *Parmelia* seção *Hypotrachyna* e foi elevada a gênero por Hale (1974). A circunscrição englobava espécies tropicais com lobos sublineares as vezes alongados, com ápice subtruncado, apotécios imperfurados adnatos a raramente subestiptados e rizinas dicotomicamente ramificadas distribuídas uniformemente pela superfície inferior negra, sendo esta a principal característica diagnostica do gênero (Hale 1974). O córtex superior consiste em plectênquima paliádico com epicórtex porado (Hale 1973).

O gênero é um dos maiores dentro da família Parmeliaceae Zenker, englobando cerca de 270 espécies (Lücking et al. 2017). Estudos filogenéticos recentes comprovaram que esse gênero é polifilético e necessita de uma melhor compreensão (Divakar et al. 2006, 2010, 2013). Estes mesmos autores colocaram *Cetrariastrum*, *Everniastrum* e *Parmelinopsis* como subgêneros de *Hypotrachyna*, que mesmo assim continuou polifilético, necessitando de melhor delimitação genérica (Divakar et al. 2013).

Em 2010, *Remototrachyna* Divakar & A. Crespo foi segredado de *Hypotrachyna* baseado em características morfológicas e moleculares (Divakar et al. 2010).

Hora (2015) realizou um estudo taxonômico extenso baseado em caracteres morfológicos e químicos, propondo a segregação de quatro novos gêneros a partir de *Hypotrachyna*: *Hypotrachynella* Marcelli & B.R. Hora, *Lyngenella* B.R. Hora & Marcelli, *Martiana* Marcelli & B.R. Hora e *Vainia* B.R. Hora & Marcelli; mesmo assim *Hypotrachyna* s.s. permaneceu um grupo complexo e provavelmente polifilético.

Conforme Hora (2015), seguem abaixo as caracterizações dos gêneros propostos:

Hypotrachynella, está relacionado ao grupo de *Hypotrachyna pluriformis* e apresenta talo folioso sublaciniado a laciniado, ramos parcialmente ascendentes, convexos a subcanaliculados e/ou produzindo lacínulos marginais convexos a subcanaliculados; córtex superior acinzentado (atranorina), acetinado cetim acima de 20× de ampliação; superfície inferior marfim a preto; rizinas curvadas com ramificação coplanar. Apotécios laminais ou subapicais com discos abertos e planos quando maduros, ascósporos elipsoides, picnídios laminais a subapicais, conídios sublageniformes e bifusiformes; ácido girofórico como principal metabólito secundário.

Lyngenella está relacionado ao grupo de *Hypotrachyna livida*, apresentando talos laciniados, com lacínios subopacos ou lustrosos, irregularmente dicotômico, cujo acetinado é muito pequeno; a medula é branca ou bicolor, a superfície inferior preta com uma zona apical marrom; rizinas ramificadas coplanares, delgadas, simples a irregulares e pouco curvadas e abundantes em toda a superfície inferior; apotécios laminais, côncavos quando jovens, fendidos desde jovem, com margem crenulada, falta de disco, ascósporos elipsoides; picnídios são subapicais, conídios filiformes retos. Os principais metabólitos secundários são o ácido livídico e substâncias do complexo "palmarum".

Vainia está relacionado ao grupo *Hypotrachyna brasiliiana*, e possui talo laciniado, dicotômico, principalmente com sobreposição lateral, acetinado em toda superfície do talo acima de 30×, sem máculas e cílios; a medula é bicolor na maioria das espécies; as rizinas são entrelaçadas, anastomosadas e curvas, simples a dicotomicamente ramificadas; o apotécio é subestipitado a adnato, cupuliforme quando jovem; os conídios filiformes curtos; produz liquexantona cortical e ácido equinocárpico medular como principais metabólitos.

A extensa revisão morfológica dos gêneros mostrou a necessidade de maior detalhamento de algumas características anatômicas, e por vezes novos termos necessitaram ser cunhados, principalmente relacionados ao córtex superior.

Estudos recentes desenvolvidos pelo Grupo de Estudos Liquenológicos (GEL) têm mostrado que o estudo da anatomia e ontogenia dos caracteres vegetativos ou de reprodução direta podem ser utilizados na separação de espécies de *Parmeliaceae* (Barbosa 2009). Várias espécies têm sido descritas ou retiradas de sinonímia devido a diferenças no desenvolvimento dessas estruturas (Barbosa 2004, 2009; Canêz 2005; Benatti 2005; Jungbluth 2006; Kitaura 2012).

Sabendo-se da importância dos caracteres anatômicos para a distinção de espécies, o objetivo deste trabalho foi descrever anatomicamente os gêneros *Hypotrachynella*, *Lyngenella* e *Vainia*, verificando se a anatomia corrobora a recente segregação desses gêneros, além de verificar se os caracteres anatômicos podem ser usados para a taxonomia destes grupos.

Material e Métodos

Coletas

As espécies foram coletadas em campos de altitude no Parque Nacional do Caparaó (ES), caatinga no Parque Nacional do Vale do Catimbau (PE), cerrado na Reserva Biológica de Mogi Guaçu (SP) e campo rupestre no município de São Tomé das Letras (MG) (Tabela 1).

Foram estudadas nove espécies dos gêneros *Hypotrachynella*, *Lyngenella* e *Vainia*: *Hypotrachynella caapora* Marcelli & B.R. Hora, *H. marcellii* B.R. Hora, *H. mogiana* B.R. Hora & Marcelli, *H. oreadica* B.R. Hora & Marcelli, *H. puiggarii*

Marcelli & B.R. Hora, *Lyngenella damazioi* Marcelli & B.R. Hora, *L. subsipmanii* B.R. Hora & Marcelli, *Vainia extraterrestris* B.R. Hora & Marcelli e *V. pernambucana* M.L.L. Buril, Marcelli & B.R. Hora. Todos holótipos foram estudados e repetições foram feitas quando possível.

Microscopia de Luz

Para as análises em Microscopia de Luz, o material foi processado de acordo com o protocolo desenvolvido por Barbosa et al.(2009) e adaptado por Zanetti et al. (2015) quanto aos tempos de desidratação e inclusão.

Foram descritos lacínios das regiões distal (mais jovem, próximo as bordas) e proximal (mais velha, próxima ao centro) do talo. Foram mensurados epicórtex, córtex superior, linha negra, cílios (quando presentes), camada de algas, medula, cristais, sorédios e/ou isídios, córtex inferior e rizinas, de acordo com o protocolo de descrição desenvolvido por Barbosa 2004.

As observações e documentação foram feitas usando microscópio de luz (Leica DMR) com câmera digital acoplada (Leica DFC 425). As medidas foram feitas em secções transversais usando programa digital de imagem LAS (Leica). As lâminas foram fotografadas com e sem filtro polarizador de luz, a fim de verificar a presença/ausência e morfologia dos cristais de ácidos liquênicos.

Para as descrições anatômicas das secções transversais foram seguidas as seguintes definições:

- **Plectênquima:** Tecido compacto formado por hifas que se tornam entrelaçadas e compactadas (Hawksworth et al. 1995)

- **Prosoplectênquima:** formado por células com paredes celulares gelatinizadas, com arranjo periclinal ou paralelo das hifas e é similar ao colênquima das plantas superiores (Ozenda 1963).
- **Prosoplectênquima compacto:** Formado por células pouco dilatadas e muito compactadas entre si. Difere do prosoplectênquima comum devido ao alto grau de compactação e a pouca (ou quase nenhuma) dilatação do lúmen das células. Normalmente neste tipo de tecido a paliçada é ausente ou pouco evidente.
- **Prosoplectênquima descontínuo:** Plectênquima descontinuado por grandes falhas verticais. A morfologia das células é semelhante à do prosoplectênquima compacto, com lúmen pouco dilatado e células muito compactadas entre si, só interrompido pelas falhas que dão nome ao tecido. Em algumas espécies, ele é formado apenas por uma camada de células.
- **Prosoplectênquima lacunoso:** Prosoplectênquima que apresenta grande quantidade de pequenos espaços intercelulares ou lacunas (Barbosa et al. 2010).
- **Aeroplectênquima:** Tecido caracterizado pela presença de grandes lacunas preenchidas de ar entre o córtex superior e a camada de algas (Barbosa 2009).

Por existirem algumas diferenças anatômicas entre os três espécimes estudados de *Lyngella damazioi*, em alguns momentos eles serão tratados separadamente como *L. damazioi* 1006, *L. damazioi* 1008 e *L. damazioi* 1029.

Resultados e Discussão

Epicórtex

O epicórtex é uma fina camada de polissacarídeos que recobre o córtex superior. Possui cerca de 0.6 μm e possui poros que auxiliam na aeração do talo, sendo assim chamado de epicórtex porado (Hale 1981).

Em todas as espécies estudadas, o epicórtex é mais espesso que em *Hypotrachyna* s.s., variando entre 1.5–2.5 μm em *Hypotrachynella*, 1.0–3.0 μm em *Lyngenella* e 1.0–2.5 μm em *Vainia*. Em *Lyngenella damazioi*, *Vainia pernambucana* e *V. extraterrestris*, o epicórtex aparece solto, como se estivesse descolado do córtex superior. Esta característica corrobora o que foi anteriormente descrito por Hale (1981).

Apesar de inicialmente se acreditar que o epicórtex seria visível apenas em microscopia eletrônica de varredura, sabe-se hoje que é uma estrutura facilmente visível em microscopia de luz (Barbosa et al. 2009a,b; Barbosa et al. 2010; Barbosa & Marcelli 2010b; Zanetti et al. 2015).

Ainda não se sabe como se dá a ontogenia do epicórtex porado (Hale 1981). No entanto, um estudo com *Hypotrachyna gigas* (Kurok.) Hale mostrou que o epicórtex começa a se diferenciar e tornar-se porado cerca de 0.3 mm da borda em crescimento do talo. Na maioria dos gêneros estudados por Hale (1973, 1981) o diâmetro médio dos poros na maturidade está entre 15.0–40.0 μm , o mesmo medido neste trabalho.

Córtex superior

O córtex superior de *Hypotrachynella* apresenta variação entre as espécies (Fig. 1). *Hypotrachynella caapora* (Figs. 1A, 1B), *H. mogiana* (Figs. 1D, 1E) e *H. puiggarii* (Figs. 1G, 1H) possuem córtex prosoplectenquimático paliçádico na região distal (mais jovem) e lacunoso na região proximal (mais velha). *Hypotrachynella marcellii* (Fig. 1C) possui córtex lacunoso e *H. oreadica* (Fig. 1F) apresenta córtex prosoplectenquimático descontínuo. Após a análise do material, infere-se que a característica padrão para o

gênero seria a apresentada por *H. caapora*, *H. mogiana* e *H. puigarii*, inferindo-se que as demais espécies não fazem parte deste gênero.

O córtex superior de *Lyngenella* varia entre as regiões jovem e velha do talo (Fig. 2). Na região distal, o córtex é prosoplectenquimático compacto e na região proximal é lacunoso, com presença de aeroplectênquima.

Já as espécies de *Vainia* apresentam córtex superior prosoplectenquimático compacto na região distal e lacunoso na região proximal (Fig. 3). *Vainia pernambucana* pode apresentar uma pequena variação cortical e o córtex superior da região distal pode variar entre prosoplectenquimático lacunoso a lacunoso em alguns pontos (Fig. 3C, 3D).

A espessura do córtex superior é variável entre as espécies. Enquanto em *Hypotrachynella* varia entre 2.5–25.0 μm , *Lyngenella* varia entre 11.0–49.0 μm e *Vainia* 9.5–21.5 μm de altura.

Em todas as espécies é possível visualizar a formação do córtex superior, que ocorre quando hifas partem da medula, atravessam a camada de algas e se ramificam para formar o córtex. Esta característica já havia sido vista em outros gêneros de Parmeliaceae, como *Canoparmelia* s.l. (Zanetti et al. 2015) e *Punctelia* (Zanetti et al. 2017).

Anatomicamente, muitos líquens têm uma estrutura que lembra as folhas da planta, interpretada como uma convergência evolutiva de órgãos folhosos totalmente diferentes em direção à eficiência da fotossíntese (Sanders 2001): como uma epiderme, o córtex superior do líquen protege as células fotossintéticas abaixo, retardando a evaporação e filtrando a radiação nociva ou excessiva com o auxílio de pigmentos e substâncias secundárias (Hale 1983).

A anatomia do córtex superior varia sensivelmente dentro de Parmeliaceae, diferindo-se principalmente pela estrutura do córtex superior (Ozenda 1963).

Acredita-se, que o córtex superior tenha função protetora, principalmente para evitar a perda de água e diminuir a intensidade da iluminação sobre a camada de algas que está imediatamente abaixo (Hale 1981). Ele é normalmente assumido como sendo a camada através da qual o oxigênio e o dióxido de carbono passam, embora alguns trabalhos indiquem que o córtex paraplectenquimático típico seja impermeável (Henssen & Jahns 1973).

Ainda sobre a função do córtex superior, foi observado por Hale (1981) que a maioria dos líquens foliosos com lobos com menos de 2–3 mm de largura (ex. *Physciaceae* e *Cetraria*) não possuem poros de aeração na superfície superior, enquanto gêneros maiores (como *Cetrelia* e *Platismatia*) com lobos de 5–20 mm têm poros especiais (pseudocifelas) que perfuram o córtex e permitem a passagem direta de gases.

A evolução de estruturas como máculas ou pseudocifelas em líquens foliosos indicam que a difusão através das camadas corticais em líquens foliosos é inadequada para suprir suas necessidades fisiológicas (Hale 1981).

Morfologicamente, *Lyngenella* apresenta quebras ramificadas na superfície superior do talo (Hora et al. 2017b no prelo). Essas quebras são reflexo das grandes lacunas formadas no córtex superior lacunoso (Fig. 2B, 2D, 2F, 2H).

Apesar de também possuir córtex lacunoso na região proximal, as lacunas formadas em *Vainia* são bem menores em relação as vistas em *Lyngenella*, o que pode explicar as “poucas quebras” mencionadas em análises morfológicas (Hora 2015).

A presença das lacunas do córtex também pode estar relacionada à necessidade fisiológica do líquen, uma vez que podem facilitar a aeração do talo.

Hora (2015) verificou a presença de pequenos pontos brilhantes na superfície dos talos, quando visualizado com estereomicroscópio. O padrão foi chamado de “acetinado” quando os pontos brilhantes são facilmente distinguíveis ao estereomicroscópio e de “aveludado” quando os pontos são difíceis de serem

visualizados. Além disso, atribuiu este padrão à estrutura cortical e convexidade do epicórtex no topo das células corticais das espécies.

A superfície do córtex superior de *Lyngenella* e *Vainia* é irregular e em alguns pontos possui aparência papiliforme (Figs. 1 e 2), também chamada por Hale (1973) de superfície nodular, sendo mais visível em regiões onde o epicórtex está ausente.

Quando a luz do estereomicroscópio incide nesta superfície, cada célula reflete a luz, dando ao talo aparência brilhante. O padrão de brilho parece variar de acordo com a quantidade e tamanho das células da superfície cortical.

A família Parmeliaceae é variável quanto a quantidade de estratos do córtex superior. Ele pode ser formado por uma ou mais camadas de células, com distintos padrões de orientação e células com diferentes espessuras de parede que variam de acordo com gêneros e espécies (Marcelli 2006; Barbosa & Marcelli 2010). Pode também ser organizado em duas camadas, uma superior contínua e uma inferior descontínua, que possuem projeções que dividem a camada de algas, dando uma aparência efigurada-maculada ao talo (Barbosa 2004).

Canoparmelia e *Crespoa* possuem córtex com estrato único (Zanetti et al. 2015). Já *Punctelia graminicola* (B. de Lesd.) Egan, *P. imbricata* Marcelli, Jungbluth & Elix e *P. roseola* Jungbluth, Marcelli & Elix possuem córtex superior biestratificado, enquanto em *P. colombiana* Sérus e *P. constantimontium* Sérus o córtex possui três camadas diferentes de células sendo, portanto, triestratificado (Zanetti et al. 2017).

Hypotrachyna protentoides 1301 possui córtex biestratificado. O estrato superior é formado por prosoplectênquima compacto, com células pequenas (menores que 2.0 µm diâm.), arredondadas e firmemente compactadas, com paliçada pouco evidente. Já o estrato inferior é formado pela compactação de hifas curtas e não dilatadas (Zanetti 2018, capítulo 1).

As espécies aqui estudadas de *Hypotrachynella*, *Lyngenella* e *Vainia* possuem córtex superior uniestratificado (Figs. 1,2 e 3).

