

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL - UFMS *Campus* de CAMPO GRANDE PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL MESTRADO



VANESSA DE OLIVEIRA TORRES

Variações morfológicas, químicas e genéticas de Stereocaulon alpinum Laurer (Stereocaulaceae) e seus fotobiontes da região sul da América do Sul e Antártica Marítima

> Campo Grande - MS AGOSTO - 2021

VANESSA DE OLIVEIRA TORRES

Variações morfológicas, químicas e genéticas de Stereocaulon alpinum Laurer (Stereocaulaceae) e seus fotobiontes da região sul da América do Sul e Antártica Marítima

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Biologia Vegetal.

Orientadora: Dra. Aline Pedroso Lorenz

Campo Grande - MS AGOSTO - 2021

Ficha Catalográfica

Torres, Vanessa Oliveira

Variações morfológicas, químicas e genéticas de *Stereocaulon alpinum* Laurer (*Stereocaulaceae*) e seus fotobiontes da região sul da América do Sul e Antártica Marítima. 64p.

Dissertação - Instituto de Biociências da Universidade Federal de Mato

Grosso do Sul.

1. Fungos liquenizados, 2. Bipolar, 3. Abordagem integrativa 4. Fotobionte

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul Instituto de Biociências

Comissão Julgadora

Prof.^a Dr.^a Gecele Matos Paggi

Dr.ª Priscila C. da Costa

Dr. Wellington S. Fava Prof. Dr. Marcos Kitaura

Prof.^a Dr.^a Aline Pedroso Lorenz Orientadora

14 15

Agradecimentos

Queria agradecer à CAPES primeiramente, pelo apoio financeiro e por ter me dado essa 16 oportunidade de fazer mestrado na área que eu gosto. Também ao MCTI e CNPq por terem 17 18 financiado a PROANTAR (Programa Antártico Brasileiro), sem eles eu não conseguiria as coletas da espécie estudada. À UFMS (Universidade Federal de Mato Grosso do Sul), pelo 19 20 suporte nos laboratórios para atender a todas as minhas experiências durante o mestrado. Ao meu laboratório de coração, o LEBio (Laboratório de Ecologia e Biologia Evolutiva), que 21 22 além de conter equipamentos de ótima funcionalização há pessoas incríveis que me fizeram 23 ter um mestrado mais leve, cheio de ensinamentos e risadas entre um experimento e outro. 24 Um agradecimento em especial para a minha orientadora Dra. Aline Pedroso Lorenz, que me acompanha desde a graduação, e anos e anos se passam e ela sempre tem algo novo a me 25 ensinar. Sem ela indiscutivelmente, eu não teria conseguido chegar aqui. Aos meus colegas 26 do LEBio, M.Sc. Mayara Zanella, a Biológa Paola Gomes, ao Dr. Marcos Kitaura (que 27 deixou saudade no LEBio), à Dra. Priscila Costa (bióloga feminista que admiro) e a nossa 28 querida técnica Josiane Theodoro. Tenho algumas palavras especiais para: M.Sc Jean Torres 29 30 pelo aprendizado no quesito taxonomia, no qual sempre me ajudou e se esteve presente ao longo do meu mestrado, retirando todas as dúvidas quando solicitadas, sendo um profissional 31 32 excelente e companheiro de liquens, à M.Sc Andressa Rodrigues que além de companheira de profissão e de laboratório se mostrou ser muito mais que isso. Uma amiga que me ajudou 33 muito a chegar onde estou e que a admiração por ela como cientista só aumenta! Obrigada 34 Andressa, pelas risadas e ensinamentos, foram fundamentais esse ano. E ao Dr. Wellington 35 Fava, que esteve do meu lado já em vários momentos, e além de amigo é um companheiro 36 essencial dentro da academia. Ele já vem me acompanhando há anos, e sempre está disposto 37 pra tudo que "der e vier". Agora, a minha família! Aos meus pais, Marcos Garcia Torres e 38 Claudia Helena de Oliveira, dedico este trabalho, pois nada faria sem a ajuda deles. Me 39 apoiam em tudo que faço e me ajudam em tudo que podem. Aliás, obrigada mãe! Por ter 40 41 criado filhas com o objetivo de estudarem e serem independentes... te devo o mundo. Às minhas irmãs, Rebecca de Oliveira Torres e Jéssica de Oliveira Torres, por terem morado 42 43 comigo por oito anos e sentido todas as fases de uma mulher na pós graduação. Vocês são minha base! E é claro, a minha sobrinha, Fernanda Torres, que me orgulho muito e sempre 44 45 irei incentivar em tudo que quiser ser. 46

| 48 | SUMÁRIO | |
|----|-----------------------|----|
| 49 | Resumo Geral | 6 |
| 50 | Abstract | 7 |
| 51 | Introdução geral | 8 |
| 52 | Objetivos | 10 |
| 53 | Referências | 11 |
| 54 | Artigo | 14 |
| 55 | 1. Introdução | 16 |
| 56 | 2. Material e métodos | |
| 57 | 3. Resultados | 22 |
| 58 | 4. Discussão | |
| 59 | 5. Conclusão | |
| 60 | Referências | |
| 61 | | |
| 62 | | |
| 63 | | |
| 64 | | |
| 65 | | |
| 66 | | |
| 67 | | |
| 68 | | |
| 69 | | |
| 70 | | |
| 71 | | |
| 72 | | |
| 73 | | |
| 74 | | |
| 75 | | |
| 76 | | |
| 77 | | |
| 78 | | |
| 79 | | |
| 80 | | |

81 Resumo Geral

Os liquens são resultantes da associação simbiótica entre fungos e fotobiontes (algas verdes 82 e/ou cianobactérias), ocorrendo em habitats diversos e presentes também em ambientes 83 extremos, estando entre os principais componentes da vegetação polares e alpinas. Dentre as 84 150 espécies bipolares conhecidas, Stereocaulon alpinum, é muito utilizada em estudos 85 importantes para biotecnologia, como por exemplo em estudos de bioprospecção de 86 compostos químicos por apresentar diversas propriedades bioativas, tais como antimicrobiano, 87 antimitótico, citotóxico, enzimas inibitórias, toxicológicas e imunomoduladoras. A espécie foi 88 inicialmente reportada como polifilética e não bipolar. Neste estudo utilizamos uma 89 abordagem integrativa, incluindo dados morfológicos, anatômicos, químicos e genéticos de 90 espécimes de S. alpinum coletados em ambos os hemisférios (norte e sul). Um total de 35 91 espécimes da espécie foram analisados e para as análises filogenéticas foram utilizadas 92 sequências de DNA do micobionte (ITS e β-tubulina) e dos fotobiontes, alga verde (gene da 93 actina) e cianobactérias (gene 16S), respectivamente. Dos espécimes analisados, geramos um 94 total de 67 sequências. Sua morfologia possui discreta variações dentro da espécie na altura e 95 disposição dos pseudopodécios, estágios-cor dos cefalódios, forma dos filocládios e espessura 96 97 do tomento, porém nenhuma que diversifique geneticamente, sendo assim uma espécie com alta plasticidade fenotípica. Neste estudo a química de S. alpinum, comprovou-se ser diversa 98 sem padrões filogenéticos e geográficos. Os fotobiontes (alga verde e cianobactéria) foram 99 Asterocholoris sp. e Nostoc sp. respectivamente, reforçando a associação desses gêneros para 100 101 a espécie S. alpinum. Diante disso, o estudo revelou que a espécie S. alpinum é uma espécie monofilética e bipolar. 102

104 Abstract

105 Lichens result from the symbiotic association between fungi and photobionts (green algae and/or cyanobacteria), occurring in diverse habitats, including extreme environments, 106 potentiated among the main components of polar and alpine vegetation. Stereocaulon alpinum 107 is widely used in biotechnological studies that bioprospect compounds, such as antimicrobial, 108 antimitotic, cytotoxic, inhibitory, toxicological and immunomodulatory enzymes. The species 109 was billed as polyphyletic and not bipolar. This study uses an integrative approach, including 110 morphological, anatomical, chemical, and genetic data of S. alpinum specimens collected in 111 both hemispheres (northern and southern). A total of 35 specimens of the species were 112 113 fulfilled, and for the phylogenetic analyses, the DNA sequences of the mycobiont (ITS and β tubulin) and photobionts, green algae (actin gene), and cyanobacteria (16S gene) were used, 114 respectively. From the completed copies, we generated a total of 67 sequences. Its 115 morphology has slight variations within the species in the height and disposition of 116 pseudopods, color stages of cephalodia, the shape of phyllocladia, and thickness of tomentum, 117 but none that genetically diversifies, making it a species with high phenotypic plasticity. In 118 this study, the chemistry of S. alpinum proved to be diverse without phylogenetic and 119 120 geographic patterns. The photobionts (green algae and cyanobacteria) were Asterocholoris sp. and Nostoc sp. respectively, reinforcing the association of these genera with S. alpinum. 121 122 Therefore, the study revealed that an S. *alpinum* type is a monophyletic and bipolar species. 123

124 Introdução Geral

125 Liquens

Um líquen é um ecossistema autossustentável formado pela interação de um fungo 126 127 juntamente com um arranjo extracelular de um ou mais parceiros fotossintéticos e ainda um número indeterminado de outros organismos microscópicos (Hawksworth e Grube 2020). 128 Nessa associação simbiótica, há os fotobiontes, nos quais são parceiros fotossintéticos, que 129 consistem em uma alga verde e/ou cianobactéria (Lutzoni, 2009). Aproximadamente 100 130 espécies dentro de 40 gêneros dos fotobiontes (algas verdes e cianobactérias) foram relatadas 131 para mais de 20.000 espécies de micobiontes (Kirk, Cannon, Minter, & Stalpers, 2008). Os 132 gêneros mais comuns de fotobiontes em liquens são Trebouxia e Trentepohlia para Algas 133 Verdes e *Nostoc* para cianobactéria (Lutzoni, 2009). Outro gênero de alga verde comum 134 encontrado em liquens é o Asterochloris, porém ele é restrito a certos gêneros de liquens, 135 sendo os melhores amostrados e estudados associados aos gêneros Cladonia, Lepraria e 136 Stereocaulon (Kosecka et al. 2021). Os fotobiontes ficam protegidos da exposição excessiva à 137 radiação solar, dessecação e alterações de temperatura, ao mesmo tempo que fornecem 138 carboidratos e outros nutrientes para o micobionte (Honegger, 2012). 139

140

141 Líquen Bipolar

Os liquens são altamente diversos em habitats tropicais, dominam também paisagens 142 em ambientes extremos, estando entre os principais componentes das vegetações polares e 143 alpinas (Sipman e Aptroot 2001). Dentro dos que compõem as vegetações alpinas, temos os 144 liquens bipolares, podendo ser conhecido por outros termos como anfitropical e antitropical, 145 nome dado para as espécies distribuídas de forma disjunta em ambos os hemisférios e 146 ocorrendo principalmente nos polos. As famílias Lecanoraceae, Verrucariaceae, e 147 Cladoniaceae são as famílias com o maior número de espécies bipolares (Garrido-Benavent et 148 149 al. 2017). Cerca de 150 espécies bipolares são conhecidas e estudadas além de Stereocaulon alpinum, como Cetraria aculeata (Mendoza et al, 2013), Xanthoria elegans (Murtagh et al. 150 2002). 151

152

154 Stereocaulaceae

Stereocaulaceae apresenta cerca de cinco gêneros e 250 espécies. A família já foi
proposta como sinônimo de *Cladoniaceae*, a partir da abordagem filogenética temporal
(Kraichak et al. 2018). Essa abordagem, consiste em encontrar objetivamente o ponto de corte
temporal para classificações de mesmas categorias, preservando o status taxonômico da
maioria dos taxa (Kraichak et al., 2017). Porém em 2019, Lücking descartou a proposta pois
há conflitos nomenclaturais entre as mesmas, além de ter ficado fora da banda temporal
delimitada na separação e ainda ter diferenças morfológicas (Lücking, 2019).

Stereocaulon Hoffm é o gênero mais diverso da família, representado por cerca de 140
spp (Lücking et al. 2017). É considerado um gênero cosmopolita (Park et al. 2018), no qual
inclui um grande número de espécies morfologicamente variáveis o que podem explica
antecipadamente os problemas de monofilia . Além disso, há variações mínimas entre as
espécies tendo formas intermediárias existentes causando dificuldades com limites de espécies
em muitos casos (Hognnaba ,2006).

168 Marcadores moleculares do micobionte e fotobionte

169 Duas regiões foram utilizadas para as análises do organismo micobionte, a técnica de 170 *DNA Barcoding*, tendo como marcador universal de fungos, incluindo os liquenizados, a 171 região dos espaçadores intergênicos ITS1 e ITS2, denominados de Espaçadores Internos 172 Transcritos do DNA Ribossomal Nuclear (ITS) (Hebert et al. 2003; Schoch et al. 2012) e o 173 loci β -tubulina. O DNA barcoding, consiste em uma sequência curta padronizada de DNA 174 entre 400 e 800 bp de comprimento que, em teoria, pode ser facilmente isolada e caracterizada 175 para todas as espécies em o planeta (Kress et al. 2012).

176 A região do espacador transcrito interno (ITS) inclui duas regiões não codificantes variáveis que estão aninhados na repetição de rDNA entre a subunidade pequena altamente 177 178 conservada (5.8S), e os genes de rRNA de subunidade grande. Há várias características que o tornam uma região-alvo conveniente para a identificação molecular de fungos, como por 179 exemplo, nos fungos toda a região ITS está frequentemente entre 600 e 800 pb e pode ser 180 facilmente amplificada com "primers universais" que são complementares as sequencias 181 182 dentro dos genes de rRNA, o que o faz um bom DNA barcoding dos fungos (Gardes e Bruns 1993). 183

A *B-tubulina* utilizada também para o micobionte, é uma proteína que desde (1999)
vem sendo estudada para resolver relações de ordem superior entre os fungos. A proteína *B-tubulina*, é uma proteína altamente conservada (Keeling e Doolittle 1996), porém as posições
do terceiro códon e íntrons são variáveis e o gene também se mostrou útil no interespecífico e
até mesmo no nível infraespecífico na taxonomia de fungos (Hognabba 2006, 2014).