Linha negra

As espécies de *Hypotrachyna* s.l. desenvolvem linha negra na região marginal do talo. A linha negra contorna as margens dos lacínios, como uma extensão do córtex inferior que vai até o superior e como o próprio nome diz, possui coloração negra. Ela está presente em todas as espécies de *Hypotrachynella*, *Lyngenella* e *Vainia* como escleroplectênquima contínuo que varia entre 7.0–36.0 μm de altura. A linha negra foi vista em todas as espécies, mesmo quando pouco evidente morfológicamente (Fig. 6D).

Aeroplectênquima

O aeroplectênquima é um plectênquima formado por grandes lacunas localizadas logo abaixo do córtex superior, na região de contato com as células de algas (Barbosa & Marcelli 2010). Ele está presente em algumas espécies de *Parmotrema* (Barbosa & Marcelli 2010a, b) e *Punctelia* (Barbosa 2009).

Em *Hypotrachynella marcellii* e nas espécies de *Lyngenella*, assim como em *Hypotrachyna fracta* e *H. protentoides*, o aeroplectênquima foi visto apenas na região proximal do talo (Fig. 1C, 2B, 2D, 2F, 2H).

A região proximal é a parte mais velha do talo. É nela que ocorre a senescência do líquen, com a presença de células mortas de ambos os biontes (Barbosa & Marcelli 2010a,b). Quando ocorre a morte de uma célula de alga, a lacuna deixada por ela não necessariamente será preenchida por outra e estas lacunas formarão o aeroplectênquima. As lacunas em *Lyngenella* variam entre 6.0–14.0 μm .

Camada de algas

Em *Hypotrachynella*, *Lyngenella* e *Vainia*, a disposição da camada de algas é variável. As células podem estar dispostas individualmente, em glomérulos ou em forma de camada.

Hypotrachynella caapora possui células individualmente dispostas ou em glomérulos de 2–10 células. De forma geral, a camada possui 7.5–27.5(–37.5) μm alt. As células são redondas, 2.5–7.5(–10.0) μm de diâmetro e os agrupamentos possuem cerca de 7.5–22.5 μm diâm (Fig 1A-B).

Em *H. marcellii* é formada por células individualmente dispostas ou agrupadas de 2–7(–10) células pela camada, 25.0–37.5(–62.5) μm alt., com células redondas, as individuais de 2.5–5.0(–12.5) μm de diâmetro e as dos agrupamentos possuem cerca de 12.5–15.0 μm diâm (Fig 1C).

Hypotrachynella mogiana possui células individualmente dispostas ou agrupadas, 2–4(–10) células pela camada. De forma geral, a camada possui 17.5–25.0(–50.0) μm alt. As células são redondas, as individuais de 2.5–5.0 μm de diâmetro e os agrupamentos possuem cerca de 5.0–10.0 μm diâm (Fig 1D-E).

Hypotrachynella oreadica apresenta células dispostas individualmente ou em glomérulos de 1–3(–7) céls. (10.0–20.0 μm) diâm. De forma geral, a camada possui 1–5 céls. (10.0–20.0 μm) alt. As células possuem 2.5–7.5 μm diâm. e formato arredondado. Cada agrupamento possui cerca de 7.5–20.0 μm de diâmetro (Fig 1F).

Hypotrachynella puiggarii possui células agrupadas ou empilhadas, dispostas homogeneamente pela camada com 12.5–25.0 μm alt., células menores que 2.5 μm diâm (Fig 1G-H).

Em *Lyngenella damazioi* as células podem estar dispostas individualmente ou em glomérulos de 2–8 células arredondadas com 2.0–9.0 μm diâm (Figs. 2A–F). Já em *Lyngenella subsipmanii*, estão dispostas geralmente em glomérulos de 2–8 células

arredondadas (4.0–6.0 μm diâmetro) (Figs. 2G, 2H). Em *Vainia extraterrestris* e *V. pernambucana* as células de algas estão dispostas em camada contínua de 2–7 céls., com 15.0–50.0 μm alt. As hifas que cortam a camada de algas possuem entre 1.0–3.0 μm de diâmetro (Fig. 3).

A camada de algas normalmente está localizada logo abaixo do córtex superior em um local onde as hifas são frouxamente entrelaçadas para abrigar suas células. Dificilmente as algas constituem um estrato contínuo, sendo mais comum que o fungo restrinja sua distribuição a pequenos espaços, onde elas se organizam em pequenos grupos chamados glomérulos (Marcelli 2006). Na camada de algas, o contato entre os simbiontes é variável (Jahns 1973).

Este estrato frouxo onde as células das algas estão inseridas facilita as trocas gasosas, como ocorre no mesofilo das folhas (Sanders 2001).

Greenhalgh & Anglesea (1979) encontraram uma correlação entre diâmetro das células e profundidade em que se encontram, sugerindo que as células maiores são encontradas na direção da base da camada de algas, embora nesta região haja relativamente poucas células. Aqui, no entanto, não foi possível fazer esta correlação.

Medula

Logo abaixo da camada de algas está localizada a medula. Ela é formada por hifas entrelaçadas de paredes mais espessas que a camada de algas, sendo o local de armazenamento de água e substâncias, além de constituir a maior parte do talo líquênico (Marcelli 2006).

Considerando que o plectênquima é um tipo de tecido formado por hifas entrelaçadas e compactadas (Hawksworth et al. 1995), não é possível considerar que a medula seja um tipo de plectênquima (Barbosa & Marcelli 2010).

Todas as espécies de *Hypotrachyna* possuem medula uniestratificada, formada por hifas transversais e horizontais com 2.5 µm de largura, dispostas de forma desorganizada. A espessura da medula varia entre 25.0–150.0(–175.0) µm.

A medula de *Lyngenella damazioi* 1006 é uniestratificada nas duas regiões, sendo formada por hifas transversais horizontais com 2.0–3.0 µm de largura e longitudinais, com arranjo frouxo. A variação nesta espécie é quanto à altura, que varia entre 55.0–80.0 µm na região distal e 20.0–46.0 µm na proximal (Fig. 4).

Em *Lyngenella damazioi* 1008, a medula é biestratificada na região distal, 77.0–110.0 µm de altura. O estrato superior possui arranjo mais frouxo e é composto por hifas longitudinais e transversais com 2.5–4.0 µm larg., orientadas em todas as direções. Já o inferior é mais compactado, formado por hifas transversais horizontais. A região proximal do talo é uniestratificada, 38.0–63.0 µm de altura com hifas longitudinais e transversais 1.5–3.0 µm espessura (Figs. 4B, 4C).

Lyngenella damazioi 1029 é uniestratificada na região distal, com 40.0–50.0 µm de altura, formada por hifas transversais com 2.0–3.0 µm de espessura, orientadas em todas as direções. Na região proximal é biestratificada, 90.0–110.0 µm de altura. O estrato superior é formado por hifas transversais com 2.5–3.0 µm de espessura, orientadas em todas as direções. O estrato inferior é composto por hifas longitudinais e transversais horizontais (Figs. 4D, 4E).

Lyngenella subsipmanii é uniestratificada na região distal, com 65.0–80.0 µm de altura, composta por hifas transversais, 1.0–1.5 µm de espessura, orientada em todas as direções. Já a região proximal é biestratificada com 65.0–80.0 µm de altura. A biestratificação é um diferente da vista nas demais espécies, uma vez que o estrato superior ocupa apenas 1/3 da medula, enquanto nas demais espécies os estratos ocupam cada um a metade da medula. Desta forma, o estrato superior é formado por hifas transversais horizontais e verticais, 1,0–3,0 µm de espessura, atuando diretamente na

formação do córtex superior. Já o estrato inferior é formado principalmente por hifas longitudinais com arranjo compacto (Fig. 4F, 4G)

A medula de *Vainia extraterrestris* é uniestratificada, formada por hifas transversais horizontais, verticais e inclinadas com 1.0–3.5 µm de espessura. Entre os espécimes estudados, a variação é apenas na altura. O espécime 847 possui 56.0–71.5 µm de altura na região distal e 50.0–93.0 µm na proximal, enquanto o espécime 1725 possui medula com 45.0–100.0 µm alt. (distal) e 75.0–150.0 µm alt. (proximal) (Fig. 4H).

Vainia pernambucana possui medula uniestratificada na região distal, com 50.0–125.0 µm de altura, formada por hifas longitudinais e transversais com 1.5–2.5 µm de espessura, orientadas em todas as direções. A região proximal é biestratificada, 50.0–150.0(–330.0) µm de altura, sendo o estrato superior formado por hifas longitudinais e transversais verticais, 2.5 µm de espessura, dispostas de forma desorganizada. O estrato inferior possui hifas transversais horizontais, dispostas de forma desorganizada. Há algumas hifas longas (maiores que 30.0 µm de comprimento) dispostas horizontalmente e de forma aleatória por toda a medula (Figs. 4I, 4J)

A biestratificação medular já havia sido visualizada em *Canoparmelia texana* (Tuck.) Elix & Hale e *Crespoa scrobicularis* (Kremp.) Benatti & Lendemer (Zanetti et al. 2015).

Como visto anteriormente em *Hypotrachyna* s.s., *Canoparmelia*, *Crespoa* (Zanetti et al. 2015) e *Punctelia* (Zanetti et al. 2017) esta não é uma boa característica para a distinção de espécies, já que sua variação é intraespecífica, podendo variar, inclusive, entre espécimes de uma mesma espécie.

Morfologia e distribuição dos cristais

Quando em associação, os fungos produzem uma grande quantidade de metabólitos especializados, conhecidos como metabólitos liquênicos ou ácidos liquênicos (Marcelli 2006). São quase todos os cristais extracelulares insolúveis em água depositados na superfície das hifas da medula (Hale 1983; Marcelli 2006).

Os cristais podem ser vistos com o auxílio da luz polarizada pela superfície da parede celular das hifas e não são restritos às regiões de contato entre as hifas e os fotobiontes (Barbosa 2009). Quando vistos desta forma, é possível visualizar sua morfologia e assim relacioná-la ao metabólito especializado produzido pelo fungo (Zanetti et al. 2015).

Nas espécies de *Hypotrachynella*, apenas em *H. mogiana* não foram vistos cristais. Nas demais espécies eles foram visualizados apenas com polarizador de luz (Fig. 5A–D). Eles são granulares, possuem coloração azul e/ou branca e estão localizados no córtex superior. São abundantes em *H. marcellii* (Fig. 5B) e *H. puiggarii* (Fig. 5D).

Em *Lyngenella damazioi* 1029 foi vista uma pequena quantidade de cristais granulares no córtex superior. Eles puderam ser vistos apenas com polarizador de luz, que lhes conferiu brilho azulado (Fig. 5E).

Lyngenella subsipmanii, apresenta cristais granulares abundantes. No córtex superior eles estão depositados sobre as hifas e na medula estão dispostos como um anel ao redor das hifas longitudinais. Também só foram vistos com auxílio de polarizador de luz, com brilho de coloração branco azulado (Fig. 5F).

Vainia extraterrestris 1725 apresentou cristais abundantes por todo córtex superior e medula, sendo amarelados e filiformes. Quando vistos com polarizador de luz possuem brilho branco a pouco azulado (Fig. 5G).

Vainia pernambucana possui cristais granulares e abundantes no córtex superior. Possui brilho rosado ou azulado quando vistos com polarizador de luz (Fig. 5H).

Os cristais do córtex superior possivelmente são de atranorina. Já os medulares de *Hypotrachynella* são de ácido girofórico e lecanórico, os de *Lyngenella* de ácido livídico e em *Vainia* ácido equinocárpico ou liquexantona.

Hypotrachyna s.l. é um gênero quimicamente muito diverso, sendo possível a segregação de grupos químicos e relacioná-los com a morfologia (Hale 1975). O gênero possui cerca de 109 produtos naturais conhecidos (Sipman et al. 2009).

Estruturas de reprodução direta

Os líquens produzem variadas estruturas de reprodução direta, sendo as mais comuns sorédios e isídios.

Os isídios são projeções com a mesma organização anatômica do talo, ou seja, quando se originam de um líquen com talo heterômero, possuem córtex, camada de algas e medula. Sua morfologia básica é cilíndrica, embora também possam ser achatados ou de tendência esférica, ser simples ou ramificados (Marcelli 2006).

Das espécies estudadas, apenas *Hypotrachynella caapora* e *H. puiggarii* possuem isídios.

Em *H. caapora*, os isídios são simples a ramificados, alguns constrictos na base, 62.5–120.00 µm alt. × 50.0–100.0 µm larg., com córtex prosoplectenquimático contínuo a paliçádico, 7.5–12.5 µm alt., e algas organizadas em camada com 7.5–12.5 µm alt. (Fig. 6A).

Já em *H. puiggarii* eles são simples ou dicotomicamente ramificados, 50.0–120.00 µm alt. × 40.0–50.0 µm larg., com córtex prosoplectenquimático 5.0–12.5 µm alt., e algas ocupando totalmente a medula (Fig. 6B).

Bem semelhantes aos isídios, os líquens também podem apresentar pústulas, que são inchaços que aparecem em determinados pontos dos líquens e parecem surgir do crescimento do córtex, camada de algas e parte da medula. Podem se desenvolver

como grânulos, rugas ou pequenos dedos verticais e neste último caso são chamadas de dáctilos para diferenciá-las dos isídios (Marcelli 2006). Segundo Hale (1981), dáctilos são comuns em *Hypotrachyna*, e talvez possam atuar também nas trocas gasosas.

Morfológicamente, as pústulas de *Lyngenella damazioi* são principalmente subapicais e nas cristas do lacínio, começam como esféricas a inchaços enegrecidos capitados, muitas vezes com uma superfície de verruculosa, cada verruga originando um grânulo quando as pústulas quebram ou abrem apicalmente. As margens das pústulas abertas produzem mais sorédios e crescem irregularmente como uma estrutura tanto elevada com aparência de “couve-flor” (Hora et al. 2017 no prelo) (Fig. 6C).

Aqui, as pústulas parecem se originar de dentro para fora do talo. O talo se rompe formando uma estrutura elevada com mesma estrutura talina, que se abre apicalmente originando grânulos (que possuem resquícios de córtex) e/ou sorédios (sem córtex), como visto na morfologia (Fig. 6C). As pústulas vistas em *Lyngenella* são anatomicamente semelhantes aos sorédios de *Crespoa* (Zanetti et al. 2015).

Córtex inferior

A anatomia do córtex inferior pode diferir daquela encontrada no córtex superior de uma mesma espécie (Jahns 1973). Nas espécies aqui estudadas, o córtex inferior é escleroplectenquimático contínuo, 2–7 céls (5.0–30.0 μm) de altura, formado por células pequenas e arredondadas e de coloração azul ou verde enegrecido.

Nos gêneros de Parmeliaceae estudados até agora, o córtex inferior variou entre paraplectenquimático em *Crespoa*, prosoplectenquimático em *Canoparmelia*, *Parmotrema* e *Punctelia* e escleroplectenquimático em *Hypotrachyna* (Barbosa et al. 2009a,b; Barbosa & Marcelli 2010a,b; Zanetti et al. 2015, Zanetti et al. 2017).

Rizinas

Os talos foliosos são geralmente aderidos ao substrato por rizinas (Hale 1983), que são formadas por prolongamentos de hifas conectadas e compactadas, incolores ou enegrecidas (Jahns 1973).

Acreditava-se que *Hypotrachyna* fosse um dos grupos mais bem definidos dentro de Parmeliaceae, devido a presença das rizinas dicotomicamente ramificadas (Hale 1974, 1975). No entanto, Hora et al. (2017a,b; no prelo) encontrou ampla variação nas rizinas, podendo haver ramificação coplanar (ramos num mesmo plano) ou arbuscular; serem retas, curvas ou recurvadas; entrelaçadas ou não; serem gomosas (cobertas de uma substância com aspecto de cola) ou não, ou serem anastomosadas.

As rizinas em *Hypotrachynella*, *Lyngenella* e *Vainia* são simples ou dicotomicamente ramificadas, inteiramente corticadas e da mesma coloração do córtex inferior, formadas pela justaposição de 5–15 hifas paralelas (Figs. 4K, 4L). Por serem espécies saxícolas (que crescem sobre rochas) a coleta ocasiona danos às rizinas, que na maior parte do material estudado estava cortada ou quebrada. Desta forma, optamos por medi-las apenas na base, onde possuem 38.0–110.0 µm de largura.

Considerações Finais

Estudos filogenéticos recentes indicaram que *Hypotrachyna* é um gênero polifilético e que necessitava de revisão. Por meio de estudos taxonômicos, químicos e anatômicos este gênero foi rearranjado e segregado em 4 gêneros, além de *Hypotrachyna* s.s.

O estudo anatômico desses gêneros permitiu concluir que as características anatômicas do córtex superior são constantes para cada gênero estudado e possui valor

taxonômico, corroborando com a recente segregação de *Hypotrachynella*, *Lyngenella* e *Vainia* de *Hypotrachyna*. No entanto, as características anatômicas não foram suficientes para separar *Lyngenella* e *Vainia*, que apresentam características muito parecidas entre si, como o córtex superior, por exemplo.

A anatomia também foi eficiente para elucidar algumas dúvidas que não puderam ser resolvidas com análises morfológicas. A principal destas características foi o padrão acetinado e aveludado, que confirmou-se ser o reflexo da superfície convexa das hifas do córtex superior.

Por variarem entre espécies e as regiões do talo, a camada de algas, medula e o córtex inferior não são caracteres que possam ser usados para distinção das espécies.

Agradecimentos

A CAPES pela bolsa de doutorado concedida à Camila Aparecida Zanetti, ao CNPq por bolsa de produtividade à Marcelo P. Marcelli e ao Laboratório de Pesquisas em Anatomia Vegetal – LAPAV, por disponibilizar infraestrutura e material de consumo para o desenvolvimento deste trabalho.

Referências Bibliográficas

- Barbosa, S. B. & Marcelli, M. P. 2010a. Comparative thallus anatomy of two *Parmotrema* (*Parmeliaceae*, lichenized Ascomycetes) with reticulate maculae. *Acta botanica brasílica* 24: 803–811.
- Barbosa, S. B. & Marcelli, M. P. 2010b. Considerações sobre a definição de epicórtex. *Glalia* 3: 1–11.

Barbosa, S. B. 2004. Estudos anatômicos em quatro espécies de *Parmeliaceae* (*Ascomycota* liquenizados). Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista – UNESP, Botucatu.

Barbosa, S. B. 2009. Aplicabilidade taxonômica de variações anatômicas em fungos liquenizados. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista – UNESP, Botucatu.

Barbosa, S. B., Marcelli, M. P. & Machado, S. R. 2009a. Evaluation of different protocols for anatomical studies in *Parmeliaceae* (lichenized *Ascomycota*). *Micron* 40: 218–225.

Barbosa, S. B., Marcelli, M. P. & Machado, S. R. 2009b. Thallus structure and isidium development in two *Parmeliaceae* species (lichenized *Ascomycota*). *Micron* 40: 536–542

Barbosa, S. B., Marcelli, M. P. & Machado, S. R. 2010. Thallus anatomy of *Canoparmelia texana* (*Parmeliaceae*, lichenized *Ascomycota*). *Biota Neotropica* 10: 150–154.

Benatti, M. N. 2005. Os gêneros *Canomaculina*, *Parmotrema* e *Rimelia* (*Parmeliaceae*, *Ascomycetes*) no litoral centro-sul do Estado de São Paulo. Dissertação de mestrado. Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo.

Canêz, L. S. 2005. A família *Parmeliaceae* na localidade de Fazenda da Estrela, município de Vacaria, Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação de mestrado. Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo.

Divakar, P. K., Crespo, A., Blanco, O. & 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.

Divakar, P. K., Lumbsch, H. T., Ferencova, Z., Del Prado, R. & Crespo, A. 2010. Remototrachyna, a newly recognized tropical lineage of lichens in the *Hypotrachyna*

clade (Parmeliaceae, Ascomycota), originated in the Indian subcontinent. *American Journal of Botany* 97: 579–590.

Divakar, P. K. Crespo, A., Núñez-Zapata, J., FLAKUS, A., Sipman, H. J. M., Elix, J. A. & Thorsten Lumbsch, H. 2013. A molecular perspective on generic concepts in the *Hypotrachyna* clade (Parmeliaceae, Ascomycota). *Phytotaxa* 132 (1), 21–38.

G. N. Greenhalgh & Anglesea, D. 1979. The distribution of algal cells in lichen thalli. *Lichenologist* 11(3): 283–292.

Hale, M. E. 1973a. Growth. In: Ahmadjian, V. & Hale, H.E. *The lichens*. Academic Press, New York: pp. 473–492.

Hale, M. E. 1973b. Fine structure of cortex in the family Parmeliaceae viewed with the scanning electron microscope. *Smithsonian Contributions to Botany* 10:1–92.

Hale, M. E. 1974. Delimitation of the lichen genus *Hypotrachyna* (Vainio) Hale. *Phytologia* 28 (4): 340–342.

Hale, M. E. 1975. A revision of the lichen genus *Hypotrachyna* (Parmeliaceae) in Tropical America. *Smithsonian Contributions to Botany* 25, 1–73.

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*. 3rd ed. Edward Arnold, London. 190 p.

Hawksworth, D. L., Kirk, P. M., Sutton, B. C. & Pegler, D. N. 1995. *Dictionary of the Fungi*. 8th Edn. International Mycological Institute, CAB International.

Henssen, A. & Jahns, H. M. 1974. *Lichenes. Eine Einführung in die Flechtenkunde*. Thieme. Stuttgart.

Hora, B. R. 2015. Estudos taxonômicos em espécies de *Hypotrachyna* (fungos liquenizados, Parmeliaceae) saxícolas do sudeste brasileiro. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista – UNESP, Botucatu.

- Hora B. R., Marcelli M. P. & Kitaura M. J. 2017a – *Vainia*, a new genus segregated from *Hypotrachyna* (Parmeliaceae). *Hoehnea*. In press.
- Hora B. R., Marcelli M. P. & Kitaura M. J. 2017b. *Lyngenella*, a new genus segregate from *Hypotrachyna* (Parmeliaceae). *Mycosphere*. In press.
- Jahns, H. M. 1973. Anatomy, morphology and development. *In: The Lichens*. Ahmadjian, V. & Hale, M.E (eds.). Academic Press, London, pp. 3–57.
- Johansen, D. A. 1940. Plant microtechnique. Mc Graw-Hill, New York.
- Jungbluth, P. 2006. A família Parmeliaceae (fungos liquenizados) em cerrados do Estado de São Paulo, Brasil. Dissertação de mestrado. Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo.
- Kitaura, M. J. 2012. Estudos taxonômicos de *Leptogium* (Ach.) S.F. Gray (Collemataceae, fungos liquenizados). Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista – UNESP, Botucatu.
- Lücking, R., Hodkinson, B. P. & Leavitt, S. D. The 2016 classification of lichenized fungi in the Ascomycota and Basidiomycota – Approaching one thousand genera. *The Bryologist*, 119 (4): 361–416.
- Marcelli, M. P. 2006. Fungos Liquenizados. *In: Xavier Filho, L. (ed.). Biologia de Liquens*, João Pessoa, pp. 1–25.
- O'Brien, T. P., Feder, N. & McCully, M. E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 63: 443–478.
- Ozenda, P. 1963 *Lichens: Traité d'anatomie végétale*. Gebrüder Borntraeger. Nikolassee.
- Sanders, W. 2001. Lichens: The Interface between Mycology and Plant Morphology. *Bioscience* 51: 1025–1035.
- Sipman, H. J., Elix, J. A. & Nash III, T. H. 2009. *Hypotrachyna* (Parmeliaceae Lichenized Fungi). *Flora Neotropica Monograph* 104. 166p.

Zanetti, C. A., Jungbluth, P. & Marcelli, M. P. 2015. Comparative anatomy in *Canoparmelia* and *Crespoa* species (Parmeliaceae, lichenized fungi). *Bryologist* 118(2): 184–194

Zanetti, C. A., Barbosa, S. B., Adachi, S. A. & Marcelli, M. P. 2017. Pseudocyphellae ontogeny and thallus anatomy in *Punctelia* Krog species (Parmeliaceae, lichenized Ascomycota). *Acta Botanica Brasilica*. 31(1): 51–57.

Tabela 1. Material estudado

Espécie	Material examinado	Local de coleta	Coordenadas	Tipo de tipo
<i>H. caapora</i>	M.P. Marcelli 42877	Brasil, São Paulo, Município de Martinho Prado, Reserva Biológica de Mogi Guaçu Brasil, São Paulo	22°21'44"S 46°56'46"O	Holótipo
<i>H. marcellii</i>	M.P. Marcelli 42845	Brasil, São Paulo, Município de Martinho Prado, Reserva Biológica de Mogi Guaçu	22°21'44"S 46°56'46"O	Holótipo
<i>H. mogiana</i>	M.P. Marcelli 42899	Brasil, São Paulo, Município de Martinho Prado, Reserva Biológica de Mogi Guaçu	22°21'44"S 46°56'46"O	Holótipo
<i>H. oreadica</i>	M.P. Marcelli 42849	Brasil, São Paulo, Município de Martinho Prado, Reserva Biológica de Mogi Guaçu	22°21'44"S 46°56'46"O	Holótipo
<i>H. puigarii</i>	M.P. Marcelli 42855	Brasil, São Paulo, Município de Martinho Prado, Reserva Biológica de Mogi Guaçu	22°21'44"S 46°56'46"O	Holótipo
<i>L. damazioi</i>	B.R. Hora 1006	Brasil, Espírito Santo, Município de Santa Marta, Parque Nacional do Caparaó	20°29.88.9'S 41°43.99.2'O	Parátipo
	B.R. Hora 1008	Brasil, Espírito Santo, Município de Santa Marta, Parque Nacional do Caparaó	20°29.88.9'S 41°43.99.2'O	Parátipo
	B.R. Hora 1029	Brasil, Espírito Santo, Município de Santa Marta, Parque Nacional do Caparaó	20°29.88'S 41°43.99'O	Holótipo
<i>L. subsipmanii</i>	B.R. Hora 1154	Brasil, Espírito Santo, Município de Alto Caparaó, Parque Nacional do Caparaó	20°27.48'S 41°48.55'O	Holótipo
<i>V. extraterrestres</i>	B.R. Hora 847	Brasil, Minas Gerais, Município de São Thomé das Letras	21°42'53.5"S	Parátipo

			44°58'53.4"O	
	B.R. Hora 1725	Brasil, Minas Gerais, Município de São Thomé das Letras	21°42'53.5"S 44°58'53.4"O	Holótipo
<i>V. pernambucana</i>	B.R. Hora 736	Brasil, Pernambuco, Município de Buíque, Parque Nacional do Catimbau	8°30'57"S 37°20'59"O	Holótipo

Tabela 2. Principais características anatômicas das espécies

Espécies	Espécimes	Epicórtex (altura)	Córtex superior		Aeroplectênquima	Camada de algas (disposição das células)
			Distal	Proximal		
<i>H. caapora</i>	42877	1,5–2,5 µm	Prosoplectênquima paliçádico	Lacunoso	Ausente	Individuais ou glomérulos
<i>H. marcellii</i>	42845	1,5–2,5 µm	Lacunoso	Lacunoso	Presente	Individuais ou glomérulos
<i>H. mogiana</i>	42899	1,5–2,5 µm	Prosoplectênquima paliçádico	Lacunoso	Ausente	Camada
<i>H. oreadica</i>	42849	1,5–2,5 µm	Prosoplectênquima descontínuo	Prosoplectênquima descontínuo	Ausente	Camada
<i>H. puigarii</i>	42855	1,5–2,5 µm	Prosoplectênquima paliçádico	Lacunoso	Ausente	Camada
<i>Lyngenella damazioi</i>	1006	1,5–2,5 µm	Prosoplectênquima compacto	Prosoplectênquima compacto a lacunoso	Presente	Camada
	1008	1,0–1,5 µm	Prosoplectênquima compacto	Lacunoso	Presente	Camada

	1029	1,0–2,5 µm	Prosoplectênquima compacto	Prosoplectênquima compacto a lacunoso	Presente	Camada
<i>L. subsipmanii</i>	1154	1,5–3,0 µm	Prosoplectênquima compacto	Prosoplectênquima compacto a lacunoso	Presente	Glomérulos
<i>Vainia extraterrestres</i>	847	1,5–2,5 µm	Lacunoso	Lacunoso	Ausente	Camada
	1725	2,0–3,0 µm	Lacunoso	Lacunoso	Ausente	Camada
<i>V. pernambucana</i>	736	1,0–2,5 µm	Prosoplectênquima compacto a lacunoso	Lacunoso	Ausente	Camada

Tabela 2 (continuação). Principais características anatômicas das espécies

Espécies	Espécimes	Medula		Cristais (formato e disposição)	Córtex inferior	Rizinas
		Distal	Proximal			
<i>H. caapora</i>	42877	Uniestratificada	Uniestratificada	Granulares Córtex superior	Escleroplectênquima contínuo	Simples ou dicotomicamente ramificadas, corticadas
<i>H. marcellii</i>	42845	Uniestratificada	Uniestratificada	Granulares Córtex superior	Escleroplectênquima contínuo	Simples ou dicotomicamente ramificadas, corticadas
<i>H. mogiana</i>	42899	Uniestratificada	Uniestratificada	Não vistos	Escleroplectênquima contínuo	Simples ou dicotomicamente ramificadas, corticadas
<i>H. oreadica</i>	42849	Uniestratificada	Biestratificada	Granulares Córtex superior	Escleroplectênquima contínuo	Simples ou dicotomicamente ramificadas, corticadas
<i>H. puigarii</i>	42855	Uniestratificada	Uniestratificada	Granulares Córtex superior	Escleroplectênquima contínuo	Simples ou dicotomicamente ramificadas, corticadas
<i>L. damazioi</i>	1006	Uniestratificada	Uniestratificada	Não vistos	Escleroplectênquima contínuo	Simples ou dicotomicamente ramificadas, corticadas
	1008	Biestratificada	Uniestratificada	Não vistos	Escleroplectênquima contínuo	Simples, corticadas

	1029	Uniestratificada	Biestratificada	Granulares Córtex superior	Escleroplectênquima contínuo	Simples, corticadas só na base
<i>L. subsipmanii</i>	1154	Uniestratificada	Biestratificada	Granulares, córtex superior e medula	Escleroplectênquima contínuo	Simples, Corticadas
	847	Uniestratificada	Uniestratificada	Não vistos	Escleroplectênquima contínuo	Simples, Corticadas
<i>V. extraterrestris</i>	1725	Uniestratificada	Uniestratificada	Filiformes Córtex superior e medula	Escleroplectênquima contínuo	Simples, Corticadas
<i>V. pernambucana</i>	736	Uniestratificada	Biestratificada	Granulares Córtex superior	Escleroplectênquima contínuo	Simples, Corticadas

Lista de Figuras

Figura 1 – Secções transversais mostrando a variação cortical em *Hypotrachyna*.

A. Região distal de *H. caapora* – córtex prosoplectênquima paliçádico; B. Região proximal de *H. caapora* – córtex lacunoso; C. Córtex lacunoso de *H. marcellii*, que não apresenta variação entre as regiões do talo; D. Região distal de *H. mogiana* – córtex prosoplectênquima paliçádico; E. Região proximal de *H. mogiana* – córtex lacunoso; F. Córtex prosoplectenquimático descontínuo de *H. oreadica*, que também não apresenta variação entre as regiões do talo; G. Região distal de *H. puiggarii* – prosoplectênquima paliçádico ; H. Região proximal de *H. puiggarii* com córtex lacunoso; Legendas – córtex superior (uc), camada de algas (al), medula (me). Escalas – 50 µm.