Para algas verdes utilizamos o loci Actina tipo I para a análise dos dados. Esta região
foi amplificada utilizando os primers ActinF2 Astero-5' e ActinR2 Astero-3' (Skaloud e Peksa
2010). A região 16S do DNA ribossomal foi amplificada para as cianobactérias, utilizando os
primes fD1 e revAL (Weber e Kabsch 1994).

193 Por fim, liquens representa uma importância ecológica com o biomonitoramento da qualidade do ar devido a sua alta sensibilidade e rápida respostas a alterações ou mudanças 194 climáticas (Nash 2008; Ellis 2019; Koch et al. 2016), além de ter diversas propriedades 195 bioativas, tais como antimicrobiano, antimitótico, citotóxico, enzimas inibitórias, 196 toxicológicas e imunomoduladoras (Kim et al. 2018), como o caso da espécie Stereocaulon 197 alpinum. Estudos sugerem que a espécie não seja bipolar, de acordo com um artigo publicado 198 em 2006 por Högnabba, no qual espécies do hemisfério sul e norte se encontraram em clados 199 separados (Högnabba 2006). 200

Com isso, utilizaremos a abordagem integrativa, incluindo dados morfológicos,
anatômicos, químicos e genéticos de espécimes de *Stereocaulon alpinum*, coletados na
América do Sul e Antártica. Incluímos também no conjunto de dados um espécime coletado
no hemisfério norte (Finlândia) para que as comparações da bipolaridade sejam confirmadas.
Além disso, também geramos dados genéticos dos dois tipos de fotobiontes (algas verdes e
cianobactérias) encontrados na espécie para verificar a identidade e variabilidade genética
desses fotobiontes presentes nos espécimes estudados.

208 Objetivo Geral

209 Compreender a distribuição do fungo liquenizado *Stereocaulon alpinum* por meio de
 210 análises genéticas, morfológicas e químicas.

211 **Objetivos específicos**

212 - Confirmar, por meio de análises morfológicas e genéticas, quais são os principais

213 fotobiontes associados a *S. alpinum*;

- Avaliar a distribuição da variabilidade genética das populações de *S. alpinum* no extremo sul

da América do Sul e na Antártica marítima, contribuindo para o conhecimento das conexões
florísticas entre estas duas áreas.

217

218 **Referências**

Ellis CJ (2019) Climate change, bioclimatic models and the risk to lichen diversity. Diversity
11(4): 1–23.

Fernández-Mendoza, Fernando, Christian P (2013) Pleistocene expansion of the bipolar lichen
 C etraria aculeata into the S outhern hemisphere. Molecular Ecology (22): 1961–1983.

- Gardes M, Bruns TD (1993) ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetesapplication to the identification of mycorrhizae and rusts. Molecular Ecology (2): 113–118.
- Garrido-Benavent I, Pérez-Ortega S, De los Ríos A (2017) From Alaska to Antarctica: species
 boundaries and genetic diversity of *Prasiola* (Trebouxiophyceae), a foliose chlorophyte
 associated with the bipolar lichen-forming fungus *Mastodia tessellata*. Molecular
 Phylogenetics and Evolution (107): 117–131.
- Hawksworth DL, Grube M (2020) Lichens redefined as complex ecosystems. The New
 Phytologist 227(5): 1–3.
- Hebert PD, Cywinska A, Ball SL, Dewaard JR (2003) Biological identifications through DNA
 barcodes. Proceedings of the Royal Society of London 270(1512): 313–321.
- Högnabba F (2006) Molecular phylogeny of the genus *Stereocaulon* (Stereocaulaceae,
 lichenized ascomycetes). Mycological Research 110(9): 1080–1092.
- Högnabba F, Pino-Bodas R, Nordin A, Myllys L, Stenroos S (2014) Phylogenetic position of
 the crustose Stereocaulon species. The Lichenologist 46(1): 103–114.
- 237 Kim TK, Kim JE, Youn UJ, Han SJ, Kim IC, Cho CG, Yim JH (2018) Total Syntheses of
- Lobaric Acid and Its Derivatives from the Antarctic Lichen *Stereocaulon alpinum*. Journal
 of natural products 81(6): 1460–1467.

- Kirk PM, Cannon PF, Minter DW, Stalpers JA (2008) Ainsworth & Bisby's dictionary of the
 fungi. 10th Edition, Wallingford, UK: CABI.
- 242 Koch NM, Branquinho C, Matos P, Pinho P, Lucheta F, Martins SM, Vargas VM (2016) The

application of lichens as ecological surrogates of air pollution in the subtropics: a case study

- in South Brazil. Environmental Science and Pollution Research 23(20): 20819–20834.
- 245 Kosecka M, Guzow-Krzemińska B, Černajová I. et al. (2021) New lineages of photobionts in
- Bolivian lichens expand our knowledge on habitat preferences and distribution of *Asterochloris* algae. *Sci Rep* (11): 8701.
- Kraichak E, Huang JP, Nelsen M, Leavitt SD, Lumbsch HT (2018) A revised classification of
 orders and families in the two major subclasses of Lecanoromycetes (Ascomycota) based on
- a temporal approach. Botanical Journal of the Linnean Society 188(3): 233–249.
- Kress WJ, Erickson DL (eds) (2012) DNA barcodes: methods and proto-cols. Methods in
 Molecular Biology, 858, Springer, Berlin, Germany.
- Lücking R (2019) Stop the abuse of time! Strict temporal banding is not the future of rankbased classifications in fungi (including lichens) and other organisms. Critical Reviews in
 Plant Sciences 38(3): 199–253.
- 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.
- Lutzoni F, Miadlikowska J (2009) Lichens. Current Biology 19(13): R502–R503.
- Nash T (2008). Introduction. In: Nash T. Lichen Biology. 2. Ed. New York: Cambridge
 University Press. cap.01, p.01.
- 262 Keeling PJ, Doolittle WF (1996) Alpha-tubulin from early-diverging eukaryotic lineages and
- the evolution of the tubulin family. Molecular Biology and Evolution 10(13): 297–1305.
- Park JS, Park CH, Park SY, Jayalal U, Hur JS (2018) Revision of the lichen genus *Stereocaulon*
- 265 (Stereocaulaceae, Ascomycota) in South Korea. Mycobiology (46): 101–113.
- 266 Schoch CL, Seifert KA, Huhndorf S, Robert V, Spouge JL, Levesque CA et al (2012) Nuclear
- 267 ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for
- Fungi. Proceedings of the National Academy of Sciences 109(16): 6241–6246.

| 269 270 | Sipman HJ, Aptroot A (2001) Where are the missing lichens? Mycological Research 105(12): 1433–1439. |
|------------|---|
| 271 | Skaloud P, Peksa O (2010) Evolutionary inferences based on ITS rDNA and actin sequences |
| 272 | reveal extensive diversity of the common lichen alga Asterochloris (Trebouxiophyceae, |
| 273 | Chlorophyta). Molecular Phylogenetics and Evolution 54(1): 36–46. |
| 274 | Urtagh G, Dyer P, Furneaux P, Crittenden P (2002). Molecular and physiological diversity in |
| 275 | the bipolar lichen-forming fungus Xanthoria elegans. Mycological Research, 106(11): |
| 276 | 1277–1286. |
| 277 | Weber K, Kabsch W (1994) Intron positions in actin genes seem unrelated to the secondary |
| 278 | structure of the protein. The EMBO Journal 13(6): 1280-1286 |
| 279 | |
| 280 | |
| 281 | |
| 282 | |
| 283 | |
| 284 | |
| 285 | |
| 286 | |
| 287 | |
| 288 | |
| 289 | |
| 290 | |
| 291 | |
| | |
| | |

| 292 293 294 | |
|--|---|
| 295 | |
| 296 | |
| 297 | |
| 298 | |
| 299 | |
| 300 | |
| 301 | |
| 302 | |
| 303 | |
| 304 | |
| 305 | |
| 306 | Artigo a ser submetido na revista Polar Biology – Springer |
| 307 | Diretrizes de submissao: https://www.springer.com/journal/300/submission- |
| 308 | guidelines#Instructions%20for%20Authors_Specific%20remarks%20Text%20Formatt |
| 309 | ing |
| 310 | ISSN: 0722-4060 |
| 311 | Fator de impacto: 1.728 (2019) |
| 312 | Qualis (CAPES): A2 |
| 313 | |
| 314 315 | |
| 316 | |
| 317 | |
| 318 | |
| 319 | |
| | |
| 320 321 | |
| 320 321 322 | |
| 320 321 322 323 | |
| 320 321 322 323 324 | |
| 320 321 322 323 324 325 | |
| 320 321 322 323 324 325 326 327 | |

329 330

331

Variações morfológicas, químicas e genéticas de *Stereocaulon alpinum* Laurer (*Stereocaulaceae*) e seus fotobiontes da região sul da América do Sul e Antártica Marítima

Vanessa de Oliveira Torres¹, Jean Marc Torres², Aline Gianini³, Neli Kika Honda³, Adriano
 Afonso Spielmann⁴ & Aline Pedroso Lorenz^{5*}

¹Estudante de Mestrado no curso de Biologia Vegetal, Instituto de Biociências, Universidade
Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Brasil; ²Estudante de Doutorado no curso de
Biotecnologia e Biodiversidade, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimento e Nutrição,
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Brasil, ; ³Instituto de Química,
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Brasil; ⁴Instituto de
Biociências, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Brasil; ⁶Instituto de
Biociências, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Brasil e ⁵Instituto

341

*Autor correspondente: aline.lorenz@ufms.br

Resumo: Os liquens são um talo resultante da associação simbiótica entre fungos e 342 fotobiontes (algas verdes e/ou cianobactérias), ocorrendo em habitats diversos e presentes 343 344 também em ambientes extremos, estando entre os principais componentes da vegetação polares e alpinas. Cerca de 150 espécies bipolares conhecidas, Stereocaulon alpinum, é muito 345 346 utilizada em estudos importantes para biotecnologia e foi inicialmente reportada como uma espécie polifilética e não bipolar. Neste estudo utilizamos uma abordagem integrativa, 347 incluindo dados morfológicos, anatômicos, químicos e genéticos de espécimes de S. alpinum 348 coletados em ambos os hemisférios (norte e sul). Um total de 35 espécimes da espécie foram 349 350 analisados e para as análises filogenéticas foram utilizadas sequências de DNA do micobionte (ITS e β -tubulina) e dos fotobiontes, alga verde (gene da actina) e cianobactérias (gene 16S), 351 352 respectivamente. Dos espécimes analisados, geramos um total de 67 sequências. Sua morfologia possui variações dentro da espécie na altura e disposição dos pseudopodécios, 353 354 estágios-cor dos cefalódios, forma dos filocládios e espessura do tomento, porém nenhuma que diversifique geneticamente, sendo assim uma espécie com alta plasticidade fenotípica. 355 356 Neste estudo a química de S. alpinum, comprovou-se ser diversa sem padrões filogenéticos e geográficos. Os fotobiontes (alga verde e cianobactéria) foram Asterocholoris sp. e Nostoc sp. 357 respectivamente, reforçando a associação desses gêneros para a espécie S. alpinum. Diante 358 disso, o estudo revelou que a espécie S. alpinum é uma espécie monofilética e bipolar. 359 Palavras chaves: Bipolar, Filogenia, Fungos liquenizados, Simbiose e Taxonomia 360

361 **1. Introdução**

A associação simbiótica entre fungos e fotobiontes (algas verdes e/ou cianobactérias), 362 363 além de outros microrganismos, formam estruturas conhecidas como liquens (Hawksworth e Grube 2020). E são utilizados em amplos estudos de biomonitoramento da qualidade do ar 364 devido a sua alta sensibilidade e rápida respostas a alterações ou mudanças climáticas (Nash 365 2008; Ellis 2019; Koch et al. 2016). Os liquens são altamente diversos em habitats tropicais, 366 dominam também paisagens em ambientes extremos, estando entre os principais componentes 367 das vegetações polares e alpinas (Sipman e Aptroot 2001). Espécies que prosperam nestas 368 regiões são submetidas a condições extremas de dessecação, temperatura e irradiação (Lutzoni 369 e Miadliknowska 2009). Um grupo especialmente reconhecido dentro das espécies que vivem 370 371 em regiões polares são os liquens bipolares. Estes são representados como espécies tendo distribuição geográfica em ambos os hemisférios de forma disjunta (Garrido-Benavent et al. 372 2017). A explicação nesse padrão de distribuição engloba três principais modelos para a 373 evolução da bipolaridade dessas espécies: por vicariância, "stepping stone" ou "mountain 374 hopping" e dispersão direta (Garrido-Benavent et al. 2017). 375

Entre ca. 150 espécies bipolares conhecidas, Stereocaulon alpinum Laurer é uma 376 espécie muito utilizada em estudos de bioprospecção de compostos químicos por apresentar 377 diversas propriedades bioativas, tais como antimicrobiano, antimitótico, citotóxico, enzimas 378 inibitórias, toxicológicas e imunomoduladoras (Kim et al. 2018). A espécie tem distribuição nas 379 regiões árticas e alpinas do Hemisfério Norte, além da Antártica (Coxson e Marsh 2001, 380 Øvstedal e Smith 2001). Dados filogenéticos têm apontado a existência de duas linhagens 381 distintas em S. alpinum, sendo um clado formado por sequências do hemisfério norte e outro 382 do hemisfério sul, levantando a hipótese de que na verdade S. alpinum não seria uma espécie 383 384 bipolar (Högnabba 2006).

Entre os fungos liquenizados, Stereocaulaceae não é considerada uma família com alta 385 386 diversidade e é constituída de cinco gêneros e cerca de 250 espécies. Stereocaulon Hoffm. é o gênero mais diverso, com ca. 140 spp. (Lücking et al. 2017). A partir da abordagem filogenética 387 temporal, Stereocaulaceae foi proposta como sinônimo de Cladoniaceae (Kraichak et al. 2018). 388 Todavia, mesmo havendo a existência de características morfológica e ecológica 389 390 compartilhadas entre as duas famílias, também existem conflitos nomenclaturais entre as mesmas, já que Stereocaulaceae foi proposta anteriormente a Cladoniaceae, além disso, pela 391 392 separação dessas famílias ter ficado fora da banda temporal delimitada, a sugestão de manter *Stereocaulaceae* e *Cladoniaceae* como famílias distintas foi proposta a ser mantida (Lücking
2019).

Os representantes de Stereocaulaceae são na grande maioria dos casos, caracterizados 395 pela presença de talo dimórfico, cujo talo primário corresponde ao hábito de crescimento 396 crostoso e o talo secundário, fruticoso (Högnabba 2006). Enquanto os demais hábitos 397 encontrados na família são esquamuloso, crostoso e leprarioide (Lücking 2019). Em 398 399 Stereocaulon com talos dimórficos são constituídos de grânulos basais ou espículas (filocládios) 400 presentes no talo primário, sendo estes ligados ao substrato (Lamb 1951). Na maioria das 401 espécies, o talo primário desaparece logo no início do desenvolvimento, originando a partir dele o talo secundário através do alongamento do tecido talino, formando o pseudopodécio, estrutura 402 que sustenta filocládios, apotécios e na maioria das espécies cefalódios, cujas estruturas 403 apresentam grande valor taxonômico para a distinção de espécies (Lamb 1951). 404

Em Stereocaulon dois tipos de fotobiontes são encontrados, sendo eles algas verdes 405 (geralmente dos gêneros Asterochloris Tschermak-Woess e Chloroidium Nadson) e 406 cianobactérias (normalmente Nostoc Vaucher ex Bornet & Flahault ou Stigonema C.Agardh ex 407 Bornet & Flahault), os últimos sendo encontrados em estruturas do talo denominadas cefalódios 408 409 (Huss-Danell 1979; Vančurová et al. 2018). Estudos recentes baseados na filogenia de 410 cianobactérias associadas ao gênero Stereocaulon apontam que Stigonema apresenta baixa 411 diversidade genética mesmo entre populações distantes geograficamente, sugerindo assim que exista uma alta dispersão do micobionte juntamente com a cianobactéria (Lavoie et al. 2020). 412 413 Além dos cefalódios, Stereocaulon alpinum também apresenta pseudopodécios que geralmente contém um ramo principal distinto cinza, com tomento grosso cinza pálido (Øvstedal e Smith 414 415 2001). Curiosamente, nos espécimes de Stereocaulon alpinum que ocorrem na Antártica não há relato de desenvolvimento de apotécios. Porém fora da Antártica, na América do Norte, foi 416 reportado apotécios desde 1858 (Fries 1858; Johnson 1938; Thomson 1984). Entre os diversos 417 418 compostos químicos encontrados em Stereocaulon, para a espécie S. alpinum são descritos a presença de atranorina e ácido lobárico (Lindsay 1974) podendo, em alguns espécimes haver 419 ausência de ácido lobárico (Øvstedal e Smith 2001). Devido à sua ampla distribuição 420 geográfica, considera-se que esta espécie possua extensa amplitude ecológica (Colesie et al. 421 2018). Sendo essa distribuição do gênero explicada principalmente por condições climáticas, 422 variáveis de habitat ou substrato e parceiros simbióticos (Vančurová et al. 2018). 423

A identificação de espécies de *Stereocaulon* não é uma tarefa fácil, pois a alta
plasticidade fenotípica e adaptabilidade encontrada em algumas espécies do gênero causam
frequentemente confusões taxonômicas, gerando por muitas vezes identificações errôneas

quando essas são feitas baseadas apenas em caracteres morfológicos (Ismed et al. 2018). Diante 427 da dificuldade em identificar espécies com variações morfológicas e químicas intraespecíficas, 428 técnicas de delimitações de espécies são fundamentais para estudos ecológicos e de 429 conservação, avaliações de diversidade e identificação de fatores que impulsionam a 430 diversificação (Lumbsch e Leavitt 2011). Nesse sentido, a abordagem integrativa, técnica 431 amplamente utilizada em estudos com liquens para a identificação de espécies, utiliza diferentes 432 433 conjuntos de dados, tais como morfológicos, químicos e genéticos para encontrar resultados 434 mais robustos, e que reflitam de forma mais aproximada possível a história evolutiva dos organismos (Fujia et al. 2012; Alors et al. 2016). Baseado nessa abordagem integrativa, estudos 435 para a identificação molecular das espécies de fungos liquenizados utilizam a técnica de DNA 436 Barcoding, tendo como marcador universal de fungos, incluindo os liquenizados, a região dos 437 espaçadores intergênicos ITS1 e ITS2, denominados de Espaçadores Internos Transcritos do 438 DNA Ribossomal Nuclear (ITS) (Hebert et al. 2003; Schoch et al. 2012). 439

Portanto, tendo em vista que os liquens são componentes predominantes e importantes 440 da flora no ecossistema terrestre da Antártica, nosso objetivo foi verificar se a espécie de 441 Stereocaulon alpinum apresenta distribuição geográfica bipolar, buscando assim esclarecer os 442 443 levantamentos apontados por Högnabba (2006) da existência de duas linhagens distintas da 444 espécie. Assim, para o desenvolvimento das análises utilizaremos a abordagem integrativa, 445 incluindo dados morfológicos, anatômicos, químicos e genéticos de espécimes de Stereocaulon alpinum coletados na região sul da América do Sul e Antártica. Incluímos também no conjunto 446 447 de dados um espécime coletado no hemisfério norte (Finlândia) para que as comparações da bipolaridade sejam confirmadas. Além disso, também geramos dados genéticos dos dois tipos 448 449 de fotobiontes (algas verdes e cianobactérias) encontrados na espécie para verificar a identidade e variabilidade genética desses fotobiontes presentes nos espécimes estudados. 450

451

2. Materiais e Métodos

452 Coleta das amostras

453 Os espécimes de *Stereocaulon alpinum* analisados no estudo foram coletados durante 454 três expedições brasileiras (verões Antárticos entre 2014 e 2017) na Argentina (Parque Nacional 455 Tierra del Fuego, projeto número 105-CPA-2016), Ilhas Shetland do Sul e Costa Danco na 456 península Antártica. Todos os espécimes foram depositados no herbário CGMS da 457 Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Também analisamos o espécime coletado por 458 Sparrius 9266 proveniente da Finlândia, no hemisfério norte. Mapas de distribuição foram 459 produzidos usando ArcGIS Software 10.1, detalhes das informações são fornecidos na Tabela460 1.

461

Morfologia, anatomia e química

Um total de 35 espécimes de *Stereocaulon alpinum* foram analisados. Para a identificação em nível específico das amostras analisamos características morfológicas, de acordo com o protocolo de Lamb (1977), tais como: tipos de cefalódios, tipo de pseudopodécios e coloração dos mesmos, tipo de substrato (rocha, musgos e solo), forma de desenvolvimento (ereto, prostrado), coloração do tomento, presença ou ausência de sorédios e tipos/tamanhos dos esporos, utilizando para isso estereomicroscópio Olympus SZX7 e microscópio Olympus CX22LED, baseados nas bibliografias especializadas sobre o gênero (Lamb 1951, 1977, 1978).

Além disso, para o processo de identificação específica também realizamos Spot tests, 469 470 utilizando hidróxido de potássio (teste K), hipoclorito de sódio (teste C) e parafenilenodiamina (teste P), seguindo as recomendações de Orange et al. (2010). O protocolo para a descrição da 471 472 espécie foi baseado nas características morfológicas e químicas descritas por Lamb (1977). Já diferenças observadas entre os talos foram incluídas nas descrições, e as imagens foram 473 474 capturadas com uma Canon EOS Rebel T3i acoplada a um estereomicroscópio Olympus SZX7 e um microscópio Olympus CX22LED. Os componentes químicos dos espécimes foram 475 476 identificados através de Cromatografia em Camada Delgada (CCD) seguindo a metodologia de Orange et al. (2010), de microcristalização seguindo Honda & Vilegas (1998). 477

478

Extração de DNA, PCR e Sequenciamento

479 As extrações de DNA foram feitas a partir de 0.015–0.025 g do talo de cada espécime, utilizando o Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, Madison, USA), seguindo as 480 481 recomendações do fabricante. As regiões gênicas e espaçadoras foram obtidas pelo processo de amplificação por reação em cadeia da polimerase (PCR). Utilizamos duas regiões para as 482 análises do organismo micobionte: os espaçadores internos transcritos do DNA ribossomal 483 nuclear (ITS) e o loci β-tubulina. A região ITS foi obtida utilizando os primers ITS1F (Gardes 484 e Bruns 1993) e ITS4 (White et al. 1990); enquanto para o *loci* β-tubulina utilizamos os primers 485 Bt3-LM e Bt10-LM (Myllys et al. 2001). Para algas verdes utilizamos o loci Actina tipo I para 486 a análise dos dados. Esta região foi amplificada utilizando os primers ActinF2 Astero-5' e 487 ActinR2 Astero-3' (Skaloud e Peksa 2010). A região 16S do DNA ribossomal foi amplificada 488 489 para as cianobactérias, utilizando os primes fD1 e revAL (Weber e Kabsch 1994).

As reações para PCR da região ITS foram de 25 µL contendo: 5.0 µL de Buffer 490 (Promega 5x), 0.5 µL de cada primer (2mM), 5.0 µL de dNTPs (2mM); 3.0 µL de MgCl2 491 (25mM), 0.2 µL de Taq DNA polimerase (Promega 5U/ µL) e 2.0 µL de DNA gênomico. As 492 condições de amplificação foram: desnaturação inicial a 94°C por 5 min; 30 ciclos de 493 desnaturação a 95°C por 30 s, anelamento a 54,8°C por 30 s, extensão a 72°C por 1 min e 494 extensão final a 72°C por 5 min. Já a reação de PCR para β-tubulina conteve 25 μL, utilizando 495 para isso 10µL de GoTaq® Flexi DNA Polymerase (Promega), 2.0 µL de cada primer; 9.0 µL 496 de H2O ultrapura e 2 µL de DNA gênomico. As condições de amplificação foram: desnaturação 497 inicial a 94°C por 5 min, seguidos de 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 s, anelamento a 498 52°C por 30 s, extensão a 72°C por 1 min e extensão final a 72°C por 5 min. 499

Para a obtenção das regiões Actina tipo I de algas verdes e 16S rDNA de cianobactérias 500 as reações de PCR contiveram 26 µL com: 0.8 µL H₂O ultrapura; 5.0 µL de Buffer (Promega 501 5X), 5.0 µL de cada primer (2mM), 5.0 µL de dNTPs (2 mM), 0.2 µL de Taq DNA polimerase 502 (Promega 5 U/µL), 3.0 µL de MgCl₂ (25 mM) e 2 µL de DNA genômico. As condições de PCR 503 para amplificação do loci Actina tipo I seguiram: desnaturação inicial a 94°C por 5 min, 504 posteriormente 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 1 min, anelamento a 50°C por 1 min, 505 extensão a 72°C por 2 min e extensão final a 72°C por 10 min. Para a obtenção da região 16S 506 as condições foram: desnaturação inicial a 95°C por 5 min, seguidos de 30 ciclos de 507 desnaturação a 94°C por 30 s, anelamento a 58°C por 30 s, extensão a 72°C por 1 min e extensão 508 final a 72°C por 10 min. Todos os processos de amplificações foram realizados no 509 510 termociclador Veriti (Applied Biosystems).

511 Os produtos de PCR foram visualizados em gel de agarose 1% corados com GelRed®. 512 A purificação dos produtos de PCR foi realizada com o Kit de purificação de produtos de PCR 513 em coluna (Ludwig Biotecnologia), seguindo as recomendações do fabricante. O 514 sequenciamento das amostras foi realizado pelo método de Sanger pela empresa Macrogen 515 (Coréia do Sul).

517 Análises Filogenéticas

518 Para verificar a posição filogenética dos micobiontes e fotobiontes presentes nos 519 espécimes morfologicamente identificados como S. alpinum, as sequências produzidas foram 520 comparadas com sequências obtidas no GenBank (Material Suplementar S1). Do micobionte, foram utilizadas 96 sequências de 44 espécies de Stereocaulon, representando os principais 521 clados encontrados no gênero (Högnabba 2006, 2014; Park et al 2018). As análises foram feitas 522 separadamente (ITS e β -tubulina) e com os marcadores concatenados. Sequências de *Cladonia* 523 rangiformis e C. ahtii foram utilizadas como grupos externos. Para as análises das algas e 524 cianobactérias foram utilizadas sequências geradas por estudos de fotobiontes de fungos 525 liquenizados, incluindo de espécies de Stereocaulon, além de sequências que se mostraram 526 527 geneticamente similares nas análises exploratórias com a ferramenta BLAST (Johnson et al. 2008). Informações sobre a fonte (líquen ou vida livre), voucher, origem geográfica e 528 referências das sequências de algas e cianobactérias estão descritas na Tabela Suplementar S2 529 e S3. 530

A leitura das sequências obtidas e a construção dos alinhamentos foram feitas no 531 programa Geneious v9.1.2 (Kearse et al. 2012). Para os alinhamentos, foi usado o plugin 532 MAFFT v7.308 (Katoh et al. 2002) ajustado com o algoritmo G-INS-i, scoring matrix 533 534 1PAM/k=2, e os demais parâmetros ajustados como padrão. Devido ao grande número de indels (eventos de inserção/deleção) encontrados na região ITS, o programa Gblocks 0.97b 535 536 (http://molevol.cmima.csic.es/castresana/Gblocks server.html) foi utilizado para remover os sítios alinhados de maneira ambígua, ajustando-se os parâmentos menos restritivos (Talavera e 537 538 Castresana 2007). Os modelos de substituição nucleotídica foram selecionados usando o Bayesian Information Criterion (BIC) com auxílio do programa jModelTest 2 (Darriba et al. 539 2012). Para a reconstrução das árvores filogenéticas, duas abordagens foram escolhidas: 540 inferência bayesiana e máxima verossimilhança, ambas usando o portal CIPRES 541 (Cyberinfrastructure for Phylogenetic Research; Miller et al. 2010). A análise bayesiana foi 542 feita programa MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck e Ronquist 2001) usando o modelo GTR+I+G. A 543 análise foi feita com duas corridas simultâneas independentes com quatro cadeias de Markov 544 Monte Carlo (MCMC) que convergiram sobre dez milhões de gerações. Uma árvore foi 545 amostrada a cada 10.000 gerações. A convergência foi confirmada através da inspeção da 546 probabilidade log depois da corrida com auxílio do programa Tracer 1.7 (Rambaut et al. 2018). 547 Como burn-in, foram descartadas 25% das primeiras árvores obtidas. As análises de máxima 548 549 verossimilhança foram implementadas com o programa RAxML 8.2.12 (Stamatakis 2014),

assumindo o modelo GTRGAMMA e os demais parâmetros ajustados como padrão. Os valores 550 de suporte foram estimados com 1000 pseudoreplicações de bootstrap. A visualização e a edição 551 foram feitas das árvores resultantes no programa FigTree v1.4.4 552 (http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/). Foram considerados fortemente suportados os ramos 553 com probabilidade posterior ≥ 0.95 na inferência bayesiana e bootstrap ≥ 75 na máxima 554 verossimilhança. 555

Adicionalmente, para avaliar os padrões de variação intraespecífica, um alinhamento contendo apenas sequências de ITS dos espécimes morfologicamente identificados como *S. alpinum* foi utilizado para definir haplótipos com o programa DNASP 5.10.1 (Librado e Rozas 2009). Uma rede de haplótipos foi inferida com o programa Network 4.2.0.1 (www.fluxusengineering.com), pelo método de *median-joining* (Bandelt et al. 1999).