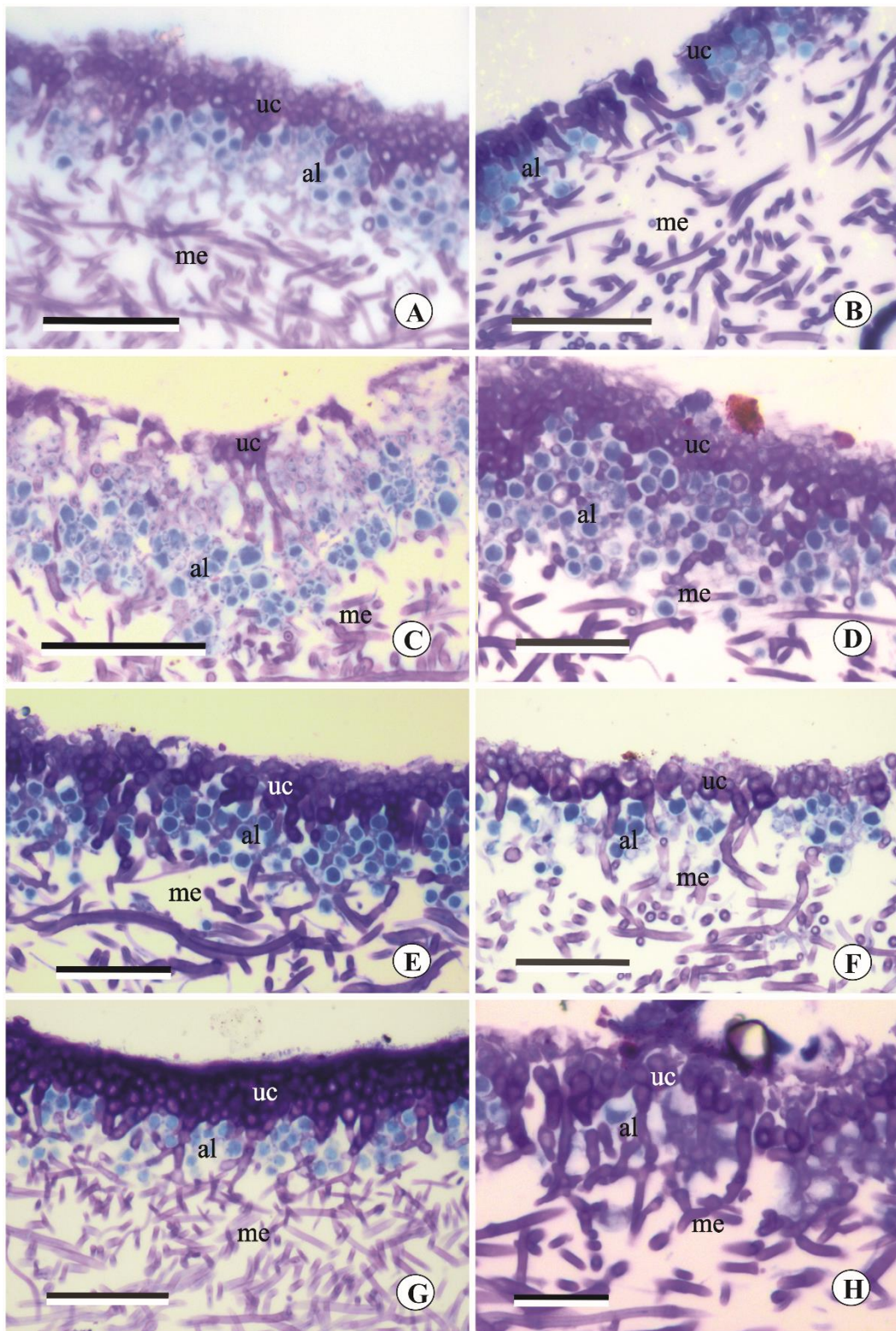


Figura 2 – Secções transversais mostrando variação do córtex superior em *Lyngenella*.

A. Região distal de *L. damazioi* 1006 – córtex prosoplectenquimático compacto; B. Região proximal de *L. damazioi* 1006 – córtex lacunoso ; C. *L. damazioi* 1008 (distal) – córtex prosoplectenquimático compacto, mostrando epicórtex; D. *L. damazioi* 1008 (proximal) – córtex lacunoso, com aeroplectênquima; E. *L. damazioi* 1029 (distal) – córtex prosoplectenquimático compacto; F. *L. damazioi* 1029 (proximal) – córtex prosoplectenquimático compacto a lacunoso e aeroplectênquima; G. *L. subsipmanii* (distal) – córtex prosoplectenquimático compacto; H. *L. subsipmanii* (proximal) – córtex prosoplectenquimático compacto a lacunoso com aeroplectênquima. Legendas – córtex superior (uc), camada de algas (al), epicórtex (cabeça de seta), aeroplectênquima (asteriscos). Escalas – 50 µm.

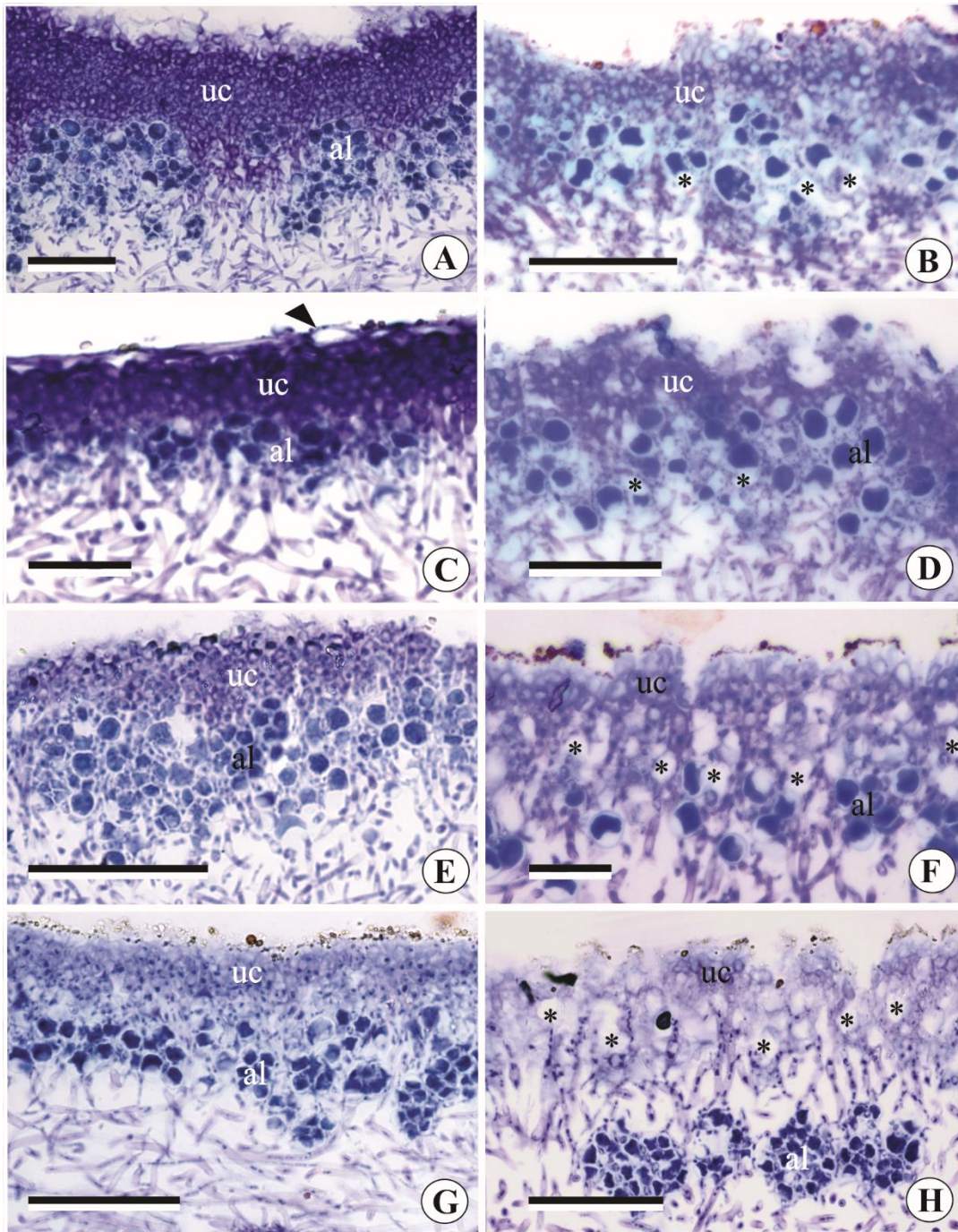


Figura 3 – Secções transversais mostrando o córtex superior lacunoso em *Vainia*. A. *Vainia extraterrestris* 847; B. *V. extraterrestris* 1725; C. *V. pernambucana*; D. *V. pernambucana* evidenciando a presença de epicórtex. Legendas – córtex superior (uc), camada de algas (al), epicórtex (cabeça de seta). Escalas – A, C: 20 µm; B, D: 50 µm.

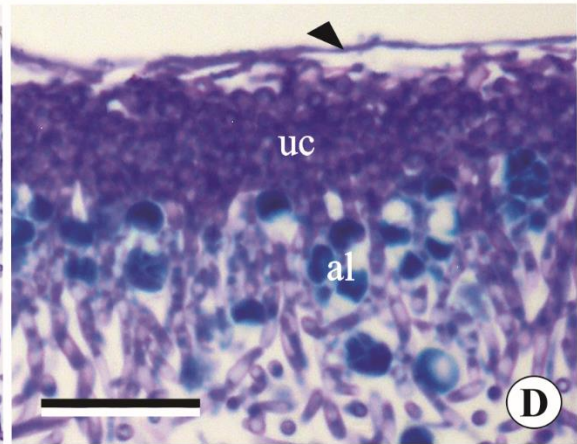
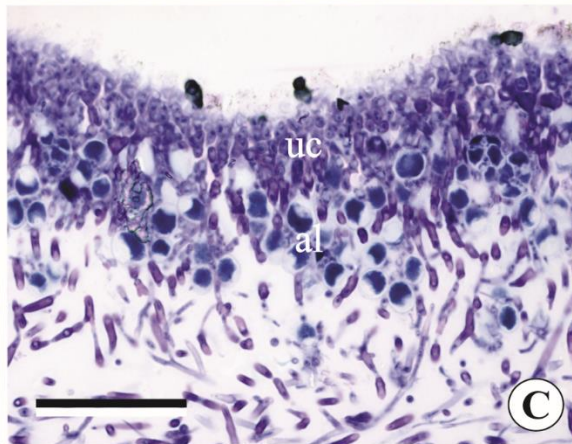
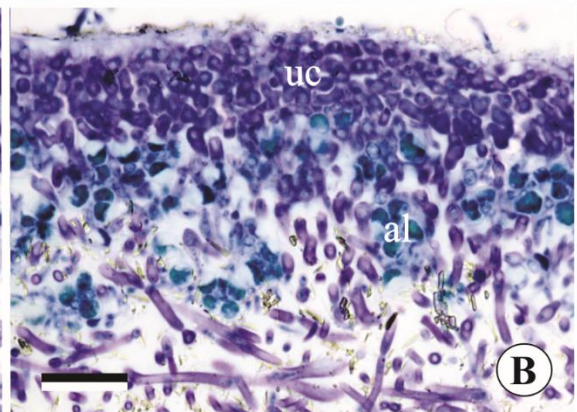
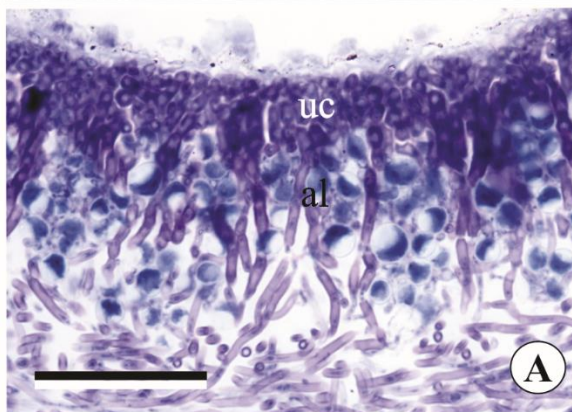


Figura 4 – Variação medular entre as regiões do talo e tipos de rizinas em *Lyngenella* e *Vainia*. A. *L. damazioi* 1006, uniestratificada; B. *L. damazioi* 1008 distal, biestratificada; C. *L. damazioi* 1008 proximal, uniestratificada; D. *L. damazioi* 1029 distal, uniestratificada; E. *L. damazioi* 1029 proximal, biestratificada; F. *L. subsipmanii* distal, uniestratificada; G. *L. subsipmanii* proximal, biestratificada; H. *V. extraterrestris*, uniestratificada; I. *V. pernambucana* distal, uniestratificada; J. *V. pernambucana proximal*, biestratificada; K. Rizina dicotomicamente ramificada de *L. damazioi* 1006; L. Rizina simples de *V. extraterrestris* 847. Legendas – os estratos medulares são indicados por estrelas. Escalas – A–J, L: 25 µm; K: 50 µm.

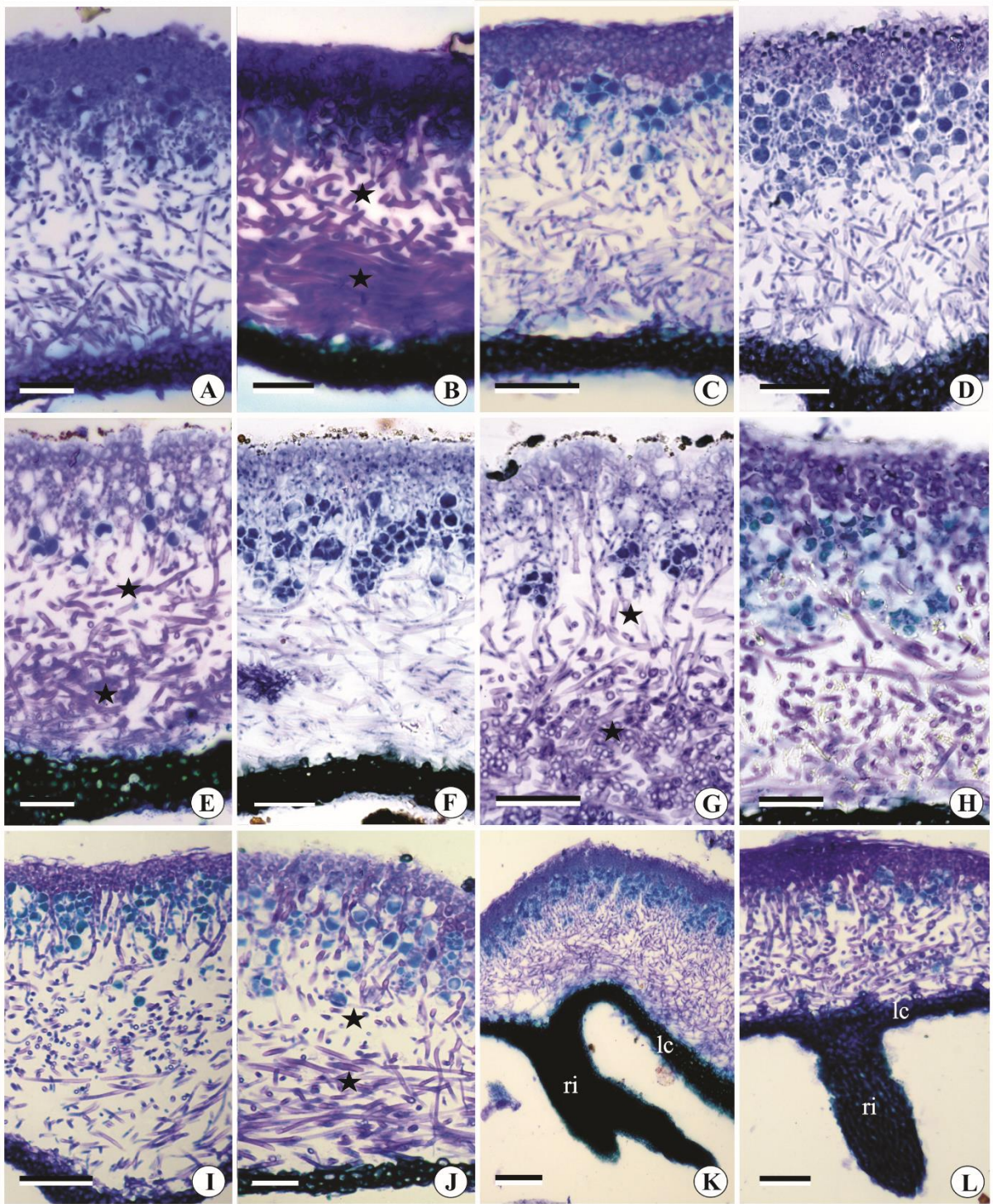


Figura 5 – Cristais. A–D Cristais granulares no córtex superior de *Hypotrachynella*. A. *H. caapora*; B. *H. marcellii*; C. *H. oreadica*; D. *H. puigarii*. E. Cristais granulares no córtex superior de *L. damazioi*; F. Cristais granulares no córtex superior de *L. subsipmanii*; G. Cristais filiformes na medula de *V. extraterrestris* 1725; H. Cristais granulares no córtex superior de *V. pernambucana*. As imagens foram feitas com auxílio de polarizador de luz. Note a diferença na cor do brilho em H. Legendas– córtex superior (uc), medula (me), córtex inferior (lc). Escalas – B, C, G: 20 μm ; A, D, E, F, H: 40 μm .