561

562 **3. Resultados**

Nos locais de estudos foram coletados 150 espécimes de Stereocaulon, sendo estes 563 identificados previamente (em campo) como Stereocaulon alpinum. Posteriormente, em 564 laboratório, esses espécimes foram triados e identificados baseados em características 565 morfológicas e químicas, seguindo bibliografias especializadas (Lamb 1951, 1977, 1978). Após 566 esta triagem, dos 150 espécimes identificados como S. alpinum, apenas 34 espécimes (ca. 22%) 567 realmente corresponderam a espécie. Os demais 116 espécimes foram identificados como outras 568 espécies do gênero, tais como Stereocaulon glabrum (Müll. Arg.) Vain. e Stereocaulon 569 tomentosum Fr. Além disso, obtivemos um espécime fresco identificado como S. alpinum 570 571 coletado na Finlândia (Sparrius 9266). Este espécime foi importante para a interpretação dos nossos resultados, uma vez que pode ser analisado tanto fenotipicamente como 572 573 morfologicamente, sendo utilizado, portanto, como nossa referência para o hemisfério norte.

Dos 35 espécimes analisados morfologicamente, geramos um total de 67 sequências.
Destas 52 sequencias correspondem ao micobionte, sendo 34 sequencias da região ITS e 17 do *loci* β-tubulina. Entre os fotobiontes, geramos cinco sequências do gene da actina tipo I de algas
verdes e 10 sequências da região 16S de cianobactérias. Estas informações também estão
detalhadas na Tabela 1.

579

581 Inferências filogenéticas

Geramos matrizes de sequências para a construção de árvores filogenéticas do 582 micobionte e dos fotobiontes utilizando as abordagens de Máxima Verossimilhança (ML) e de 583 Inferência Bayesiana (IB). As filogenias dos micobiontes foram construídas a partir de 584 alinhamento de 115 sequências da região ITS (528 pb), do gene β-tubulina (697 pb), e com 585 586 esses marcadores concatenados. As filogenias com os marcadores separados e concatenados, assim as construídas por diferentes métodos de análise (ML e IB) não apresentaram 587 588 incongruências nos ramos fortemente suportados, portanto apenas a IB com as sequências concatenadas é apresentada na Figura 2. Os resultados mostraram que espécimes identificados 589 590 com S. alpinum pertencem a duas linhagens distintas.

591 A análise das sequências do gene da actina I das algas verdes encontradas nos 592 espécimes de S. alpinum indicaram que elas pertencem ao gênero Asterochloris. O alinhamento de 104 sequências, pertencentes a diferentes espécies e linhagens de Asterochloris, resultou em 593 uma matriz de 706 nucleotídeos. As cinco sequências obtidas de espécimes de S. alpinum foram 594 idênticas e agruparam com sequências de Asterochloris sp. de Stereocaulon paschale (L.) 595 Hoffm. e S. vesuvianum Pers. (Figura 4). Esse grupo mostrou ser proximamente relacionado 596 (grupo irmão) de A. irregularis (Hildreth & Ahmadjian) Skaloud & Peksa, presentes em 597 598 espécimes de Stereocaulon alpinum, S. botryosum Ach., S. pileatum Ach., S. vesuvianum, além de Cladonia mitis Sandst. (Figura 4). As cinco sequências geradas de algas verdes foram obtidas 599 de espécimes de S. alpinum coletados nas Ilhas Shetland do Sul (Ilha Elefante e Ilha Rei George) 600 e Terra do Fogo (Argentina e Chile). 601

Para cianobactérias, 92 sequências da região 16S foram comparadas em uma matriz de
dados com 738 pares de bases alinhados. Nossos dados mostraram que as cianobactérias
associadas a *S. alpinum* pertencem ao gênero *Nostoc* (clado "*Nostoc* II" *sensu* O'Brien, J.
Miadlikowska e F. Lutzoni. 2005) (Figura 3). Neste Clado "*Nostoc* II" há duas espécies do
Gênero, sendo elas: *Nostoc commune* Vaucher ex Bornet & Flahault e *Nostoc punctiforme*Hariot. A amostra do hemisfério norte estudada não foi utilizada nessa análise.

608 Considerando apenas 26 espécimes da linhagem bipolar de *S. alpinum*, detectamos oito 609 haplótipos de ITS (micobionte) distribuídos entre as populações da Terra do Fogo e da Antártica 610 marítima (Figura 1). O haplótipo H1 foi o mais amplamente distribuído e abundante, estando 611 presente em oito populações. Os haplótipos menos frequentes foram H3, H4, H5 e H6, ocorrendo apenas em um espécime cada. Os haplótipos H3 e H4 mostraram ser exclusivos da
região da Terra do Fogo na Argentina, enquanto H5, H6, H7 e H9 foram encontrados apenas na

Antártica. Sendo H5 encontrado na Ilha Rei George, H6 na Ilha Greenwich, H7 nas Ilhas

615 Greenwich, Ilha Nelson e Costa Danco. Já o H9 é exclusivo da Península Antártica, ocorrendo

616 em Costa Danco (Figura 1).

617 Análises químicas

618 Identificamos através de Cromatografia em Camada Delgada (CCD) os compostos químicos de 15 espécimes de Stereocaulon alpinum coletados no hemisfério sul. Todos os 619 620 espécimes apresentam atranorina e ácido lobárico como principais componentes químicos. Entretanto, alguns compostos (traços ou não) estão presentes em determinados espécimes e 621 ausentes em outros. Dentro do conjunto de dados analisado separamos os espécimes em três 622 principais grupos químicos (G1, G2 e G3), como detalhado na Tabela 2. Muitos desses 623 compostos encontrados ainda estão em fase de estudo, pois não foram encontrados na 624 bibliografia ou seu perfil químico é muito semelhante a outros compostos. 625

Já através dos Spot tests, obtivemos para a espécie: filocládio K+ amarelo, C-, KC-,
PD+ amarelo enxofre, UV+ branco. Atranorina e ácido lobárico (maior), com três isômeros não
identificados (depsidona) com estrutura muito próxima ao ácido lobárico (-H2). Três
substâncias com FR menor que o ácido lobárico, provavelmente lobarina, oxisifulina, ácido
colensóico ou ácido picroliquênico. Às vezes, também ácido bourgeânico.

Tabela 2. Descrição dos compostos químicos encontrados nos espécimes de *Stereocaulon alpinum*.

| Grupo | Composição química |
|-------|--|
| G1 | Atranorina e ácido lobárico. Três Isômeros (depsidonas) 68 m estruturas muito próxima ao ácido lobárico (-H2). Três substâncias |
| 01 | de Rf menor que o ácido lobárico (provavelmente lobardina, oxisifulina, ácido colensóico ou picroliquênico). |
| G2 | Atranorina e ácido lobárico. Três Isômeros (depsidonas) 666 n estruturas muito próxima ao ácido lobárico (-H2). Bis- antraquinona de estrutura não definida. Três substâncias de R f menor que o ácido lobárico (provavelmente lobarina, oxisifulina, ácido colensóico ou picroliquênico) e uma substância 668 o identificada. |
| G3 | Atranorina e ácido lobárico. Três Isômeros (depsidonas) 63% estruturas muito próxima ao ácido lobárico (-H2). Ac. bourgeânico, oxisifulina, lobarina ou traços das mesmas. 640 |

643 Taxonomia

Stereocaulon alpinum Laurer in Funck, Cryptogamische Gewachse des Fichtelgebirg's. Heft
 33: 6 (1827). FIGS. 5a-l

Type: Austria. Alps of Tirol and Karnten, "besonders schon am Pasterzen Gletscher, 1827, *s.coll*. (holótipo desconhecido; isotipos LE, FH - Funck, Crypt. Gew. Bes. Fichtelgeb. Ed. II, n.
684, fide Lamb 1977).

Synonym: = Stereocaulon tomentosum var. alpinum (Laurer) Th. Fr., De Stereoc. et Pilophor.
Comment.: 30 (1857). = Stereocaulon tomentosum subsp. alpinum (Laurer) Th. Fr., Monogr.
Stereoc. et Pilophor.: 357 (1858). = Stereocaulon paschale f. alpinum (Laurer) Mudd, Manual
Brit. Lich.: 66 (1861). = Stereocaulon paschale var. alpinum (Laurer) Du Rietz, Svensk Bot.
Tidskr. 20: 96 (1926).

654 Talo saxícola, terrícola ou muscícola. Talo primário evanescente. Talo secundário formado por pseudopodécios decumbentes a eretos ou eretos, levemente dorsiventrais, firmemente aderidos 655 656 ao substrato quando saxícolas ou frouxamente aderidos ao substrato quando muscícolas, ramos teretes a levemente achatados, dicotomicamente anisotômicos a irregularmente ramificados, 657 658 decorticados, creme ao longo e nos ápices, marrom pálido na base, sem ou com poucos ramos, 1,5–5,0 cm de altura, 0,5–1,0 (–1,2) mm de diâmetro. *Tomento* frequente a abundante ao longo 659 660 do pseudopodécio e na parte inferior dos filocládios, esbranquiçado a rosado, às vezes marrom claro na parte basal do pseudopodécio. Filocládios verruciformes a ligeiramente 661 esquamuliformes ou distintamente esquamuliformes e ramificados, crenados, esbranquiçados a 662 creme, 0,5-1,0 mm de diâmetro, confluentes ou sobrepostos, frequentes a abundantes nos 663 ápices, principalmente aglomerados no topo do pseudopodécio, poucos ao longo e na base dos 664 pseudopodécios. Sorais ausentes. Apotécios biatorinos, raros, terminais, planos e com margens 665 finas quando imaturos, sem margem, ondulados e convexos quando maduros, disco marrom a 666 marrom escuro, 1,5-3,5 mm de diâmetro, anfitécio creme esbranquiçado, tomentoso. 667 Cefalódios esféricos, comumente esverdeados e cobertos por tomento, às vezes amarronzados 668 e fissurados, 0,1-0,4 mm de diâmetro, frequentes a abundantes, localizados principalmente na 669 parte inferior dos filocládios, às vezes sobre os ramos, frequentes a abundantes, contendo 670 Nostoc em filamentos. Picnídio ausente. 671

Anatomia: *Pseudopodécio* formado por hifas paquidermatosas, incolores no centro, 3-4 µm de
diâmetro, amareladas nas camadas mais externas, 4–7 µm de diâmetro. *Tomento* formado por
hifas ramificadas dicotomicamente anisotômicas a irregularmente de 4–7 µm de espessura. *Filocládios* com córtex prosoplectenquimatico, 20–25 µm de altura, camada de algas 50–60 µm
de altura, camada medular 170–200 µm de altura, hifas 5–7 µm de espessura. *Apotécios* com
hipotécio e excípulo próprio indiferenciados, incolor, 40–50 µm de altura, himênio incolor a

amarelado, 45–55 µm de altura, paráfises com ápices capitados e amarronzados, *ascos* clavados,

679 $25-45 \times 5-10 \,\mu\text{m}$, com 8 ascósporos, *ascósporos* com 3 septos transversais, $20-27 \times 3 \,\mu\text{m}$,

incolores. *Cefalódios* com parede indiferenciada de 10–20 µm de altura, formados por hifas
amarronzadas de 4–5 µm de espessura. Filamentos de *Nostoc* embutidos em cápsulas rodeadas
por hifas entrelaçadas. *Conídio* não visto.

Observações: Os espécimes analisados neste estudo mostram que *S. alpinum* é consistente em suas características morfológicas diagnósticas. Esta espécie é caracterizada pelo pseudopodécio coberto por tomento rosado (Fig. 5j), filocládios verruciformes a esquamuliformes, esbranquiçados a creme, crenados, geralmente aglomerado no topo do pseudopodécio, a presença de atranorina e ácido lobárico, e pelo cefalódio esférico contendo *Nostoc* em filamentos (Fig. 5i).

Porém, em outras características morfológicas como altura e disposição dos pseudopodécios, estágios-cor dos cefalódios, forma dos filocládios e espessura do tomento, esta espécie apresenta algumas variações. Os pseudopodécios diferem entre 1,5 e 5,0 cm de altura, podem crescer decumbentes (Fig. 5a) nas partes proximais do talo e eretos nas partes centrais, ou eretos (Fig. 5b) em todas as partes do talo.

Tradicionalmente, talos com pseudopodécios eretos e maiores que 5.0 cm altura correspondem a *S. alpinum* var. *erecta* Frey, enquanto talos com pseudopodécios decumbentes nas partes proximais e menores que 5,0 cm de altura, correspondem a *S. alpinum* var. *alpinum* Laurer (Lamb 1977, 1978; Oset 2014), neste estudo encontramos e analisamos essas duas variedades morfológicas.

No espécime L.B. Sparrius 9266 da Finlândia, os filocládios são distintamente
granulares coralóides, ramificados e sobrepostos (Fig. 5e), e o tomento é denso ao longo do talo
e nos cefalódios (Fig. 5k), enquanto nos espécimes do Parque Nacional Tierra del Fuego e da
Antártica os filocládios são verruciformes (Fig. 5c) a ligeiramente esquamuliformes,
confluentes e não ramificados (Fig. 5d), e o tomento é mais fino ao longo do talo e nos
cefalódios (Fig. 5f).

Os cefalódios geralmente encontrados são esverdeados e cobertos por tomento esbranquiçado a rosado (Fig. 5f), mas às vezes também são encontrados cefalódios amarronzados, fissurados e sem tomento (Fig. 5g), os cefalódios esverdeados correspondem a estágios jovens de desenvolvimento em que muitas colônias de cianobactérias estão presentes (Fig. 5h) e dão a aparência de cor esverdeada, enquanto que os cefalódios amarronzados correspondem a estágios mais antigos de desenvolvimento em que as colônias de cianobactérias
estão se deteriorando e morrendo, gerando a perda da cor esverdeada. Como essa variação está
relacionada aos estágios de desenvolvimento, é possível encontrar talos apenas com cefalódios
esverdeados, talos apenas com cefalódios amarronzados ou talos com ambos os estágios de
desenvolvimento.

715 **4. Discussão**

716 Em estudo anterior da filogenia do gênero Stereocaulon, com os marcadores moleculares ITS e β-tubulina, Högnabba (2006) relevou através de dados filogenéticos a 717 718 existência de duas linhagens distintas em S. alpinum, sendo um clado formado por sequências do hemisfério norte e outro do hemisfério sul, levantando a hipótese de que na verdade S. 719 alpinum não seria uma espécie bipolar. Entretanto, os resultados do presente estudo mostraram 720 721 que os espécimes de S. alpinum coletados na Argentina, Chile, Antártica, e Finlândia, bem como outras sequências do GenBank (Argentina), foram recuperadas como monofiléticas (Clado II) 722 e distintas das sequências provenientes da Áustria e da Itália (Clado I) (Figura 2). A partir disso, 723 foi possível reconhecer que os espécimes de S. alpinum do Clado II pertencem a mesma espécie, 724 725 confirmando assim que S. alpinum é uma espécie bipolar, com distribuição nos Hemisférios Norte e Sul. 726

Embora as sequências do GenBank oriundas da Áustria e da Itália estejam identificadas como *S. alpinum*, é provável que pertençam a outra espécie do gênero, geneticamente distinta, mas semelhante morfologicamente. Isso porque as comparações morfológicas e químicas com o tipo da espécie indicaram que são a mesma. Porém, a localização geográfica do tipo e da descrição é muito reduzida e permite pouca comparação.

732 A partir do padrão de compartilhamento de haplótipos verificamos que espécimes de Stereocaulon alpinum entre os dois continentes, há o compartilhamento de dois haplótipos (H1 733 e H8), sendo o H1 possivelmente o haplótipo ancestral que ocorre em quase todas as populações 734 735 com exceção de duas áreas da Antártica (Figura 1). Uma possível explicação para esse padrão 736 de distribuição geográfica dentro e entre as populações de Stereocaulon alpinum é que possivelmente houve um evento de dispersão seguido de diversificação. Uma hipótese para a 737 origem de S. alpinum que parece provável é a distribuição geográfica que pelo estudo pode não 738 ser tão ampla assim. Três hipóteses seriam prováveis para isso: pelo fato do gênero apresentar 739 muita variação morfológica intraespecífica; pela descrição ser muito incompleta, sendo fácil de 740 enquadrar espécies em S. alpinum; ou também por ter várias espécies realmente crípticas que 741 não foram descobertas ainda. 742

A identificação de espécies de Stereocaulon não é uma tarefa fácil, devido à alta 743 plasticidade fenotípica encontrada em algumas espécies do gênero, causando assim frequente 744 confusões taxonômicas (Ismed et al. 2018). Diante dos espécimes analisados nesse estudo 745 (Tabela 1), S. alpinum é consistente em suas características morfológicas diagnósticas. Esta 746 espécie é caracterizada pelo pseudopodécio coberto por tomento rosado, os filocládios 747 verruciformes esquamuliformes, esbranquiçados a creme, crenados, geralmente aglomerados 748 749 no topo do pseupodécio e pelo cefalódio esférico contendo Nostoc em filamentos. Contudo, 750 outras características morfológicas como altura, disposição do pseudopodécio, estágios e cor dos cefalódios e forma dos filocládios, S. alpinum apresenta algumas variações. Os 751 pseudopodécios diferem até 4,5 cm de altura, podendo crescer decumbentes e eretos 752 dependendo de sua localização. Os talos de S. alpinum var. erecta e S. alpinum var. alpinum, se 753 754 diferenciam tradicionalmente pelo pseudopodécio. Se os pseudopodécios crescerem eretos e forem maiores que 5 cm correspondem a S. alpinum var. erecta, se crescerem decumbentes a 755 756 eretos e forem menores que 5 cm de altura, correspondem a S. alpinum var. alpinum (Lamb 1977, 1978; Oset 2014). Os cefalódios geralmente encontrados são esverdeados e 757 amarronzados, sendo os esverdeados correspondendo a estágios jovens de desenvolvimento, 758 759 enquanto que os cefalódios amarronzados correspondem a estágios mais antigos de 760 desenvolvimento. Como essa variação está relacionada aos estados de desenvolvimento, é 761 possível encontrar talos com cefalódios em todos os estados de desenvolvimento. Além dessas variações morfológicas da espécie, foram encontradas no espécime Sparrius 9266 procedente 762 763 da Finlândia, discretas variações morfológicas em relação aos espécimes do Hemisfério Sul. Em Sparrius 9266, os filocládios são distintamente esquamiformes, ramificados e sobrepostos, 764 765 e o tomento é denso sobre os cefalódios; enquanto que nos espécimes da Tierra del Fuego e Antarctica, os filocládios variam de verruciformes a levemente esquamiformes, não se 766 ramificam, são confluentes, e o tomento é menos denso sobre os cefalódios. Além da 767 768 morfologia, identificamos os principais compostos químicos dos espécimes de S. alpinum, 769 encontrando principalmente a presença de ácido lobárico e atranorina como já descritos para a 770 espécie (Lindsay 1974). Estudos posteriores com o gênero apontaram a existência de diversos 771 compostos químicos, corroborando que S. alpinum possui atranorina e ácido lobárico como química principal, mas acrescentando que em alguns espécimes pode haver a ausência do ácido 772 lobárico (Øvstedal e Smith 2001). 773

Em nosso conjunto de dados, identificamos os compostos químicos de 15 espécimes de *Stereocaulon alpinum* coletados no Hemisfério Sul (Figura 2). A química da espécie demonstrou ser diversa, contendo nos espécimes compostos como: atranorina, ácido lobárico,

três isômeros (depsidonas) com estruturas muito próxima ao ácido lobárico (-H2), três 777 substâncias de Rf menor que o ácido lobárico (provavelmente lobarina, oxisifulina, ácido 778 colensóico ou picroliquênico), além de Bis-antraquinona de estrutura não definida e ácido 779 bourgeânico. Houve variação infra-específica, com alguns compostos (traços ou não) estão 780 presentes em determinados espécimes e ausentes em outros. Assim separamos os espécimes em 781 três grupos químicos principais (G1, G2 e G3), como detalhado na Tabela 2. A principal 782 783 diferença encontrada foi a presença de bis-antraquinona no espécime (APL765) coletado na Ilha 784 Nelson (Antártica), e a presença de ácido bourgeânico nos espécimes do Grupo 3 (MCScur206, MCScur750, MCScur193 e MCScur843) coletados na Antártica (Figura 2). A maioria dos 785 espécimes pertencem ao Grupo 1, o qual não apresenta esses componentes (bis-antraquinona 786 ou ácido bourgeânico). No entanto, essas diferenças químicas não apresentaram um padrão de 787 distribuição geográfica, nem tiveram suporte nas análises filogenéticas do micobionte (Figura 788 2). 789

No gênero *Stereocaulon* dois tipos de fotobiontes são encontrados, sendo eles algas
verdes (geralmente dos gêneros *Asterochloris* e *Chloroidium*) e cianobactérias (normalmente *Nostoc* ou *Stigonema*) (Huss-Danell 1979; Vančurová et al. 2018). Nos espécimes de *S. alpinum* analisados neste estudo, detectamos uma linhagem de *Asterocholoris* que já havia sido
encontrada em *S. paschale* e *S. vesuvianum* (Figura 4). Esta linhagem, identificada aqui como *Asterochloris sp.*, é proximamente relacionada a *A. irregularis*, uma espécie já relatada como
simbionte de diferentes espécies de *Stereocaulon* e *Cladonia*.

Entretanto, as cianobactérias de *S. alpinum* da Antártica revelaram ser do gênero *Nostoc* (Clado II sensu O'Brien, J. Miadlikowska e F. Lutzoni. 2005), diferindo de outras
cianobactérias associadas ao gênero *Stereocaulon*, como por exemplo, *Stigonema* (Lavoie et al.
2020). Uma única sequência, de um espécime coletado na Ilha Rei George (MCS193), não
agrupou com as outras sequencias geradas de *Nostoc* de *Stereocaulon alpinum*, ficando mais
próxima de sequencias de *Nostoc* de *Nephroma expallidum* (Nyl.) Nyl., *N. arcticum* (L.) Torss.
e *Protopannaria pezizoides* (Weber) P.M. Jørg. & S. Ekman.

Diante disso, a espécie *S. alpinum* é uma espécie monofilética e bipolar (ocorrendo no hemisfério sul e hemisfério norte). Sua morfologia possui variações entre os espécimes, especialmente em caracteres como altura e disposição dos pseudopodécios, estágios-cor dos cefalódios, forma dos filocládios e espessura do tomento, sendo assim uma espécie com alta plasticidade fenotípica. A química de *S. alpinum* é diversa e sem padrões filogenéticos e geográficos. Os fotobiontes (algas verdes e cianobactérias) dos espécimes do sul foram *Asterocholoris* e *Nostoc* respectivamente, ambos de linhagens simbióticas já conhecidas em outros fungos liquenizados. Sendo uma linhagem de alga verde e três linhagens de *Nostoc*.
Também sugerimos revisar sequencias oriundas do Genbank em geral do hemisfério norte, uma
vez que aparentemente tem duas espécies diferentes na Europa.

814

815 **5. Conclusão**

E por fim, com nossos dados, concluímos que *Stereocaulon alpinum* tem distribuição geográfica restrita para regiões polares ou áreas próximas. Divergindo de estudos anteriores no qual apontavam que *S. alpinum* era cosmopolita (Oset 2004; Lamb 1977; Thomson 1984). As sequencias do clado não bipolar (Figura 2) provenientes da Itália (AT1036) e da Áustria (AT1194) pertencem a uma espécie provavelmente restrita a essa região da Europa. Porém, para termos certeza sobre a distribuição geográfica precisaríamos ter dados moleculares dessas regiões.

823

824 Agradecimentos

825 Este estudo foi financiado por Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

826 (CAPES): Bolsa de mestrado da PG, Programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal,

827 UFMS, Brasil.

828 Referências

Alors D, Lumbsch HT, Divakar PK, Leavitt SD, Crespo A (2016) An integrative approach for

understanding diversity in the *Punctelia rudecta* species complex (Parmeliaceae, Ascomycota).

- 831 PLoS One 11(2): e0146537
- Bandelt HJ, Forster P, Röhl A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific
 phylogenies. Molecular Biology and Evolution (1): 37-48

Brien OHE, Miadlikowska J, Lutzoni F (2005) Assessing host specialization in symbiotic

cyanobacteria associated with four closely related species of the lichen fungus *Peltigera*.

- European Journal of Phycology (40): 363–378.
- ⁸³⁷ Colesie C, Büdel B, Hurry V, Green TGA (2018) Can Antarctic lichens acclimatize to changes
- in temperature? Global change biology 24(3): 1123–1135

- 839 Coxson DS, Marsh J (2001) Lichen chronosequences (postfire and postharvest) in lodgepole
- 840 pine (*Pinus contorta*) forests of northern interior British Columbia. Canadian Journal of Botany

841 79(12): 1449–1464

- Barriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D (2012) jModelTest 2: more models, new heuristics
 and parallel computing. Nature Methods (9): 772
- Ellis CJ (2019) Climate change, bioclimatic models and the risk to lichen diversity. Diversity
 11(4): 1–23
- 846 Fujita MK, Leaché AD, Burbrink FT, McGuire JA, Moritz C (2012) Coalescent-based species
- delimitation in an integrative taxonomy. Trends in ecology & evolution 27(9): 480–488
- Fries TM (1858) Monographia Stereocaulorum et Pilophororum. Acta Regiae Soc Sci Upsal
 Ser 3 2(1): 307–380.
- Gardes M, Bruns TD (1993) ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetesapplication to the identification of mycorrhizae and rusts. Molecular Ecology (2): 113–118
- Garrido-Benavent I, Pérez-Ortega S, De los Ríos A (2017) From Alaska to Antarctica: species boundaries and genetic diversity of *Prasiola* (Trebouxiophyceae), a foliose chlorophyte associated with the bipolar lichen-forming fungus *Mastodia tessellata*. Molecular Phylogenetics and Evolution (107): 117–131
- Hawksworth DL, Grube M (2020) Lichens redefined as complex ecosystems. The New
 Phytologist 227(5): 1–3
- Hebert PD, Cywinska A, Ball SL, Dewaard JR (2003) Biological identifications through DNA
- barcodes. Proceedings of the Royal Society of London 270(1512): 313–321
- Högnabba F (2006) Molecular phylogeny of the genus *Stereocaulon* (Stereocaulaceae,
 lichenized ascomycetes). Mycological Research 110(9): 1080–1092
- Högnabba F, Pino-Bodas R, Nordin A, Myllys L, Stenroos S (2014) Phylogenetic position of
- the crustose Stereocaulon species. The Lichenologist 46(1): 103–114
- Honda NK, Vilegas W (1998) A química dos liquens. Química Nova 22(1): 110–125
- Huelsenbeck JP, Ronquist F (2001). MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny.
 Bioinformatics 17.8, 754–755.