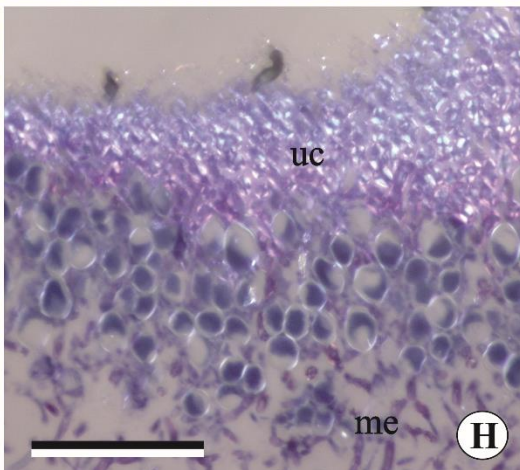
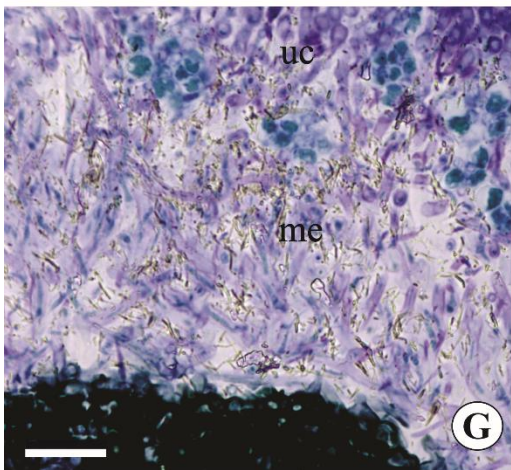
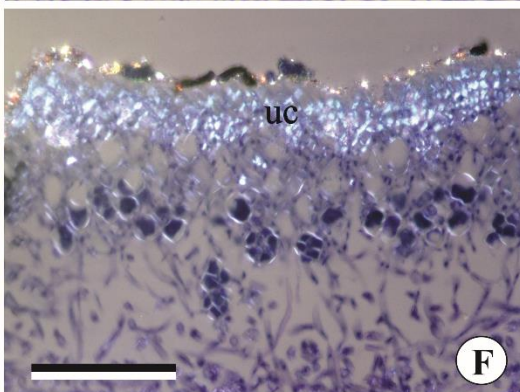
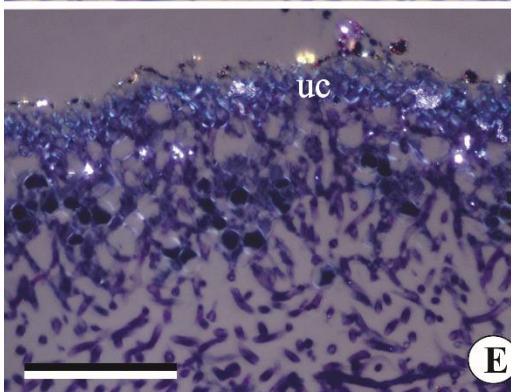
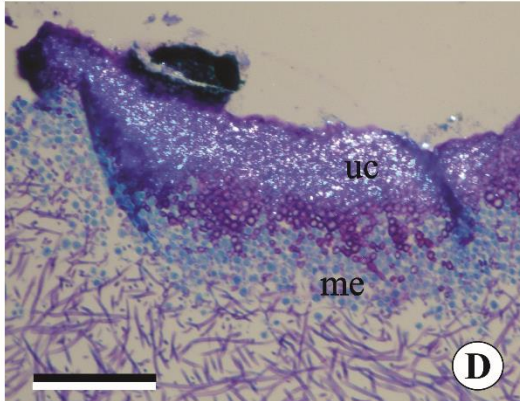
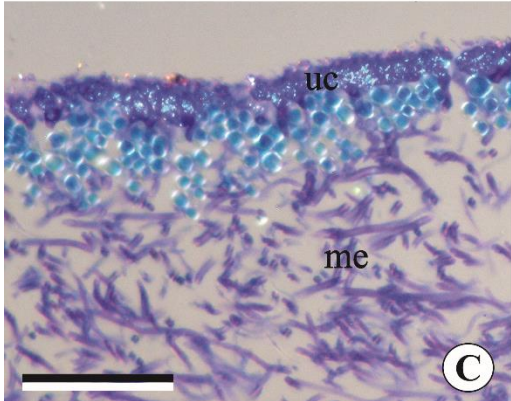
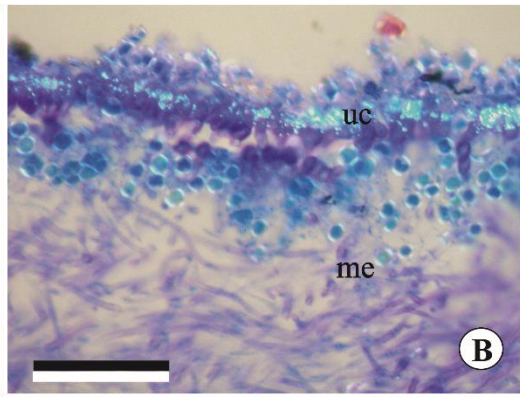
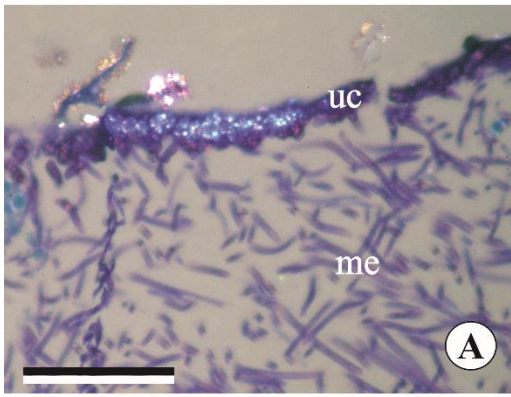
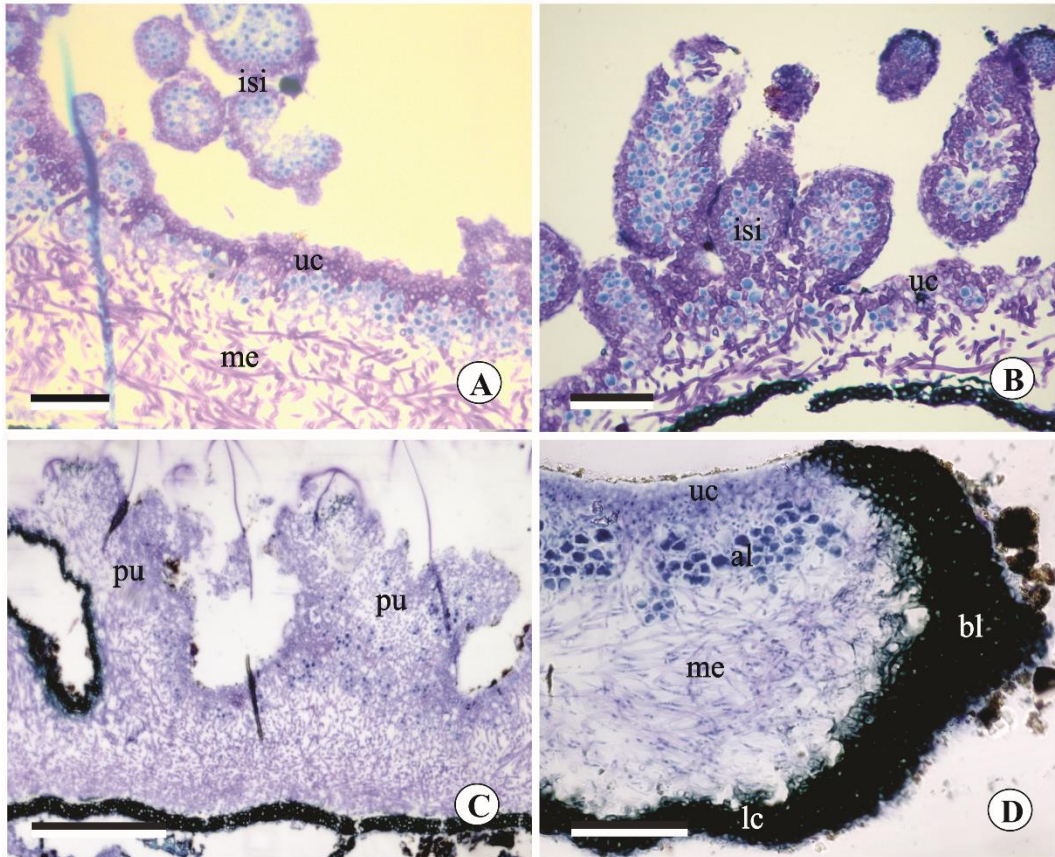


Figura 6. Outras estruturas talinas. A. Isídios em *H. caapora*; B. Isídios de *H. puigarii*; C. Pústulas em *L. damazioi*; D. Linha negra encontrada na maioria das espécies de *Hypotrachyna* s.l. Legendas– córtex superior (uc), medula (me), córtex inferior (lc), isídios (isi), pústulas (pu), linha negra (bl). Escalas – A, B: 40 µm; C: 200 µm, D: 50 µm



CAPÍTULO 3

A anatomia corrobora a recente sinonimização de *Parmelinopsis* em *Hypotrachyna*?

Camila Aparecida Zanetti^{1,*}, Marcelo Pinto Marcelli² & Patricia Jungbluth³

¹. Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 18618-970, Botucatu, SP, Brasil; ² Instituto de Botânica, Micologia, Av. Miguel Stéfano 3687, 04301-902, São Paulo, SP, Brasil; ³ Departamento de Zootecnia e Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Maria, 98300-000, Palmeira das Missões, RS, Brasil.

* Autor para correspondência: camilazanetti11@yahoo.com.br

Resumo: *Parmelinopsis* foi descrito por Elix e Hale em 1987 como um dos gêneros segregados de *Parmelina* e abriga 20 espécies em todo o mundo, das quais ao menos seis são encontradas no Brasil. É superficialmente similar a *Hypotrachyna* e estudos moleculares colocaram *Parmelinopsis*, juntamente com *Everniastrum* e *Cetrariastrum*, como subgêneros de *Hypotrachyna*, nome sob o qual foram enfim sinonimizados. No entanto, normalmente afirma-se a necessidade de estudos adicionais que confirmem essa sinonimização. Foram estudadas cinco espécies de *Hypotrachyna* (*Parmelinopsis*) cujas amostras foram coletadas no Parque Nacional da Serra dos Órgãos (RJ), Parque Natural do Caraça (MG), Fazenda Palmeira da Serra (Pratânia, SP), Estação Experimental de Itirapina (SP) e municípios de Santa Cruz do Sul (RS) e Abelardo Luz

(SC). Diferente do que foi visto em *Hypotrachyna* s.l., as espécies estudadas não possuem um padrão definido de córtex superior e variam entre espécimes da mesma espécie. Além disso, não foi possível definir qual o seria o córtex superior padrão em *Hypotrachyna* (*Parmelinopsis*). Pelas características corticais serem diferentes daquelas encontradas em *Hypotrachyna* s.s., concluiu-se que a anatomia não corrobora com a sinonimização de *Parmelinopsis* em *Hypotrachyna*.

Palavras-chave: Anatomia comparada, córtex superior, líquens, plectênquima,

Introdução

Parmelinopsis foi descrito por Elix e Hale (1987), como um dos gêneros segregados de *Parmelina*. Contém 20 espécies em todo o mundo, das quais 17 são distribuídas nas Américas, Austrália e África do Sul (Elix 1994), sendo ao menos 6 dessas encontradas no Brasil (Jungbluth 2006). A maioria das espécies ocorre em florestas tropicais úmidas temperadas, subtropicais e montanas, na casca das árvores e, menos frequentemente, nas rochas (Elix 1994).

Morfologicamente possui ramos tipicamente sublineares alongados (lacínios), dicotomicamente divididos e truncados nos ápices, aparecendo como um gênero superficialmente similar a *Hypotrachyna* (Krog & Swinscow 1979). No entanto, *Hypotrachyna* se distingue pelos lacínios maiores, mais rígidos e geralmente mais amplos, e a presença de rizinas e dicotomicamente ramificadas. Os conídios de *Hypotrachyna* são baciliformes ou levemente bifusiformes, enquanto os de *Parmelinopsis* são geralmente cilíndricos. Além disso, em *Parmelinopsis*, o orcinol tridepsídeo do ácido girofórico - ácido hiáscico - é preponderante e ocorre em várias

combinações de espécies, enquanto em *Hypotrachyna* são encontrados mais de 110 produtos naturais conhecidos (Sipman *et al.* 2009).

Posteriormente, estudos moleculares colocaram *Parmelinopsis* junto com *Everniastrum* e *Cetrariastrum* como subgêneros de *Hypotrachyna* (Divakar *et al.* 2006, Hawksworth *et al.* 2011) e finalmente (Divakar *et al.* 2013) estes quatro gêneros foram enfim sinonimizados. No entanto, esses mesmos autores afirmaram que haveria necessidade de estudos adicionais que confirmassem esta sinonimização.

Estudos recentes têm mostrado que a anatomia pode ser utilizada na separação de espécies de *Parmeliaceae* (Barbosa 2004, 2009; Zanetti *et al.* 2015, 2017) e os resultados têm sido cada vez mais satisfatórios.

O córtex superior tem se mostrado cada vez mais importante na distinção de gêneros em *Parmeliaceae*. Por meio de estudos anatômicos, foram descritos vários tipos de córtex, como por exemplo, em *Canoparmelia texana* (Tuckerman) Elix & Hale (Barbosa *et al.* 2010), que apresenta córtex lacunar, com grande quantidade de espaços intercelulares (lacunas); o escleroplectênquima, similar ao esclerênquima das plantas, encontrado em espécies de *Leptogium* (Kitaura 2012) e prosoplectênquima compacto, encontrado em espécies de *Hypotrachyna* s.s. (Zanetti 2018, capítulo 1).

Além disso, por meio das características anatômicas, principalmente relacionadas ao córtex superior, foi possível confirmar a separação de *Canoparmelia* e *Crespoa*, mostrando ainda que, *Crespoa* é um gênero bem definido e com características bem estabelecidas, enquanto *Canoparmelia* é formada por grupo de espécies, com características variáveis dentro do gênero (Zanetti *et al.* 2015).

Em seus trabalhos, Barbosa (Barbosa & Marcelli 2009, 2010; Barbosa *et al.* 2009, 2010) e Zanetti (Zanetti *et al.* 2015, Zanetti *et al.* 2017), descreveram detalhadamente as características do córtex superior de todas as espécies trabalhadas,

mostrando as variações ocorridas dentro de grupos de espécies e descrevendo várias estruturas inéditas, fornecendo subsídio para muitos trabalhos taxonômicos nos gêneros *Canoparmelia*, *Crespoa*, *Hypotrachyna*, *Parmelinopsis* (atualmente *Hypotrachyna*), *Parmotrema*, *Punctelia* e *Rimelia* (atualmente *Parmotrema*).

Tendo em vista as diferenças morfológicas e químicas conhecidas entre *Hypotrachyna* e *Parmelinopsis*, este estudo tem como objetivo verificar se a anatomia corrobora esta sinonimização.

Material e Métodos

Foram estudadas cinco espécies de *Hypotrachyna* (*Parmelinopsis*): *Hypotrachyna* sp.1, *H.* sp.2, *H. aff. horrescens* (Taylor) Elix & Hale, *H. aff. subfatiscens* (Kurok.) Elix & Hale, *H. minarum* (Vainio) Elix & Hale.

As amostras foram coletadas no Parque Nacional da Serra dos Órgãos (RJ), Parque Natural do Caraça (MG), Fazenda Palmeira da Serra (Pratânia, SP), Estação Experimental de Itirapina (SP) e municípios de Santa Cruz do Sul (RS) e Abelardo Luz (SC) (Tabela 1).

Todo material foi preparado de acordo com o protocolo desenvolvido por Barbosa *et al.* (2009) e adaptado por Zanetti *et al.* (2015).

Foram descritos lacínios das regiões distal (mais jovem, próximo as bordas) e proximal (mais velha, próxima ao centro) do talo. Foram medidos epicórtex, córtex superior, linha negra, cílios (quando presentes), camada de algas, medula, cristais, sorédios e/ou isídios, córtex inferior e rizinas, de acordo com o protocolo de descrição desenvolvido por Barbosa 2004.

As observações e documentação foram feitas usando microscópio de luz (Leica DMR) com câmera digital acoplada (Leica DFC 425). As medidas foram feitas em secções transversais usando programa digital de imagem (LAS - Leica).

As lâminas foram fotografadas com e sem filtro polarizador de luz, a fim de verificar a presença e morfologia dos cristais de ácidos liquênicos.

Algumas definições adicionais se mostram necessárias para evitar confusão com nomenclatura descritiva existente. São elas:

- **Plectênquima:** Tecido compacto formado por hifas que se tornam entrelaçadas e compactadas (Hawksworth et al. 1995).
- **Córtex desestruturado:** as hifas se agrupam de forma desorganizada e sem padrão definido, podendo haver falhas e cavidades. Neste tipo de córtex não há formação de plectênquima.
- **Prosoplectênquima:** formado por células com paredes celulares gelatinizadas, com arranjo periclinal ou paralelo das hifas e é similar ao colênquima das plantas superiores (Ozenda 1963).
- **Prosoplectênquima compacto:** Formado por células pouco dilatadas e muito compactadas entre si. Difere do prosoplectênquima comum devido ao alto grau de compactação e a pouca (ou quase nenhuma) dilatação do lúmen das células. Normalmente neste tipo de tecido a paliçada é ausente ou pouco evidente.
- **Prosoplectênquima descontínuo:** Plectênquima descontinuado por grandes falhas verticais. A morfologia das células é semelhante à do prosoplectênquima compacto, com lúmen pouco dilatado e células muito compactadas entre si, só interrompido pelas falhas que dão nome ao tecido. Em algumas espécies, ele é formado apenas por uma camada de células.

- **Aeroplectênquima:** tecido caracterizado pela presença de grandes lacunas preenchidas de ar (Barbosa 2009).

Resultados e Discussão

Epicórtex

O epicórtex é uma fina camada de polissacarídeos que recobre o córtex superior (Hale 1973). As espécies da família *Parmeliaceae* não pseudocifeladas apresentam sempre epicórtex porado, e 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 (Hale 1981).

Em todas as espécies aqui estudadas, o epicórtex é visível e possui cerca de 1µm de espessura (Figs. 1 e 2). No entanto, e assim como visto por Hale (1981), o epicórtex aparece pouco aderido e algumas vezes se descolando do córtex superior.

Córtex superior

Foi possível observar a formação do córtex superior em todas as espécies estudadas. A formação do córtex superior se dá quando hifas transversais partem verticalmente da medula e atravessam a camada de algas em direção ao córtex superior. Esta característica já havia sido observada em outros gêneros de *Parmeliaceae*, como *Canoparmelia* (Zanetti et al. 2015), *Punctelia* (Zanetti et al. 2017) e *Hypotrachyna* s.l. (Zanetti 2018, capítulos 1 e 2).

Hypotrachyna sp. 1 possui córtex prosoplectenquimático paliçádico, formado por células arredondadas, pouco dilatadas e levemente espaçadas, com 1–4 células (5.0–12.5 μm) de altura. A camada em contato direto com a camada de algas possui células alongadas baciliformes (Fig. 1A).

Hypotrachyna sp. 2 possui variação entre as regiões do talo. Na região proximal é prosoplectenquimático descontínuo, com paliçada pouco evidente, células arredondadas, pequenas e pouco dilatadas, de cor roxa e 1–6 células (13.0–19.0 μm) de altura (Fig. 1B). Na região distal o córtex é prosoplectenquimático compacto (Fig. 1C).

Os três espécimes de *H. aff. horrescens* não possuem um padrão cortical. O espécime 2294 é prosoplectenquimático descontínuo na região proximal, com células arredondadas, pequenas e pouco dilatadas, de cor roxa e 2–6 células (13.0–19.0 μm) de altura (Fig. 1D). Na região distal é desestruturado (Fig. 1E). O espécime 2348 possui córtex prosoplectenquimático descontínuo, com células arredondadas, pequenas e pouco dilatadas, cor roxa, 1–4 células (13.0–19.0 μm) de altura (Fig. 1F). Já o espécime 3304 é prosoplectenquimático paliçádico, com trechos descontínuos próximo aos locais de formação dos isídios, com células arredondadas, pequenas e pouco dilatadas, cor roxa, 1–4 células (13.0–19.0 μm) de altura (Fig. 1G). Nesta espécie, a camada do córtex superior que fica em contato direto com a camada de algas possui células alongadas baciliformes.

Em *H. minarum*, os espécimes 3345 e 3485 possuem córtex prosoplectenquimático paliçádico, com células arredondadas, pequenas e pouco dilatadas, cor roxa, 1–3 células (13.0–19.0 μm) de altura (Figs. 2E, 2F). Já o espécime 3135 é desestruturado na região distal (Fig. 2C) e prosoplectenquimático paliçádico na região proximal, formado por células arredondadas, cor roxa, 1–4 células (13.0–19.0 μm) de altura (Fig. 2D), indicando serem espécimes diferentes.

Todos os espécimes de *H. aff. subfatiscens*, possuem córtex prosoplectenquimático paliçádico, com células arredondadas, pequenas e pouco dilatadas, cor roxa, 1–5 células (13.0–19.0 µm) de altura (Figs. 1H, 2A, 2B). O lúmen das células também é maior do que nas demais espécies. Foi a única espécie estudada em que os espécimes possuem padrão cortical.

Elix (1993) considerou que *Parmelinopsis* seria caracterizado por possuir córtex superior plectenquimático-paliçádico. No entanto, Barbosa (2004) observou que *Parmelinopsis minarum* (Vain.) Elix & Hale não possui organização plectenquimática.

Contrariando estes autores e diferente do que foi visto em *Hypotrachyna* s.s. (Zanetti 2018, capítulo 1), *Hypotrachynella*, *Lyngenella* e *Vainia*, as espécies aqui estudadas não possuem um padrão definido de córtex superior e variam entre espécimes da mesma espécie, o que pode indicar que pertençam a gêneros diferentes ou ainda que sejam espécies novas ainda não descritas.

Além disso, como as características corticais não foram constantes para as espécies, não é possível definir qual o seria o córtex superior padrão em *Hypotrachyna* (*Parmelinopsis*).

Aeroplectênquima

O aeroplectênquima é um tecido caracterizado pela presença de grandes lacunas preenchidas de ar (Barbosa 2009). Esta é uma característica comum na região proximal das espécies de *Hypotrachyna* s.l. e em *Punctelia* (Zanetti et al. 2017, Zanetti 2018, capítulo 1).

Nas espécies aqui estudadas, esta característica foi visível apenas na região proximal dos talos de *H. subfatiscens* 3103 e *H. minarum* 3135.

Assim como visto nos capítulos anteriores, a presença do aeroplectênquima somente na região proximal (mais velha do talo), pode estar relacionada à senescência do líquen, ou seja, pode ocorrer a morte das células algas nestas partes e as novas células surgem em locais diferentes, deixando a lacuna vazia no lugar anteriormente ocupado por elas.

Linha negra

A linha negra é a extensão do córtex inferior até o córtex superior (Hora 2015). Nas espécies aqui estudadas, esta característica está presente.

Anatomicamente, todas as espécies de *Hypotrachyna* possuem linha negra e os córtices não se diferenciam na região central da margem do talo, mas sim, em uma região um pouco acima, próximo à altura da camada de algas (Zanetti 2018, capítulos 1 e 2).

Camada de algas

Em todas as espécies, as células do fotobionte podem estar distribuídas individualmente ou em glomérulos, logo abaixo do córtex superior. As células possuem coloração azul turquesa, são arredondadas, 3.5–12.0 µm de diâmetro e possuem parede celular evidente (Figs. 1 e 2).

Assim como visto em *Hypotrachyna*, a espessura da camada de algas e a disposição das células não são uniformes, variando até mesmo dentro da mesma espécie.

A espessura da camada de algas varia em cada gênero, mas a posição da camada não é variada. As algas são localizadas na parte do talo onde as hifas são

suficientemente frouxas para deixar espaço para as células e onde ela tenha um ótimo de intensidade luminosa (Jahns 1973).

Medula

Nas espécies aqui estudadas, apenas *Hypotrachyna* sp.2 e *H. aff. subfatiscens* 2951 possuem medula biestratificada na região distal. Nestas espécies, a medula está organizada da seguinte forma: a metade superior é formada por hifas verticais e horizontais finas e curtas, e também por algumas hifas longitudinais. É desta região que partem as hifas que formarão o cortex superior. Já a metade inferior é formada por hifas transversais horizontais, mais longas do que as do estrato superior.

Nas demais espécies, que possuem medula uniestratificada, ela é formada por hifas transversais e horizontais, orientadas em todas as direções e sem arranjo definido.

Em *Hypotrachyna* s.s., a medula pode ser uni ou biestratificada, podendo variar, inclusive, entre as regiões do talo. A organização das hifas é variável, mas normalmente elas estão dispostas aleatoriamente pela medula, sem arranjo definido. É na medula também, que se encontram depositados a maior parte dos cristais de ácidos liquênicos.

A mesma variação medular também ocorre em *Hypotrachynella*, *Lyngella* e *Vainia*.

A medula consiste em hifas frouxamente entrelaçadas em um arranjo periclinal. As hifas são, em geral, pouco gelatinizadas e muitas vezes têm uma aparência fibrosa ou “felpuda”. A medula tem uma maior capacidade de retenção de água do que qualquer outro tecido e é uma região de armazenamento de reservas. As hifas individuais não são facilmente umedecidas e isso, juntamente com o entrelaçamento solto, facilita a troca gasosa dentro do talo (Jahns 1973).

Muitas substâncias líquidas são depositadas extracelularmente na medula e outras camadas do talo (Jahns 1973), como ocorre com os cristais de ácidos liquênicos.

Morfologia e distribuição dos cristais

A partir das secções transversais foi detectada a presença de cristais na superfície celular do fungo nas diferentes partes do talo liquênico, porém principalmente no córtex superior e medula. Os cristais só foram vistos com o auxílio da luz polarizada.

A síntese de compostos ocorre por meio de sintatos entregues a partir do fotobionte, que resultam no metabolismo secundário do fungo e são depositados como cristais pouco solúveis na superfície externa das hifas (Honegger 1998).

Diferente do que ocorreu com *Hypotrachyna* (Zanetti 2018, capítulos 1 e 2), todas as espécies apresentaram cristais, com exceção de *H. aff. subfatiscens* 2357.

Em *H. aff. subfatiscens* 2951 e 3101 os cristais são granulares, de coloração azulada e dispostos sobre as hifas do córtex superior (Figs. 4F, 5A).

Nos 3 espécimes de *H. aff. horrescens* os cristais são abundantes, granulares, com coloração azul e rosa pink, localizados no córtex superior e medula. Na medula, estão dispostos como um colar de contas ao redor das hifas longitudinais (Figs. 4C, 4D, 4E).

Em *H. minarum*, os cristais são abundantes, granulares, com coloração rosa e azul, localizados sobre as hifas do córtex superior e medula (Figs. 5B, 5C, 5D).

Já em *H. sp.1* e *H. sp.2*, os cristais são granulares e possuem quantidade variável, também depositados sobre as hifas do córtex superior (Figs. 4A, 4B).

A presença e o tipo de metabólito secundário produzidos pelo líquen possuem grande importância taxonômica, inclusive muito autores levam em consideração as substâncias liquênicas na separação de espécies (Hale & Kurokawa 1964).

Isídios, Pústulas e Sorédios

Hypotrachyna sp.2 não possui estruturas de reprodução direta.

Hypotrachyna aff. *horrescens* (Fig. 3A) e *Hypotrachyna minarum* (Figs. 3E, 3F) possuem isídios simples, ciliados, alguns constritos na base, completamente preenchidos por células do fotobionte com mesma característica da camada de algas. O córtex possui 8.0–24.5 µm de altura.

Hypotrachyna aff. *subfatiscens* e *Hypotrachyna* sp.1 possuem pústulas que se originam de dentro para fora do talo (Fig. 3B, 3D). A medula se desorganiza e aumenta de espessura pelo afastamento das hifas medulares. Neste momento há a formação de uma crista e depois disso, o córtex superior se rompe apicalmente expondo as hifas medulares e a camada de algas. Neste momento, a pústula adquire aparência de “couve flor” e libera os sorédios e grânulos (Fig. 3C). Este tipo de pústula é comum em *Hypotrachyna* (Hora 2015, Zanetti 2018 capítulos 1 e 2).

Em líquens foliosos heterômeros, a formação dos isídios é iniciada pelas hifas medulares que penetram entre as células do córtex empurrando as células de algas para cima. Este primórdio eleva-se acima do talo e, secundariamente, é recoberto pelas células corticais (Jahns 1973).

Os isídios vistos aqui são semelhantes aos vistos em demais gêneros estudados de Parmeliaceae, com a diferença de que normalmente as algas dos isídios estão organizadas em camadas (Zanetti 2015) e aqui elas ocupam toda a estrutura aleatoriamente.

Córtex inferior

Assim como outros gêneros de Parmeliaceae estudados, o córtex inferior não apresentou variação entre as espécies. Aqui todas possuem córtex

escleroplectenquimático contínuo, 1–3 células (3.5–31.0 μm) de altura e coloração verde enegrecido.

Como visto anteriormente, esta não é uma boa característica para separação de espécies, já que não há variação dentro do gênero.

Rizinas

As rizinas são inteiramente corticadas e formadas pela aglutinação de cerca de 8–10 hifas paralelas e possuem 25.0–60.0 μm de largura na base (Fig. 5F).

Morfológicamente, todas as espécies estudadas possuem rizinas, no entanto, é comum que algumas se quebrem no momento da coleta ou se desprendam do talo no momento do processamento do material. Por este motivo, em alguns casos, as rizinas não foram vistas e quando presentes, foram medidas apenas na base.

As rizinas são compostas de feixes de hifas alinhadas mais ou menos. Em Parmeliaceae, as hifas das rizinas se juntam assim que começam a se desenvolver. Eles formam um alongamento direto do tecido do córtex e as paredes das hifas são unidas por gelatinização. Quando a ponta das rizinas atinge o substrato, as hifas crescentes se espalham e formam uma suspensão em forma de disco, ligando o líquen ao substrato (Jahns 1973).

Até que ponto as rizinas podem transportar metabólitos minerais ou orgânicos dissolvidos do substrato para o talo ainda não foram estabelecidos. Provavelmente há alguma correlação entre o tipo de rizina e sua capacidade de transporte de água, que varia consideravelmente (Jahns 1973).

Considerações Finais

Os estudos anatômicos se mostraram eficientes frente aos objetivos propostos, além de se mostrarem essenciais para a atualização do conhecimento em liquenologia.

Os resultados aqui encontrados mostraram grande variação cortical entre as espécies estudadas, o que infere tratar de um gênero formado por grupos de espécies. Foi possível definir apenas um grupo com mesmas características corticais dentro do gênero, ou seja, aquele em que as espécies apresentam córtex prosoplectenquimático paliádico. As demais espécies estudadas variam suas características corticais, o que pode inferir que pertencem a outro gênero.

Como as características não foram constantes nas demais espécies, não é possível definir qual o seria o córtex superior padrão em *Hypotrachyna* (*Parmelinopsis*) ou até mesmo se pertencem ou não a este gênero.

Tendo em vista as características corticais diferentes do encontrado em *Hypotrachyna* s.s. (sendo prosoplectenquimático compacto na região distal e lacunoso na região proximal) (Zanetti 2018, capítulos 1 e 2), é possível inferir que os estudos anatômicos não corroboram com a sinonimização de *Parmelinopsis* em *Hypotrachyna*.

As demais características anatômicas possibilitam um melhor conhecimento e entendimento das estruturas anatômicas, porém não são úteis para a separação de espécies em *Parmelinopsis*.

Agradecimentos

A CAPES pela bolsa de doutorado concedida à Camila Aparecida Zanetti e ao Laboratório de Pesquisas em Anatomia Vegetal – LAPAV, por disponibilizar infraestrutura e material de consumo para o desenvolvimento deste trabalho.

Referências Bibliográficas

- Barbosa, S.B. 2004. Estudos anatômicos em quatro espécies de *Parmeliaceae* (*Ascomycota* liquenizados). Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista – UNESP, Botucatu.
- Barbosa, S.B. 2009. Aplicabilidade taxonômica de variações anatômicas em fungos liquenizados. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista – UNESP, Botucatu.
- Barbosa, S.B. & Marcelli, M.P. 2009. Plectênquimas – tipos e definições. *Glalia* 2(1): 1-9.
- Barbosa, S.B. & Marcelli, M.P. 2010. Comparative thallus anatomy of two *Parmotrema* (*Parmeliaceae*, lichenized *Ascomycetes*) with reticulate maculae. *Acta bot. bras.* 24(3): 803-811.
- Barbosa, S.B., Marcelli, M.P. & Machado, S.R. 2009. Evaluation of different protocols for anatomical studies in *Parmeliaceae* (lichenized *Ascomycota*). *Micron* 40: 218–225.
- Barbosa, S.B., Marcelli, M.P. & Machado, S.R. 2010. Thallus anatomy of *Canoparmelia texana* (*Parmeliaceae*, lichenized *Ascomycota*). *Biota Neotropica* 10(3): 150-154.
- Divakar, P.K., Crespo, A., Blanco, O. & 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.
- Divakar, P.K., Crespo, A., Núñez-Zapata, J., FLAKUS, A., Sipman, H.J. M., Elix, J.A. & Thorsten Lumbsch, H. 2013. A molecular perspective on generic concepts in the *Hypotrachyna* clade (*Parmeliaceae*, *Ascomycota*). *Phytotaxa* 132 (1): 21–38.