- Huss-Danell K (1979) The cephalodia and their nitrogenase activity in the lichen *Stereocaulon paschale*. Zeitschrift für Pflanzenphysiologie 95(5): 431–440.
- 869 Ismed F, Lohézic-Le Dévéhat F, Guiller A, Corlay N, Bakhtiar A, Boustie J (2018)
- 870 Phytochemical review of the lichen genus *Stereocaulon* (Fam. Stereocaulaceae) and related
- pharmacological activities highlighted by a focus on nine species. Phytochemistry Reviews
- 872 17(5): 1165–1178.
- Johnson GT (1938) The taxonomic importance and phylogenetic significance of the cephalodia
 of Stereocaulon. Ann Mo Bot Gard (3): 729.
- Katoh K, et al. (2002) MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based
 on fast Fourier transform. Nucleic Acids Research (30): 3059–3066.
- Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Buxton S, Cooper A,
- Markowitz S, Duran C, Thierer T, Ashton B, Meintje P, Drummond A (2012). Geneious Basic:
- an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of
 sequence data. Bioinformatics, 28(12): 1647–1649.
- Kim TK, Kim JE, Youn UJ, Han SJ, Kim IC, Cho CG, Yim JH (2018) Total Syntheses of
- Lobaric Acid and Its Derivatives from the Antarctic Lichen *Stereocaulon alpinum*. Journal of
 natural products 81(6): 1460–1467.
- Koch NM, Branquinho C, Matos P, Pinho P, Lucheta F, Martins SM, Vargas VM (2016) The
- application of lichens as ecological surrogates of air pollution in the subtropics: a case study in
 South Brazil. Environmental Science and Pollution Research 23(20): 20819–20834.
- Kraichak E, Huang JP, Nelsen M, Leavitt SD, Lumbsch HT (2018) A revised classification of
- orders and families in the two major subclasses of Lecanoromycetes (Ascomycota) based on a
 temporal approach. Botanical Journal of the Linnean Society 188(3): 233–249.
- Lamb IM (1951) On the morphology, phylogeny, and taxonomy of the lichen genus *Stereocaulon*. Canadian Journal of Botany 29(5): 522–584.
- Lamb IM (1977) A conspectus of the lichen genus Stereocaulon (Schreb.) Hoffm. Journal of
- the Hattori botanical laboratory (43): 191–355.
- Lamb IM (1978) Keys to the species of the lichen genus Stereocaulon (Schreb.) Hoffm. Journal
- of the Hattori Botanical Laboratory (44): 209–250.

Lavoie C, Renaudin M, McMullin RT, Gagnon J et al (2020) Extremely low genetic diversity
of *Stigonema* associated with *Stereocaulon* in eastern Canada. The Bryologist 123(2): 188–203.

Librado PJR, Rozas J (2009) DnaSP v5: A Software for Comprehensive Analysis of DNA
Polymorphism Data. Bioinformatics (11): 1451–1452.

- Lindsay DC (1974). The macrolichens of South Georgia. British Antarctic Survey (89)
- 201 Lücking R (2019) Stop the abuse of time! Strict temporal banding is not the future of rank-
- based classifications in fungi (including lichens) and other organisms. Critical Reviews in Plant
 Sciences 38(3): 199–253.
- ⁹⁰⁴ 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.
- Lumbsch HT, Leavitt SD (2011) Goodbye morphology? A paradigm shift in the delimitation
 of species in lichenized fungi. Fungal Diversity (50):59–72.
- ⁹⁰⁹ Lutzoni F, Miadlikowska J (2009) Lichens. Current Biology 19(13): R502–R503.
- 910 Miller MA, Schwartz T (2010) Creating the CIPRES Science Gateway for Inference of Large
- Phylogenetic Trees. Gateway Computing Environments Workshop (GCE), New Orleans, LA,
 2010, pp. 1-8.
- 913 Myllys L, Lohtander K, Tehler A (2001) β-tubulin, ITS and group I intron sequences challenge
- the species pair concept in *Physcia aipolia* and *P. caesia*. Mycologia 93(2): 335–343.
- Nash T (2008). Introduction. In: Nash T. Lichen Biology. 2. Ed. New York: Cambridge
 University Press. cap.01, p.01.
- Orange A, James PW, White FJ. 2010. Microchemical methods for the identification of lichens.
 British Lichen Society (2): 102.
- Oset M (2015). The lichen genus *Stereocaulon* (Schreb.) Hoffm. in Poland–a taxonomic and
 ecological study. Monographiae Botanicae (104): 1–81.
- 921 Øvstedal DO, Smith RI (2001) Lichens of Antarctica and South Georgia. A Guide to their
- 922 Identification and Ecology. Cambridge University Press, Cambridge, 411pp

- Pennisi E (2016) A lichen ménage à trois. Science 353 (6297): 337.
- 924 Rambaut A, Drummond AJ (2018) Posterior Summarization in Bayesian Phylogenetics Using
- 925 Tracer 1.7. Systematic Biology (67): 901–904.
- 926 Schoch CL, Seifert KA, Huhndorf S, Robert V, Spouge JL, Levesque CA et al (2012) Nuclear
- ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for
 Fungi. Proceedings of the National Academy of Sciences 109(16): 6241–6246.
- Sipman HJ, Aptroot A (2001) Where are the missing lichens? Mycological Research 105(12):
 1433–1439.
- 931 Skaloud P, Peksa O (2010) Evolutionary inferences based on ITS rDNA and actin sequences
- 932 reveal extensive diversity of the common lichen alga Asterochloris (Trebouxiophyceae,
- 933 Chlorophyta). Molecular Phylogenetics and Evolution 54(1): 36–46.
- Stamatakis A (2014) RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of
 large phylogenies. Bioinformatics (9):1312-1313.
- Tavalera G, Castresana J (2007) Improvement of Phylogenies after Removing Divergent and
 Ambiguously Aligned Blocks from Protein Sequence Alignments. Systematic Biology (56):
 564–577.
- Thomson JW (1984) American Arctic lichens. The Macrolichenes. New York, NY: ColumbiaUniversity Press.
- Vančurová L, Muggia L, Peksa O, Řídká T, Škaloud P (2018) The complexity of symbiotic
 interactions influences the ecological amplitude of the host: A case study in *Stereocaulon*(lichenized Ascomycota). Molecular ecology 27(14): 3016–3033
- Weber K, Kabsch W (1994) Intron positions in actin genes seem unrelated to the secondary
 structure of the protein. The EMBO Journal 13(6): 1280–1286
- White TJ, Bruns TD, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal
 ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR protocols: a guide to methods and applications
 (18): 315–322
- 949
- 950

951 Material suplementar

952 Informações adicionais podem ser encontradas online na guia de informações de suporte deste

953 artigo.

954

955 Legenda das figuras

956

Figura 1. Inferência filogenética bayesiana (*maximum clade credibility tree*) baseada na matriz de dados concatenados dos marcadores ITS e Beta-Tubulina. Ramos de cor vermelha tiveram altos valores de suporte, tanto na na inferência bayesiana (probabilidade posterior ≥ 0.9), como na análise de máxima verossimilhança (bootstrap ≥ 70). As sequências geradas pelo estudo estão incluídas no grupo *Stereocaulon alpinum* Clado Bipolar. Os círculos coloridos ao lado das sequências do Clado Bipolar representam os grupos químicos encontrados a partir das análises químicas realizadas.

Figura 2. A) Mapas dos pontos de coleta com a indicação dos haplótipos de ITS de cada lugar.
B) *Median-joining network* com sequências do marcador ITS de *Stereocaulon alpinum* e suas distribuições geográficas na região sul da América do Sul e Antártica baseado nas. No quadro 1 é ilustrado os tipos de haplótipos encontrados no sul da América do Sul e Península Antártica.
Enquanto no quadro 2 é apresentado a distribuição e variação dos haplótipos apenas para a Antártica. Já no quadro 3 é representado a rede de haplótipos encontrados na espécie *S. alpinum*, bem como sua frequência de acordo com o tamanho do círculo.

971

972Figura 3. Inferência filogenética bayesiana (maximum clade credibility tree) de cianobactérias973associadas a Stereocaulon alpinum baseada na matriz de dados da região 16S. Ramos grifados974em negrito foram considerados altamente suportados tanto na inferência bayesiana975(probabilidade posterior ≥ 0.9) como na análise de máxima verossimilhança (bootstrap ≥ 70).976As sequências geradas pelo estudo estão incluídas no Clado Nostoc II.

Figura 4. Inferência filogenética bayesiana (*maximum clade credibility tree*) de algas verdes
associadas a *Stereocaulon alpinum* baseada na matriz de dados da região actina tipo I. Ramos

979 grifados em negrito foram considerados suportados tanto na inferência bayesiana
980 (probabilidade posterior ≥ 0.9) como na análise de máxima verossimilhança (bootstrap ≥ 70).
981 O ramo com (•) está presente o clado das sequências desse estudo.

Figura 5. a-l: *Stereocaulon alpinum*. a, Pseudopodécio decumbente; b, Pseudopodécio ereto; c, Filocládios verruciformes; d, Filocládios esquamuliformes, confluentes; e, Filocládios esquamuliformes, ramificados e sobrepostos; f, Cefalódios esverdeados cobertos por um tomento fino; g, Cefalódios amarronzados e fissurados; h, Seção transversal de um cefalódio; i, filamentos de *Nostoc* agrupados em capsulas rodeadas por hifas entrelaçadas. j, tomento rosado; k, Cefalódio coberto por um tomento espesso; l, Apotécio ondulado com disco marromenegrecido. Escalas: a-b, 1.0 cm; h, 20 tr; i, 50 µm; c-l = 1 µ.

- 989
- 990
- 991
- 992
- 993
- 994
- 995
- 996

-

997

998

999

Tabela S1. Sequências utilizadas nesse estudo oriundas do GenBank. Os campos indicados com (-) não foram encontrados nas bibliografias que
 os espécimes foram publicados e nem no GenBank.

| Nomo | Cádigo | Nº de acesso GenBank | | Looplidada | X 7 b | Hanhánia | Defenância |
|--------------------------|--------|----------------------|------------|------------|------------------------|----------|--------------------|
| Iname | Coulgo | ITS | β-tubulina | Locandade | voucher | nerbario | Kelerencia |
| Cladonia ahtii | | AF453275 | AF458486 | - | - | - | Högnabba (2006) |
| C. rangiformis | | AF455172 | AF458522 | - | - | - | Högnabba (2006) |
| Stereocaulon alpestre | AT1031 | DQ396893 | DQ396976 | Islândia | Baldursdóttir S. n. | Н | Högnabba (2006) |
| S. alpinum | AT1194 | DQ396960 | DQ397032 | Áustria | Feuerer 60471a | HBG | Högnabba (2006) |
| S. alpinum | AT1036 | DQ396898 | DQ396978 | Itália | Hyvönen 6877a | TUR | Högnabba (2006) |
| S. alpinum | AT1075 | DQ396915 | DQ396993 | Argentina | Stenroos 5459 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. alpinum | AT1077 | DQ396917 | DQ396995 | Argentina | Stenroos 5496 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. alpinum | AT1040 | DQ396900 | DQ396979 | Argentina | Stenroos 5499 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. alpinum | AT1044 | DQ396903 | DQ396982 | Argentina | Stenroos 5523 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. arcticum | AT1183 | DQ396956 | DQ397029 | Svalbard | Inoue 28229 | TUR | Högnabba (2006) |

| S. azoreum | FH56 | DQ396966 | DQ397036 | Madeira | Krebs 5175 | В | Högnabba (2006) |
|-----------------|------------|----------|----------|-----------|-----------------------------|-------|--------------------|
| S. botryosum | AT1175 | DQ396952 | DQ397026 | Svalbard | Inoue 28228 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. coniophyllum | AT1143 | DQ396936 | DQ397011 | China | Obermayer 8634 sorediate | GZU | Högnabba (2006) |
| S. coniophyllum | AT1144 | DQ396937 | DQ397012 | China | Obermayer 8635 sorediate | GZU | Högnabba (2006) |
| S. coniophyllum | AT1148 | DQ396939 | DQ397014 | China | Obermayer 8354 | GZU | Högnabba (2006) |
| S. coniophyllum | AT1153 | DQ396941 | DQ397016 | China | Obermayer 8181 | GZU | Högnabba (2006) |
| S. coniophyllum | AT1155 | DQ396943 | DQ397018 | China | Obermayer 8643 | GZU | Högnabba (2006) |
| S. corticatulum | AT1047 | DQ396904 | DQ396983 | Argentina | Stenroos 5403 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. corticatulum | AT1048 | DQ396905 | DQ396984 | Argentina | Stenroos 5545 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. cumulatum | FH7 | KF682458 | DQ099628 | Noruega | Haugan SK00- 114 | 0 | Högnabba (2014) |
| S. curtatum | AT1167 | DQ396949 | DQ397023 | Japão | Inoue 28955 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. delisei | FH69 | KF682457 | DQ397046 | Noruega | Hognabba 558 | Н | Högnabba (2014) |
| S. dendroides | Hur 141476 | KY660026 | KY827015 | Coreia | Hur 141476 | KoLRI | Park et al (2018) |
| S. dendroides | Hur 141477 | KP324743 | KY827016 | Coreia | Hur 141477 | KoLRI | Park et al (2018) |
| S. depreaultii | AT1164 | DQ396947 | DQ397021 | Japão | Inoue 28664 | TUR | Högnabba (2006) |

| S. evolutum | AT1085 | DQ396922 | DQ396999 | Finlândia | Stenroos 5595 | TUR | Högnabba (2006) |
|------------------|------------|----------|----------|---------------|-----------------------------|-------|--------------------|
| S. exutum | AT1165 | DQ396948 | DQ397022 | Japão | Inoue 28958 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. exutum | AT1170 | DQ396950 | DQ397024 | Japão | Inoue 28953 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. exutum | Hur 130030 | KF644361 | KY827017 | Coreia | Hur 130030 | KoLRI | Park et al (2018) |
| S. exutum | Hur 130031 | KF644362 | KY827018 | Coreia | Hur 130031 | KoLRI | Park et al (2018) |
| S. farinaceum | FH74 | DQ396973 | DQ397049 | Finlândia | Hognabba 382 | Н | Högnabba (2006) |
| S. foliolosum | AT1138 | DQ396933 | DQ397008 | China | Obermayer 8645 | GZU | Högnabba (2006) |
| S. foliolosum | AT1140 | DQ396934 | DQ397009 | China | Obermayer 8357 | GZU | Högnabba (2006) |
| S. foliolosum | AT1154 | DQ396942 | DQ397017 | China | Obermayer 8644 | GZU | Högnabba (2006) |
| S. foliolosum | AT1172 | DQ396951 | DQ397025 | China | Inoue 28949 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. fronduliferum | FH6 | DQ396962 | DQ397033 | Nova Zelândia | Vezda Lich.rar. exS. 279 | Н | Högnabba (2006) |
| S. glabrum | AT1041 | DQ396901 | DQ396980 | Argentina | Stenroos 5508 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. glabrum | AT1042 | DQ396902 | DQ396981 | Argentina | Stenroos 5509 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. glabrum | AT1054 | DQ396906 | DQ396985 | Argentina | Stenroos 5460 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. glabrum | AT1069 | DQ396909 | DQ396987 | Argentina | Stenroos 5356 | TUR | Högnabba (2006) |

| S. glabrum | AT1070 | DQ396910 | DQ396910 | Argentina | Stenroos 5288 | TUR | Högnabba (2006) |
|----------------|------------|----------|----------|-----------|-----------------------------|-------|--------------------|
| S. glabrum | AT1071 | DQ396911 | DQ396989 | Argentina | Stenroos 5287 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. glabrum | AT1072 | DQ396912 | DQ396990 | Argentina | Stenroos 5406 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. glareosum | FH77 | DQ396974 | DQ397052 | Finlândia | Hognabba 469 | Н | Högnabba (2006) |
| S. intermedium | AT1142 | DQ396935 | DQ397010 | China | Obermayer 8634 granulose | GZU | Högnabba (2006) |
| S. intermedium | AT1147 | DQ396938 | DQ397013 | China | Obermayer 8637 | GZU | Högnabba (2006) |
| S. intermedium | AT1150 | DQ396940 | DQ397015 | China | Obermayer 8642 | GZU | Högnabba (2006) |
| S. intermedium | AT1163 | DQ396946 | DQ397020 | China | Inoue 28948 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. intermedium | Hur 130044 | KF928151 | KY827019 | Coreia | Hur 130044 | KoLRI | Park et al (2018) |
| S. intermedium | Hur 130055 | KF928152 | KY827020 | Coreia | Hur 130055 | KoLRI | Park et al (2018) |
| S. japonicum | AT1162 | DQ396945 | DQ397019 | Coreia | Inoue 28951 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. japonicum | Hur 120706 | KY660024 | KY827021 | Coreia | Hur 120706 | KoLRI | Park et al (2018) |
| S. japonicum | Hur 130069 | KF644365 | KY827022 | Coreia | Hur 130069 | KoLRI | Park et al (2018) |
| S. myriocarpum | AT1133 | DQ396931 | DQ397006 | China | Obermayer 8202 | GZU | Högnabba (2006) |
| S. myriocarpum | AT1134 | DQ396932 | DQ397007 | China | Obermayer 8158 | GZU | Högnabba (2006) |

| S. myriocarpum | AT1177 | DQ396954 | DQ397028 | China | Inoue 28950 | TUR | Högnabba (2006) |
|-----------------|------------|----------|----------|--------------------|----------------------|-------|--------------------|
| S. nanodes | FH71 | DQ396970 | DQ397048 | Noruega | Løfall bpl-L 9587 | 0 | Högnabba (2006) |
| S. nigrum | Hur 060664 | KF644367 | KF644367 | Coreia | Hur 060664 | KoLRI | Park et al (2018) |
| S. nigrum | Hur 070924 | KF644368 | KF644368 | Coreia | Hur 070924 | KoLRI | Park et al (2018) |
| S. nivale | FH125 | KF682456 | KF682459 | EUA: Washington | Glew 020928-1 | WTU | Högnabba (2014) |
| S. nivale | FH126 | KF682455 | KF682460 | EUA: Washington | glew 020928-3 | Н | Högnabba (2014) |
| S. octomerellum | Hur 121094 | KY660025 | KY827025 | Coreia | Hur 121094 | KoLRI | Park et al (2018) |
| S. octomerellum | Hur 141479 | KP324748 | KY827026 | Coreia | Hur 141479 | KoLRI | Park et al (2018) |
| S. paschale | AT1035 | DQ396897 | DQ396977 | Finlândia | Ahti 60905 | Н | Högnabba (2006) |
| S. paschale | AT1087 | DQ396924 | DQ397001 | Finlândia | Stenroos 5597 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. pendulum | FH64 | DQ396969 | DQ397041 | Japão | Hognabba 247 | Н | Högnabba (2006) |
| S. pileatum | Hur 121815 | KP324749 | KY827027 | Coreia | Hur 121815 | KoLRI | Park et al (2018) |
| S. pileatum | Hur 121822 | KF928154 | KY827028 | Coreia | Hur 121822 | KoLRI | Park et al (2018) |
| S. plicatile | FH238 | KF682454 | KF682461 | Suécia | Nordin 6510 | UPS | Högnabba (2014) |
| S. ramulosum | AT1160 | DQ396944 | DQ099629 | Havaí | Inoue 27242 | GZU | Högnabba (2006) |

| S. rivulorum | FH60 | DQ396967 | DQ397038 | Noruega | Sipman 22112 | В | Högnabba (2006) |
|-----------------|------------|----------|----------|-----------|---------------|-------|--------------------|
| S. sasakii | AT1186 | DQ396957 | DQ397030 | Japão | Sasaki 13823 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. sasakii | AT1187 | DQ396958 | DQ397031 | Japão | Sasaki 13825 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. saxatile | AT1078 | DQ396918 | DQ396996 | Finlândia | Stenroos 5591 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. saxatile | AT1081 | DQ396920 | DQ396920 | Finlândia | Stenroos 5594 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. saxatile | AT1086 | DQ396923 | DQ397000 | Finlândia | Stenroos 5596 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. saxatile | AT1089 | DQ396926 | DQ397003 | Finlândia | Stenroos 5600 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. saxatile | AT1090 | DQ396927 | DQ397004 | Finlândia | Stenroos 5603 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. saxatile | AT1092 | DQ396928 | DQ397005 | Finlândia | Stenroos 5606 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. sorediiferum | Hur 130032 | KF928155 | KY827029 | Coreia | Hur 130032 | KoLRI | Park et al (2018) |
| S. sorediiferum | Hur 130046 | KF928156 | KY827030 | Coreia | Hur 130046 | KoLRI | Park et al (2018) |
| S. taeniarum | AT1080 | DQ396919 | DQ397053 | Finlândia | Stenroos 5593 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. tomentosum | AT1032 | DQ396894 | DQ396976 | Islândia | Ahti 60910 | Н | Högnabba (2006) |
| S. tomentosum | AT1061 | DQ396908 | DQ396986 | Argentina | Stenroos 5414 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. tomentosum | AT1073 | DQ396913 | DQ396991 | Argentina | Stenroos 5428 | TUR | Högnabba (2006) |

| S. tomentosum | AT1074 | DQ396914 | DQ396992 | Argentina | Stenroos 5445 | TUR | Högnabbaı (2006) |
|---------------------------------|------------|----------|----------|-----------|-------------------------|-------|---------------------|
| S. tomentosum | AT1076 | DQ396916 | DQ396994 | Argentina | Stenroos 6610 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. tomentosum | AT1084 | DQ396921 | DQ396998 | Finlândia | Stenroos 5607 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. tornense | FH78 | DQ396975 | DQ099632 | Noruega | Dahlkild S. n. | Н | Högnabba (2006) |
| S. urceolatum | AT1193 | DQ396959 | DQ099624 | Suécia | Muhr S. n. | TUR | Högnabba (2006) |
| S. verruciferum | AT1037 | DQ396899 | DQ099633 | Argentina | Stenroos 5289 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. verruculigerum | AT1128 | DQ396930 | DQ099634 | Indonesia | Java, Surdiman S. n. | TUR | Högnabba (2006) |
| S. verruculigerum | Hur 130015 | KP324750 | KY827031 | Coreia | Hur 130015 | KoLRI | Park et al (2018) |
| S. verruculigerum | Hur 130016 | KF644373 | KY827032 | Coreia | Hur 130016 | KoLRI | Park et al (2018) |
| S. vesuvianum | AT1088 | DQ396925 | DQ397002 | Finlândia | Stenroos 5599 | TUR | Högnabba (2006) |
| S. vesuvianum var. nodulosum | Hur 090157 | KF644374 | KY827033 | Coreia | Hur 090157 | KoLRI | Park et al (2018) |
| S. vesuvianum var. nodulosum | Hur 130038 | KF644375 | KY827034 | Coreia | Hur 130038 | KoLRI | Park et al (2018) |

1013 Tabela Suplementar

Tabela S2. Sequências utilizadas nesse estudo oriundas do GenBank. Os campos indicados com (-) não foram encontradas as informações
 correspondentes nas bibliografias dos espécimes, nem no GenBank.

| Espécie de micobionte/alga | Voucher | Origem Geográfica | Nº de acesso Actina | Referência |
|-----------------------------------|-------------|-------------------|---------------------|-------------------------|
| verde | | | GenBank | |
| Lepraria | Nelsen 3960 | USA | EU008704 | Nelsen and Gargas |
| lobificans/Asterochloris sp. | | | | (2007) |
| Lepraria | Nelsen 3973 | USA | EU008707 | Nelsen and Gargas |
| lobificans/Asterochloris sp. | | | | (2007) |
| Lepraria | Nelsen 3966 | USA | EU008697 | Nelsen and Gargas |
| caesioalba/Asterochloris sp. | | | | (2007) |
| Lepraria sp./Asterochloris sp. | Nelsen 2453 | China | EU008716 | Nelsen and Gargas |
| | | | | (2007) |
| Lepraria cf. | Peksa 234 | Slovakia | AM906020 | Skaloud and Peksa |
| caesioalba/Asterochloris friedlii | | | | (2009) |
| Lepraria cf. | Peksa 235 | Slovakia | AM906021 | Skaloud and Peksa |
| caesioalba/Asterochloris friedlii | | | | (2009) |
| Lepraria | Nelsen 3974 | USA: Wisconsin | DQ229898 | Nelsen and Gargas |
| lobificans/Asterochloris sp. | | | | (2006) |
| Lepraria | Peksa 225 | Romania | AM906022 | Skaloud and Peksa |
| caesioalba/Asterochloris friedlii | | | | (2009) |
| Cladonia | RidkaI6 | India | MH382117 | Vancurova et al. (2018) |
| rangiferina/Asterochloris sp. | | | | |
| Cladonia | RidkaIH31 | India | MH382119 | Vancurova et al. (2018) |
| corymbescens/Asterochloris sp. | | | | |
| Cladonia | Peksa 796 | Slovakia | FM955674 | Skaloud and Peksa |
| fimbriata/Asterochloris sp. | | | | (2009) |

| Cladonia rei/Asterochloris sp. | Peksa 787 | Slovakia | FM955675 | Skaloud and Peksa (2009) |
|---|---------------|-----------------------------------|----------|-----------------------------|
| Stereocaulon sp./Asterochloris sp. | Nelsen 2181b | Costa Rica: San José | DQ229896 | Nelsen and Gargas (2006) |
| Pilophorus cf. cereolus/Asterochloris sp. | Nelsen 2233f | Costa Rica: San José | DQ229895 | Nelsen and Gargas (2006) |
| Cladonia scabriuscula/Asterochloris sp. | Ridka IH20 | India: Maharashtra | KP318682 | Skaloud et al. (2015) |
| Stereocaulon cf. obesum/Asterochloris sp. | VancurovaA504 | Panama | MH382135 | Vancurova et al. (2018) |
| Lepraria sp./Asterochloris sp. | Nelsen 2211a | Costa Rica | EU008711 | Nelsen and Gargas (2007) |
| Stereocaulon /Asterochloris woessiae | VancurovaA359 | Portugal: Madeira | MH382128 | Vancurova et al. (2018) |
| Cladonia foliacea/Asterochloris woessiae | Peksa 1008 | Czech Republic:Central Bohemia | AM906049 | Skaloud and Peksa (2009) |
| Stereocaulon azoreum/Asterochloris woessiae | VancurovaA337 | Portugal: Madeira | MH382127 | Vancurova et al. (2018) |
| Stereocaulon sp./Asterochloris woessiae | VancurovaO110 | Faroe Islands | MH382145 | Vancurova et al. (2018) |
| Lepraria borealis/Asterochloris woessiae | Bayerová 3401 | Bulgaria | AM906045 | Skaloud and Peksa (2009) |
| Lepraria caesioalba/Asterochloris woessiae | Peksa 231 | Czech Republic | AM906047 | Skaloud and Peksa (2009) |

| Lepraria borealis/Asterochloris woessiae | Bayerová 3402 | Bulgaria | AM90604 | Skaloud and Peksa |
|--|-------------------|-----------------------------|--------------|-----------------------------|
| | | | 8 | (2009) |
| Lepraria nylanderiana/Asterochloris woessiae | Peksa 542 | Czech Republic:Central | AM90604 | Skaloud and Peksa |
| | | Bohemia | 6 | (2009) |
| Lepraria nigrocincta/Asterochloris sp. | Nelsen 3637b | Costa Rica | EU008710 | Nelsen and Gargas (2007) |
| Lepraria sp./Asterochloris sp. | Nelsen 2166a | Costa Rica | EU008714 | Nelsen and Gargas (2007) |
| Cladonia macrophylla/Asterochloris sp. | VancurovaO98 | Faroe Islands | MH38215 0 | Vancurova et al. (2018) |
| Stereocaulon saxatile/Asterochloris sp. | Talbot KIS 187 | Alaska, USA | DQ229897 | Nelsen and Gargas (2006) |
| Stereocaulon alpinum/Asterochloris sp. | VancurovaA37 8 | Iceland: Southern Peninsula | MH38212 9 | Vancurova et al. (2018) |
| Stereocaulon saxatile/Asterochloris sp. | VancurovaA39 2 | Iceland | MH38213 1 | Vancurova et al. (2018) |
| Lepraria sp./Asterochloris sp. | Nelsen 2585 | China | EU008715 | Nelsen and Gargas (2007) |
| Cladonia sp./Asterochloris mediterranea | not informed | Spain: Alicante, Villena | KP257351 | Moya et al. (2015) |
| Lepraria caesioalba/Asterochloris lobophora | Peksa 194 | Czech Republic | AM90603 | Skaloud and Peksa |
| | | | 8 | (2009) |
| Lepraria caesioalba/Asterochloris lobophora | Peksa 166 | Czech Republic | AM90603 | Skaloud and Peksa |
| | | | 7 | (2009) |
| Lepraria cf. caesioalba/Asterochloris | Peksa 196 | Czech Republic | AM90603 | Skaloud and Peksa |
| lobophora | | | 6 | (2009) |