- 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. 1994. *Parmelinopsis*. *Flora of Australia* 55: 131-138.
- Elix, J.A. & Hale, M.E. 1987. *Canomaculina*, *Myelochroa*, *Parmelinella*, *Parmelinopsis* and *Parmotremopsis*, five new genera in the Parmeliaceae (Lichenized Ascomycotina). *Mycotaxon* 29: 233-244.
- Hale, M.E. & Kurokawa, S. 1964. Studies on *Parmelia* subgenus *Parmelia*. *Contributions from the United States National Herbarium* 36 (4): 121-191.
- 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.
- Hawksworth, D.L., Kirk, P.M., Sutton, B.C. & Pegler, D.N. 1995. *Dictionary of the Fungi*. 8th Edn. International Mycological Institute, CAB International.
- Hawksworth, D.L., Crous, P.W., Redhead, S.A., Reynolds, D.R., Samson, R.A., Seifert, K.A., Taylor, J.W. Wingfield, M.J. [& 69 signatories]. 2011. The Amsterdam Declaration on Fungal Nomenclature. *IMA Fungus* 2: 105-112; *Mycotaxon* 116: 491-500.
- Honegger, R. 1998. The lichen symbiosis – What is so spectacular about it? *Lichenologist* 30(3): 193-212.
- Hora, B.R. 2015. Estudos taxonômicos em espécies de *Hypotrachyna* (fungos liquenizados, Parmeliaceae) saxícolas do sudeste brasileiro. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista – UNESP, Botucatu.

- Hüneck, S. & Yoshimura, I. 1996. Identification of lichen substances. Springer. Berlin. 493p.
- Johansen, D.A. 1940. Plant microtechnique. Mc Graw-Hill, New York.
- Jungbluth, P. 2006. A família Parmeliaceae (fungos liquenizados) em cerrados do Estado de São Paulo, Brasil. Dissertação de mestrado. Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo.
- Kitaura, M.J. 2012. Estudos taxonômicos de *Leptogium* (Ach.) S.F. Gray (*Collemataceae*, fungos liquenizados). Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista - UNESP, Botucatu.
- Krog, H. & Swinscow, T.D.V. 1979. The *Parmelia* subgenus *Hypotrachyna* in East Africa. Norwegian Journal of Botany 26: 11-43.
- Ozenda, P. 1963 Lichens: Traité d anatomie végétale. Gebrüder Borntraeger. Nikolassee.
- Zanetti, C.A., Jungbluth, P. & Marcelli, M.P. 2015. Comparative anatomy in *Canoparmelia* and *Crespoa* species (Parmeliaceae, lichenized fungi). Bryologist 118(2): 184–194
- Zanetti, C.A., Barbosa, S.B., Adachi, S.A. & Marcelli, M.P. 2017. Pseudocyphellae ontogeny and thallus anatomy in *Punctelia* Krog species (Parmeliaceae, lichenized Ascomycota). Acta Botanica Brasilica. 31(1): 51–57.

Tabela 1 – Material examinado.

Espécie	Material examinado	Local de coleta	Coordenadas
<i>Hypotrachyna</i> sp.1	P. Jungbluth 2960	Brasil, Rio de Janeiro, município de Teresópolis. Parque Nacional da Serra dos Órgãos.	22°27'05.8"S 43°00'07.5"O
<i>H.</i> sp.2	P. Jungbluth 2969	Brasil, Rio de Janeiro, município de Teresópolis. Parque Nacional da Serra dos Órgãos.	22°27'23.6"S 42°59'41.0"O
<i>H. aff. horrescens</i>	P. Jungbluth 2294	Brasil, Estado de Minas Gerais, município de Catas Altas, Parque Natural do Caraça.	
<i>H. aff. horrescens</i>	P. Jungbluth 2348	Brasil, Estado de São Paulo, município de Pratânia, Fazenda Palmeira da Serra, reserva particular de cerrado	22°48'55,0''S 48°44'36''O
<i>H. aff. horrescens</i>	P. Jungbluth 3304	Brasil, Estado de São Paulo, Município de Itirapina, Estação Experimental de Itirapina, Instituto Florestal.	22°13'10,0"S 47°51'05,7"O
<i>H. aff. subfaticens</i>	P. Jungbluth 2357	Brasil, Estado de São Paulo, município de Pratânia, Fazenda Palmeira da Serra, reserva particular de cerrado	22°48'55,0''S 48°44'36''O
<i>H. aff. subfaticens</i>	P. Jungbluth 2951	Brasil, Rio de Janeiro, município de Teresópolis. Parque Nacional da Serra dos Órgãos.	22°27'05.8"S 43°00'07.5"O
<i>H. aff. subfaticens</i>	P. Jungbluth 3103	Brasil, Estado de São Paulo, Município de Itirapina, Estação Experimental de Itirapina, Instituto Florestal	22°13'47,9"S 47°49'51,8"O
<i>H. minarum</i>	P. Jungbluth 3135	Estado de São Paulo, Município de Itirapina, Estação Experimental de Itirapina, Instituto Florestal.	22°13'38,5"S 47°49'53,8"O

<i>H. minarum</i>	P. Jungbluth 3345	Estado do Rio Grande do Sul, Município de Santa Cruz do Sul, Cinturão Verde.	29°41'25"S 52°25'42"O
<i>H. minarum</i>	P. Jungbluth 3485	Brasil, Estado de Santa Catarina, Município de Abelardo Luz	26°33'07,29"S; 52°19'40,21"W

Tabela 2 – Principais características anatômicas encontradas nas espécies estudadas.

Espécies	Espécimes	Córtex superior		Paliçada	Aeroplectênquima	Linha negra
		Distal	Proximal			
<i>H. sp.1</i> 1	2969	Prosoplectenquimático paliçádico	Prosoplectenquimático paliçádico	Evidente	Ausente	Presente
<i>H. sp.2</i> 2	2960	Prosoplectenquimático compacto	Prosoplectenquimático descontínuo	Pouco evidente	Ausente	Presente
<i>H. aff. horrescens</i>	2294	Desestruturado	Prosoplectenquimático descontínuo	Evidente	Ausente	Presente
	2348	Prosoplectenquimático descontínuo	Prosoplectenquimático descontínuo	Pouco evidente	Ausente	Presente
	3304	Prosoplectenquimático paliçádico	Prosoplectenquimático paliçádico a desestruturado	Evidente	Ausente	Presente
<i>H. aff. subfatiscens</i>	2357	Prosoplectenquimático paliçádico	Prosoplectenquimático paliçádico	Evidente	Ausente	Presente

<i>H. minarum</i>	2951	Prosoplectenquimático paliçádico	Prosoplectenquimático paliçádico	Evidente	Ausente	Presente
	3103	Prosoplectenquimático paliçádico	Prosoplectenquimático paliçádico	Evidente	Presente na região proximal	Presente
	3135	Desestruturado	Prosoplectenquimático paliçádico	Evidente	Presente na região proximal	Presente
	3345	Prosoplectenquimático paliçádico	Prosoplectenquimático paliçádico	Evidente	Ausente	Presente
	3485	Prosoplectenquimático paliçádico	Prosoplectenquimático paliçádico	Evidente	Ausente	Presente

Tabela 2 – Principais características anatômicas encontradas nas espécies estudadas (continuação).

Espécies	Espécimes	Camada de algas (disposição)	Medula (estratificação)	Cristais (formato e disposição)	Córtex inferior	Rizinas	Cílios
<i>H. sp.1</i> 1	2969	Individual ou glomérulos	Uniestratificada	Granulares, córtex superior	Escleroplectenquimático contínuo	Simples, corticadas	Simples, corticados
<i>H. sp.2</i> 2	2960	Individual ou glomérulos	Biestratificada (distal) Uniestratificada	Granulares, córtex superior	Escleroplectenquimático contínuo	Simples, corticadas	Não vistos

(proximal)							
<i>H. aff. horrescens</i>	2294	Individual ou glomérulos	Uniestratificada	Granulares, colar de contas ao redor das hifas do córtex superior	Escleroplectenquimático contínuo	Simples, corticadas	Simples, corticados
	2348	Individual ou glomérulos	Uniestratificada	Granulares, colar de contas ao redor das hifas do córtex superior e medula	Escleroplectenquimático contínuo	Simples, corticadas	Simples, corticados
	3304	Individual ou glomérulos	Uniestratificada	Granulares, córtex superior	Escleroplectenquimático contínuo	Simples, corticadas	Simples, corticados
<i>H. aff. subfatiscens</i>	2357	Individual ou glomérulos	Uniestratificada	Ausentes	Escleroplectenquimático contínuo	Não vistas	Simples, corticados
	2951	Individual ou glomérulos	Uniestratificada na região proximal e biestratificada na região distal	Granulares, córtex superior da região proximal	Escleroplectenquimático contínuo	Simples, corticadas	Simples, corticados
	3103	Individual ou glomérulos	Uniestratificada	Granulares, córtex superior	Escleroplectenquimático contínuo	Não vistas	Não vistos

<i>H. minarum</i>	3135	Individual ou glomérulos	Uniestratificada	Granulares, córtex superior e medula	Escleroplectenquimático contínuo	Simples, corticadas	Não vistos
	3345	Individual ou glomérulos	Uniestratificada	Granulares, córtex superior (distal)	Escleroplectenquimático contínuo	Simples, corticadas na base	Não vistos
	3485	Individual ou glomérulos	Uniestratificada	Granulares, córtex superior	Escleroplectenquimático contínuo	Não vistas	Não vistos

Lista de Figuras

Figura 1 – Secções transversais mostrando variação do córtex superior. A. *Hypotrachyna* sp. 1: prosoplectênquima paliçádico; B. Região proximal de *H.* sp. 2: prosoplectênquima descontínuo; C. Região distal de *H.* sp. 2: prosoplectênquima compacto; D. Região proximal de *H.* aff. *horrescens* 2294: prosoplectênquima descontínuo; E. Região distal de *H.* aff. *horrescens* 2294: córtex desestruturado; F. *H.* aff. *horrescens* 2348: prosoplectênquima descontínuo; G. *H.* aff. *horrescens* 3304: prosoplectênquima paliçádico; H. *H.* aff. *subfatiscens* 2357: prosoplectênquima paliçádico. Legendas – córtex superior (uc), camada de algas (al), epicórtex (seta). Escalas – 25 µm.

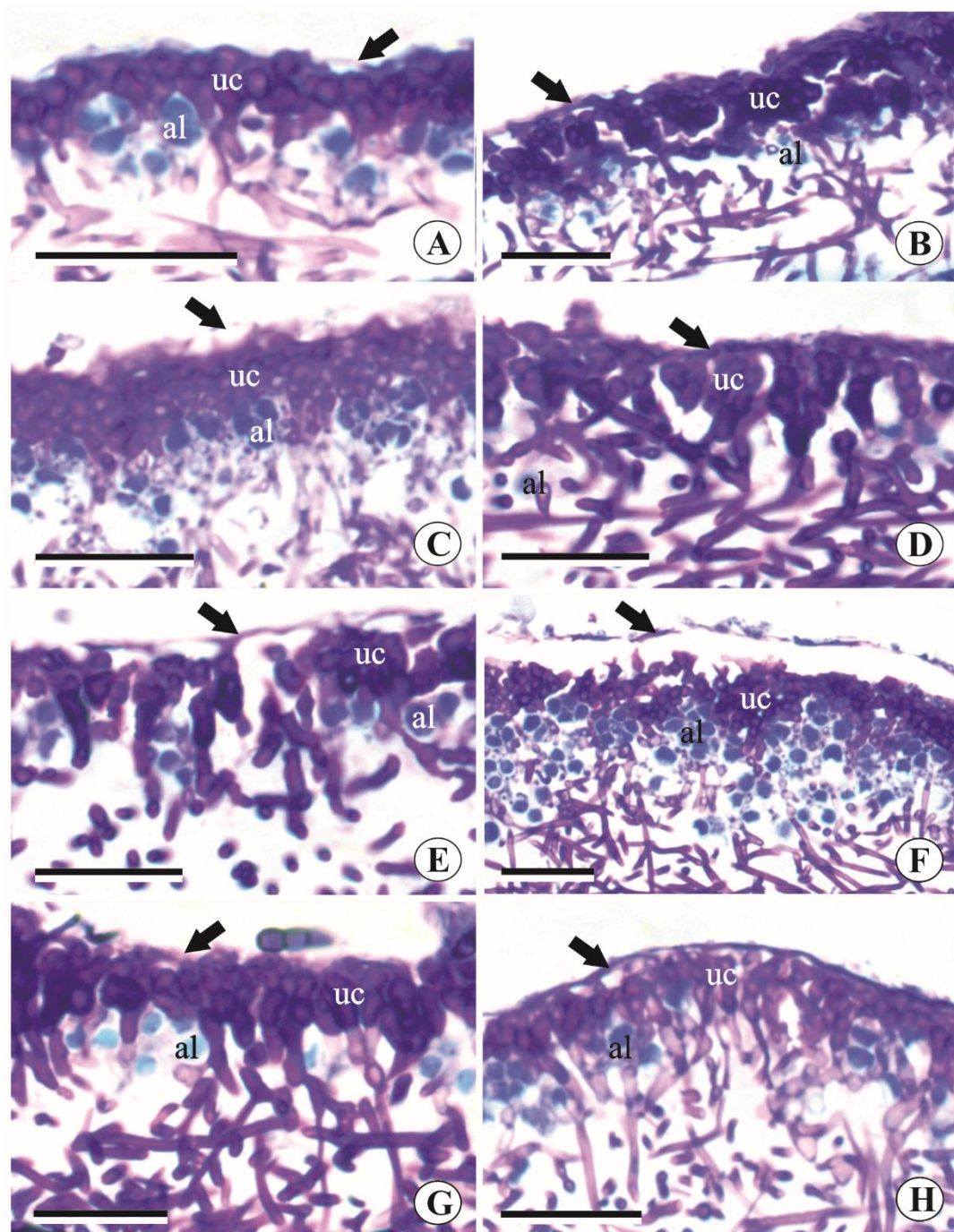


Figura 2 – Secções transversais mostrando variação do córtex superior. A. *H. aff. subfatiscens* 2951: prosoplectênquima paliçádico; B. *H. aff. subfatiscens* 3103: prosoplectênquima paliçádico; C. Região proximal de *H. minarum* 3135: prosoplectênquima paliçádico; D. Região distal de *H. minarum* 3135: córtex desestruturado; E. *H. minarum* 3345: prosoplectênquima paliçádico; F. *H. minarum* 3485: prosoplectênquima paliçádico. Legendas – córtex superior (uc), camada de algas (al), epicórtex (seta). Escalas – 25 µm.

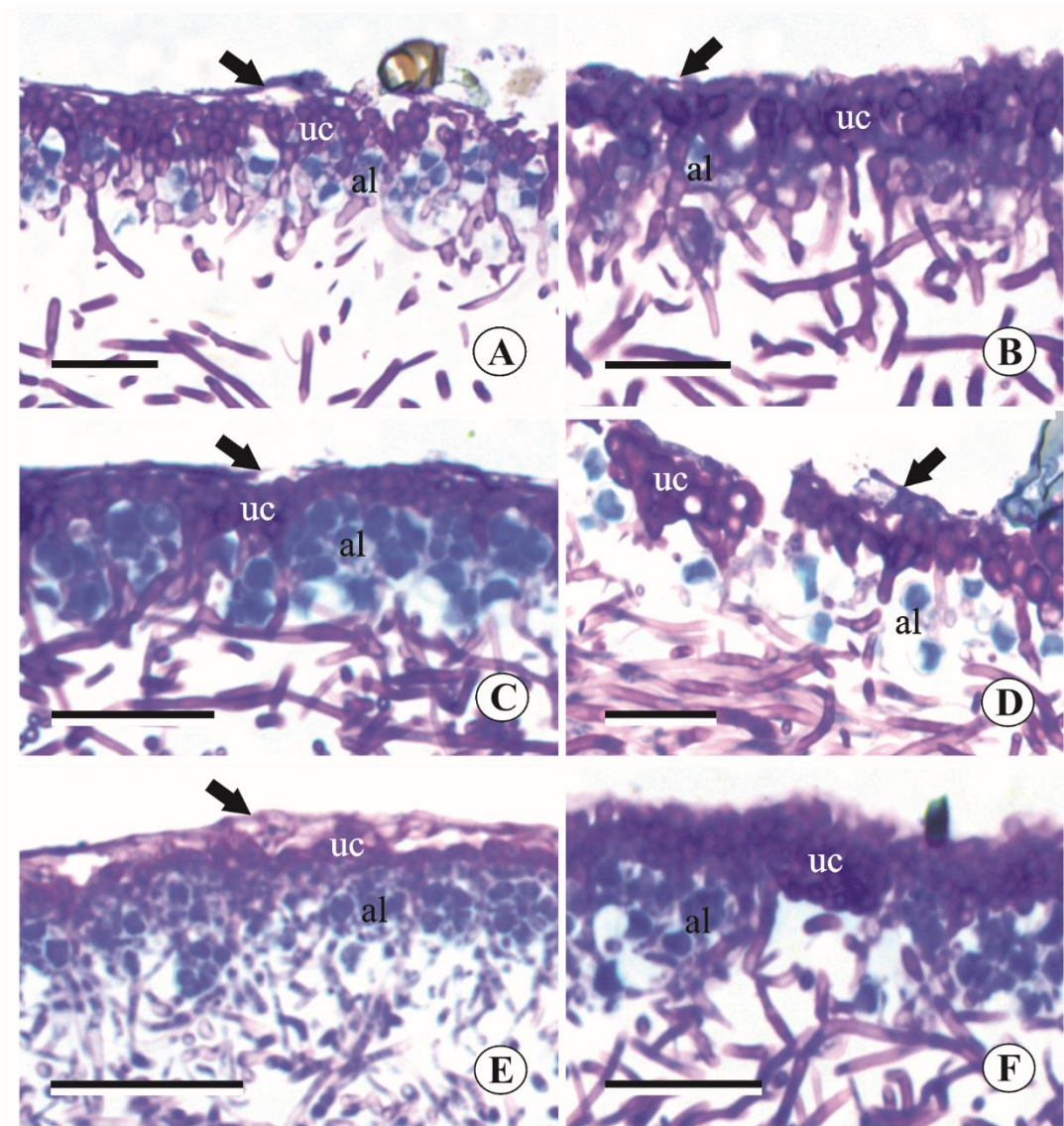


Figura 3 – Estruturas de reprodução. A. Isídios de *H. aff. horrescens* 2348; B. Pústula em *H. aff. subfatiscens* 2357; C. Pústula aberta liberando sorédios em *H. aff. subfatiscens* 2357; D. Pústula em *H. aff. subfatiscens* 3103; E. Início da formação do isídio em *H. minarum* 3345; F.: Isídios formados em *H. minarum* 3345. Legendas – isídio (isi), pústula (pu), sorédios (so). Escalas – 50 µm.

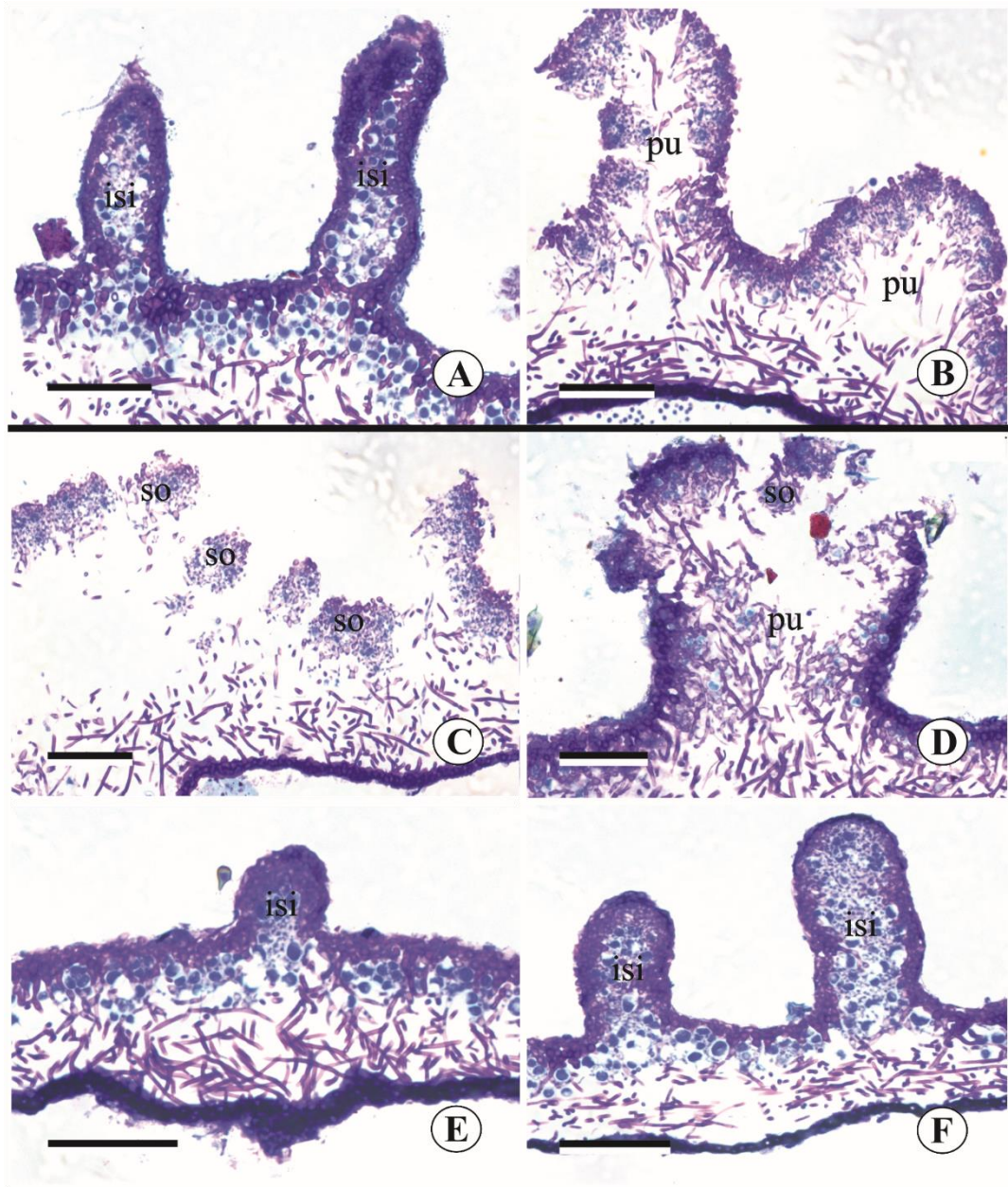


Figura 4 – Morfologia e distribuição dos cristais. A. Cristais granulares no córtex superior e medula de *Hypotrachyna* sp. 1; B. Cristais granulares no córtex superior de *H.* sp. 2; C. Cristais granulares no córtex superior e medula da região proximal de *H.* aff. *horrescens* 2348; D. Cristais granulares no córtex superior e medula da região distal de *H.* aff. *horrescens* 2348. Na medula estão dispostos como colar de contas ao redor das hifas longitudinais e depositados ao redor das hifas transversais; E. Cristais granulares no córtex superior de *H.* aff. *horrescens* 3304; F. Cristais granulares no córtex superior de *H.* aff. *subfatiscens* 2951. Legendas – cristais (cabeça de seta). Escalas – A e B: 25 μm ; C–F: 50 μm .

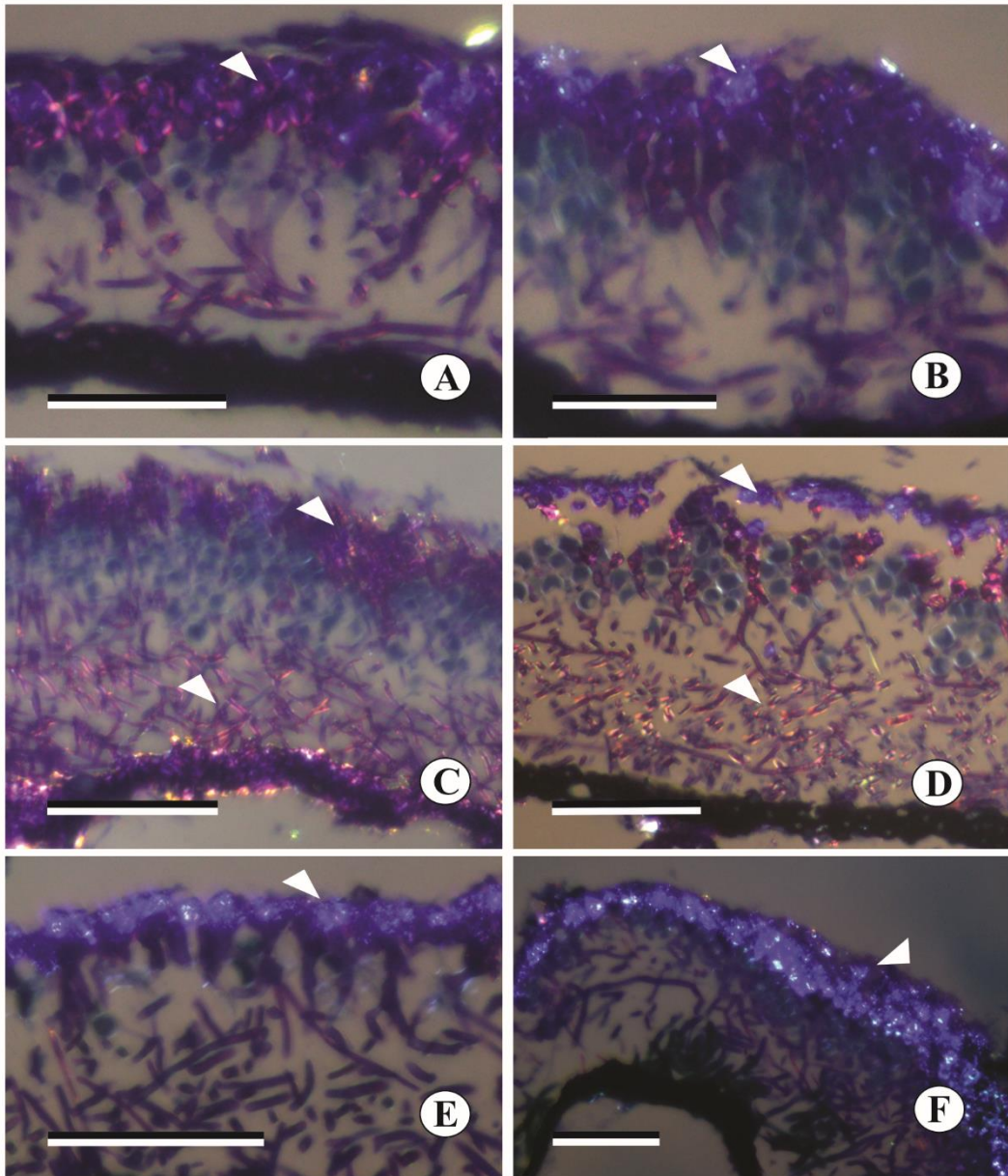
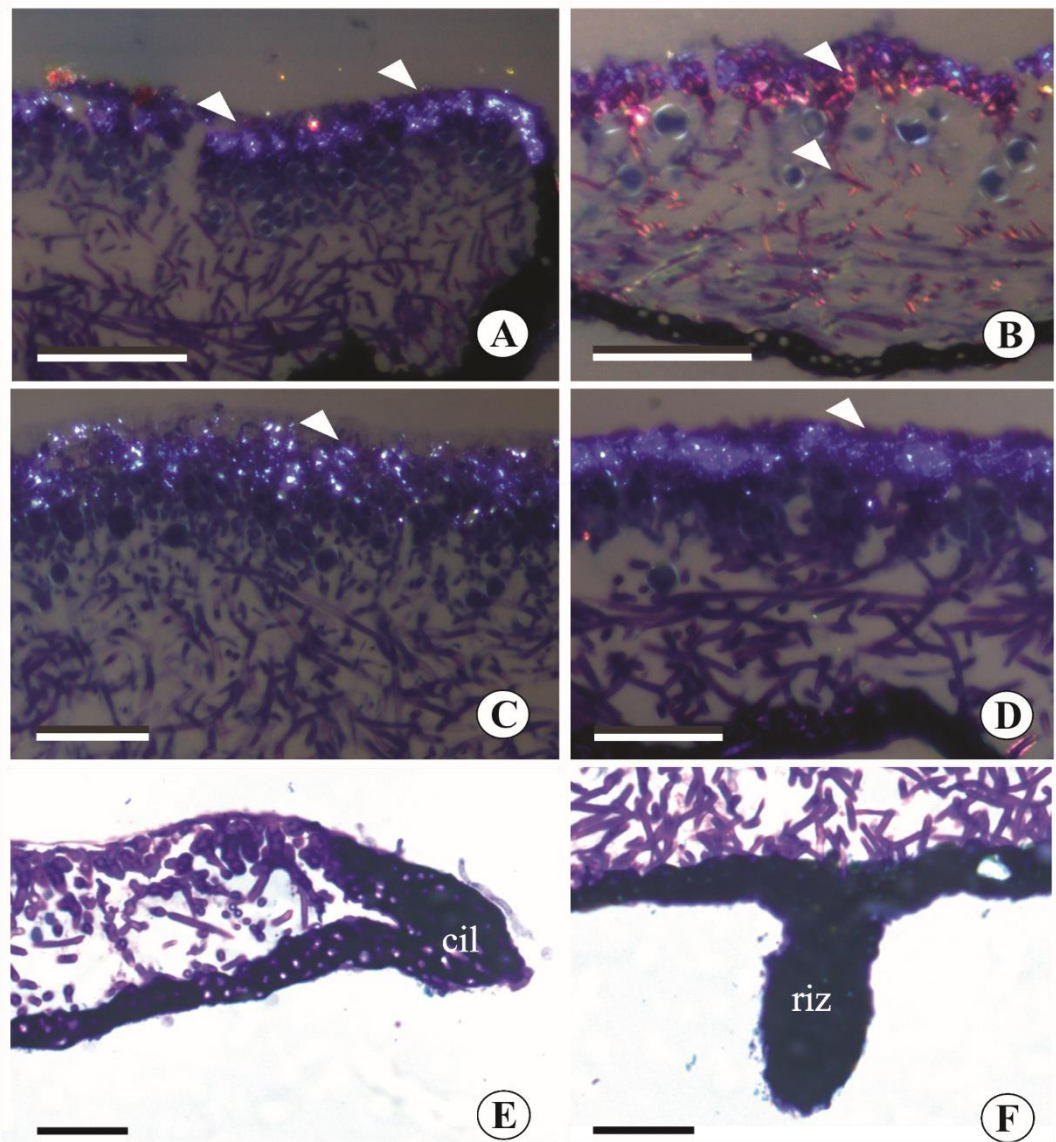


Figura 5 – Morfologia e distribuição dos cristais, cílio e rizina. A. Cristais granulares no córtex superior de *H. aff. subfatiscens* 3103; B. Cristais granulares no córtex superior e medula de *H. minarum* 3135. Na medula, alguns estão dispostos como colar de contas ao redor das hifas longitudinais; C. Cristais granulares no córtex superior de *H. minarum* 3345; D. Cristais granulares no córtex superior de *H. minarum* 3485; E. Cílio em *H. aff. horrescens* 2294; F. Rizina simples corticada em *H. aff. horrescens* 2294; Legendas – cristais (cabeça de seta). Escalas – A e B: 50 μm ; C–F: 25 μm .



Considerações Finais

Estudos filogenéticos recentes indicaram que *Hypotrachyna* é um gênero polifilético que necessita revisão. Por meio de estudos taxonômicos, químicos e anatômicos este gênero foi rearranjado e segregado em 4 gêneros, além de *Hypotrachyna* s.s. Em 2013, *Parmelinopsis*, *Cetrariastrum* e *Everniastrum* foram reduzidos a subgêneros de *Hypotrachyna*, mas mesmo com essas alterações, eles continuaram sendo polifiléticos.

Foi possível concluir que o córtex superior continua sendo um caráter útil na separação de espécies, apresentando características próprias dentro de um mesmo grupo. A medula e a camada de algas, no entanto, apresentam variações específicas, não sendo bons caracteres para a separação de gêneros. O córtex inferior, por não apresentar grande variação dentro de Parmeliaceae, não é um bom caráter para separar grupos.

A anatomia foi útil para elucidar algumas dúvidas que não puderam ser resolvidas com análises morfológicas, como por exemplo o padrão acetinado e aveludado, que se confirmou ser o reflexo da superfície convexa das hifas do córtex superior. Além disso, foi possível confirmar a presença de outras estruturas importantes em *Hypotrachyna*, como a linha negra e o aeroplectênquima.

As espécies estudadas de *Hypotrachyna* s.s. revelaram a presença de cinco grupos de acordo com as características do córtex superior, sendo que o padrão noticiado para o gênero é um córtex superior prosoplectenquimático compacto na região distal e lacunoso na região proximal. A presença destes grupos concorda com a bibliografia em que a atual delimitação de *Hypotrachyna* ainda está distante de ser monofilética.

Quanto a *Hypotrachynella*, *Lyngenella* e *Vainia*, o estudo anatômico permitiu concluir que as características anatômicas do córtex superior são constantes para cada gênero estudado e possuem valor taxonômico, corroborando com a recente segregação de *Hypotrachyna*. No entanto, as características anatômicas ainda não foram suficientes para sozinhas separar *Lyngenella* e *Vainia*, que apresentam características muito parecidas entre si, como o córtex superior, por exemplo.

Para *Parmelinopsis*, de acordo com as características corticais diferentes das encontradas em *Hypotrachyna* s.s., é possível concluir que os estudos anatômicos não corroboram com a sinonimização de *Parmelinopsis* em *Hypotrachyna*.