| Lepraria cf. caesioalba/Asterochloris lobophora | Peksa 233 | Czech Republic | AM906035 | Skaloud and Peksa (2009) |
|---|----------------|--------------------------|----------|-----------------------------|
| Lepraria borealis/Asterochloris lobophora | Peksa 866 | Czech Republic | KP318679 | Skaloud et al. (2015) |
| Diploschistes muscorum/Asterochloris lobophora | Peksa 182 | Czech Republic | AM906040 | Skaloud and Peksa (2009) |
| Stereocaulon sp./Asterochloris lobophora | VancurovaDS3.1 | Russia: Eastern Siberia | MH382136 | Vancurova et al. (2018) |
| Cladonia cf. bacillaris/Asterochloris sp. | Nelsen 3950 | USA: Pennsylvania | DQ229892 | Nelsen and Gargas (2006) |
| Stereocaulon alpinum/Asterochloris sp. | VancurovaL958 | Austria: Tyrol | MH382141 | Vancurova et al. (2018) |
| Stereocaulon cf. alpinum/Asterochloris sp. | VancurovaO50 | Canada | MH382146 | Vancurova et al. (2018) |
| Anzina carneonivea/Asterochloris phycobiontica | not informed | Italy:Trento | AM906042 | Skaloud and Peksa (2009) |
| Lepraria neglecta/Asterochloris phycobiontica | Bayerová 3606 | Ukraine:East Carpathians | AM906043 | Skaloud and Peksa (2009) |
| Lepraria neglecta/Asterochloris phycobiontica | Bayerová 3600 | Ukraine:East Carpathians | AM906044 | Skaloud and Peksa (2009) |
| Stereocaulon tomentosum/Asterochloris sp. | Talbot 400 | USA: Alaska | DQ229893 | Nelsen and Gargas (2006) |
| Stereocaulon sp./Asterochloris sp. | VancurovaL1074 | USA: Alaska | MH382137 | Vancurova et al. (2018) |

| Stereocaulon | VancurovaL1642 | Greenland: Disko Island | MH382138 | Vancurova et al. (2018) |
|----------------------------------|----------------|-------------------------|----------|--------------------------|
| alpinum/Asterochloris sp. | | | | |
| Lepraria | Peksa 551 | Czech Republic | FM955671 | Skaloud and Peksa (2009) |
| caesioalba/Asterochloris | | | | |
| echinata | | | | |
| Lepraria sp./Asterochloris | Peksa 186 | Czech Republic | AM906017 | Skaloud and Peksa (2009) |
| echinata | | | | |
| Lepraria sp./Asterochloris | Peksa 185 | Czech Republic | FM955670 | Skaloud and Peksa (2009) |
| echinata | | | | |
| Lepraria rigidula/Asterochloris | Peksa 855 | Czech Republic | FN556047 | Peksa and Skaloud (2011) |
| <i>sp</i> . | | | | |
| Diploschistes | Peksa 495 | Czech Republic | KP318681 | Skaloud et al. (2015) |
| muscorum/Asterochloris sp. | | | | |
| Xanthoria | not informed | Italy | AM906030 | Skaloud and Peksa (2009) |
| parietina/Asterochloris italiana | | | | |
| Stereocaulon | VancurovaA10 | Argentina: Tierra del | MH382121 | Vancurova et al. (2018) |
| alpinum/Asterochloris italiana | | Fuego | | |
| Trebouxia magna/Asterochloris | not informed | not informed | DQ229894 | Nelsen and Gargas (2006) |
| <i>sp</i> . | | | | |
| Stereocaulon | VancurovaO70 | Portugal: Madeira | MH382147 | Vancurova et al. (2018) |
| azoreum/Asterochloris sp. | | | | |
| Stereocaulon sp./Asterochloris | VancurovaA14 | Argentina: Neuquen | MH382124 | Vancurova et al. (2018) |
| <i>sp</i> . | | | | |
| Stereocaulon | Talbot 101 | USA: Alaska | DQ229891 | Nelsen and Gargas (2006) |
| paschale/Asterochloris sp. | | | | |
| Stereocaulon sp./Asterochloris | VancurovaO10 | Mexico: Oaxaca | MH382144 | Vancurova et al. (2018) |
| <i>sp</i> . | | | | |
| Cladonia fimbriata/Asterochloris | Peksa 815 | Slovakia | FM955676 | Skaloud and Peksa (2009) |
| <i>sp</i> . | | | | |

| Cladonia rei/Asterochloris sp. | Peksa 921 | Czech Republic:East Bohemia | FM955677 | Skaloud and Peksa (2009) |
|---|----------------|--------------------------------|----------|--------------------------|
| Cladonia mitis/Asterochloris irregularis | Peksa 789 | Slovakia:Gelnica | AM906029 | Skaloud and Peksa (2009) |
| Stereocaulon alpinum or Stereocaulon | VancurovaL1645 | Greenland: Ilulissat | MH382139 | Vancurova et al. (2018) |
| paschale/Asterochloris irregularis | | | | |
| Stereocaulon | VancurovaL1646 | Greenland: Disko Island | MH382140 | Vancurova et al. (2018) |
| alpinum/Asterochloris irregularis | | | | |
| Stereocaulon | Talbot 167 | USA: Alaska | DQ229890 | Nelsen and Gargas (2006) |
| subcoralloides/Asterochloris sp. | | | - | |
| Stereocaulon | Peksa 999 | Czech Republic:Bohemian | AM906028 | Skaloud and Peksa (2009) |
| pileatum/Asterochloris irregularis | | Switzerland | | |
| Stereocaulon sp./Asterochloris | not informed | Iceland:Langa River | AM906027 | Skaloud and Peksa (2009) |
| irregularis | | | | |
| Stereocaulon | VancurovaL992 | Austria: Styria | MH382143 | Vancurova et al. (2018) |
| vesuvianum/Asterochloris | | | | |
| irregularis | | | | |
| Stereocaulon | Talbot 153 | USA: Alaska | DQ229889 | Nelsen and Gargas (2006) |
| botryosum/Asterochloris sp. | | | | |
| Stereocaulon | VancurovaL988 | USA: Alaska | MH382142 | Vancurova et al. (2018) |
| paschale/Asterochloris sp. | | | | |
| Stereocaulon | Talbot 281 | USA: Alaska | DQ229888 | Nelsen and Gargas (2006) |
| vesuvianum/Asterochloris sp. | | | | |
| Stereocaulon | VancurovaO75 | Portugal: Madeira | MH382148 | Vancurova et al. (2018) |
| pileatum/Asterochloris glomerata | | | | |
| | | | | |

| Cladonia squamosa/Asterochloris glomerata | not informed | USA:Massachusetts, Leverett | AM906025 | Skaloud and Peksa (2009) |
|--|---------------|---|----------|-----------------------------|
| Stereocaulon evolutoides/Asterochloris | not informed | USA:Massachusetts, Mt Wachusett, Princeton | AM906024 | Skaloud and Peksa (2009) |
| glomerata Diploschistes muscorum/Asterochloris | Peksa 498 | Czech Republic | AM906026 | Skaloud and Peksa (2009) |
| Pilophorus acicularis/Asterochloris magna | not informed | USA:Washington, Olympic National Park | AM906041 | Skaloud and Peksa (2009) |
| Cladonia cristatella/Asterochloris erici | not informed | USA:Massachusetts, Whitinsville | AM906018 | Skaloud and Peksa (2009) |
| Cladonia furcata/Asterochloris | RidkaIH23 | India | MH382118 | Vancurova et al. (2018) |
| Stereocaulon vesuvianum/Asterochloris sp. | VancurovaO76 | Faroe Islands | MH382149 | Vancurova et al. (2018) |
| Lepraria rigidula/Asterochloris gaertneri | Peksa 236 | Czech Republic | AM906023 | Skaloud and Peksa (2009) |
| Lepraria rigidula/Asterochloris gaertneri | Peksa 877 | Czech Republic | FM955672 | Skaloud and Peksa (2009) |
| Lepraria rigidula/Asterochloris gaertneri | Peksa 900 | Czech Republic | FM955673 | Skaloud and Peksa (2009) |
| Lepraria caesioalba/Asterochloris sp. | Peksa 873 | USA | FN556051 | Peksa and Skaloud (2011) |
| Lepraria sp./Asterochloris sp. | Peksa 870 | USA | FN556052 | Peksa and Skaloud (2011) |
| Stereocaulon cf. alpinum/Asterochloris sp. | VancurovaA386 | Iceland | MH382130 | Vancurova et al. (2018) |

| Stereocaulon | Peksa 1011 | Slovakia | MH382116 | Vancurova et al. (2018) |
|---------------------------------|---------------|-------------------------|----------|-------------------------|
| nanodes/Asterochloris sp. | | | | |
| Lapraria alpina/Asterochloris | Peksa 860 | Spain | FN556048 | Peksa and Skaloud |
| <i>sp</i> . | | | | (2011) |
| Stereocaulon | VancurovaA11 | Argentina: Tierra del | MH382122 | Vancurova et al. (2018) |
| vesuvianum/Asterochloris sp. | | Fuego | | |
| Stereocaulon | VancurovaA3 | Argentina: Santa Cruz | MH382125 | Vancurova et al. (2018) |
| vesuvianum/Asterochloris sp. | | | | |
| Stereocaulon cf. | VancurovaA1 | Argentina: Santa Cruz | MH382120 | Vancurova et al. (2018) |
| alpinum/Asterochloris sp. | | | | |
| Stereocaulon | VancurovaA319 | Costa Rica: PN Chirripo | MH382126 | Vancurova et al. (2018) |
| _myriocarpum/Asterochloris sp. | | | | |
| Stereocaulon | VancurovaA498 | Venezuela: Pico Bolivar | MH382133 | Vancurova et al. (2018) |
| _myriocarpum/Asterochloris sp. | | | | |
| Stereocaulon | VancurovaA496 | Venezuela: Pico Bolivar | MH382132 | Vancurova et al. (2018) |
| myriocarpum/Asterochloris sp. | | | | |
| Stereocaulon | VancurovaA502 | Venezuela: Pico Bolivar | MH382134 | Vancurova et al. (2018) |
| _myriocarpum/Asterochloris sp. | | | | |
| Stereocaulon | VancurovaA13 | Argentina: Tierra del | MH382123 | Vancurova et al. (2018) |
| vesuvianumAsterochloris sp. | | Fuego | | |
| Lepraria neglecta/Asterochloris | Peksa 207 | Czech Republic | AM906034 | Skaloud and Peksa |
| leprarii | | | | (2009) |
| Lepraria neglecta/Asterochloris | Peksa 183 | Czech Republic | AM906031 | Skaloud and Peksa |
| leprarii | | | | (2009) |
| Lepraria | Peksa 173 | Czech Republic | AM906032 | Skaloud and Peksa |
| caesioalba/Asterochloris | | | | (2009) |
| leprarii | | | | |

| Lepraria | Peksa 204 | Czech Republic | AM906033 | Skaloud and Peksa |
|------------------------------|--|---|---|--|
| caesioalba/Asterochloris | | | | (2009) |
| leprarii | | | | |
| Stereocaulon dactylophyllum/ | not informed | USA:Vermont, Stowe | AM906019 | Skaloud and Peksa |
| Asterochloris excentrica | | | | (2009) |
| | Lepraria caesioalba/Asterochloris leprarii Stereocaulon dactylophyllum/ Asterochloris excentrica | LeprariaPeksa 204caesioalba/AsterochlorisleprariiStereocaulon dactylophyllum/not informedAsterochloris excentrica | LeprariaPeksa 204Czech Republiccaesioalba/AsterochlorisIeprariiIeprariiStereocaulon dactylophyllum/not informedUSA:Vermont, StoweAsterochloris excentricaImage: Content of the second of the se | LeprariaPeksa 204Czech RepublicAM906033caesioalba/Asterochloris leprariiImage: Construct of the second |

Tabela S3. Sequências utilizadas nesse estudo oriundas do GenBank de cianobactéria. Os campos indicados com (-) não foram encontradas as
 informações correspondentes nas bibliografias dos espécimes, nem no GenBank.

| 1041 | Espécie do | Voucher | Origem geográfica | Nº de acesso 16S | Referência |
|------|--------------------------------|-------------------------|-----------------------|------------------|---------------------------|
| | micobionte/cianobactéria | | | GenBank | |
| | Nephroma arcticum/Nostoc sp. | not informed | Lapland, Jehkats | JQ007763 | Kaasalainen et al. (2012) |
| | Nephroma arcticum/Nostoc sp. | JR08_B | Finland, Saarijärvi | KF359685 | Kaasalainen et al. (2015) |
| | Nephroma arcticum/Nostoc sp. | UK10_564 | Finland, Saarijärvi | KF359686 | Kaasalainen et al. (2015) |
| | not informed/Nostoc sp. | not informed | not informed | LC103276 | Segawa et al. (2017) |
| | Nephroma arcticum/Nostoc sp. | JR08_H18 | Finland, Laukaa | KF359688 | Kaasalainen et al. (2015) |
| | Peltigera evansiana/Nostoc sp. | UK08_159 | USA, Oregon | KF359715 | Kaasalainen et al. (2015) |
| | Stereocaulon | Stenroos 5428 | Argentina: Tierra del | DQ265952 | Hognabba (2006) |
| | tomentosum/Nostoc sp. | | Fuego | | |
| | Protopannaria | UK08_120 | Finland, Kuhmo | KF359684 | Kaasalainen et al. (2015) |
| | pezizoides/Nostoc sp. | | | | |
| | cold-fumarole soil (elev. 5824 | not informed | Socompa Volcano, | FJ592873 | Costello et al. (2009) |
| | m)/Nostoc sp. | | Andes | | |
| | Nephroma arcticum/Nostoc sp. | not informed | Lapland, Jehkats | JQ007764 | Kaasalainen et al. (2012) |
| | Nephroma expallidum/Nostoc | Hansen, 31 vii 1998 | SW Greenland | AY333642 | Lohtander et al. (2003) |
| | <i>sp</i> . | | | | |
| | Protopannaria | JR08_A | Finland, Saarijärvi | KF359687 | Kaasalainen et al. (2015) |
| | pezizoides/Nostoc sp. | | | | |
| | Nephroma expallidum/Nostoc | not informed | not informed | AY328896 | Oksanen et al. (2004) |
| | <i>sp</i> . | | | | |
| | Peltigera lichen | not informed | Chile | KX255143 | Zuniga et al. (2017) |
| | substrate/Nostoc sp. | | | | |
| | Peltigera membranacea/Nostoc | D. Bastian & M. Dignard | Canada | DQ185248 | O'Brien et al. (2005) |
| | sp. | 575 | | | |
| | Peltigera sp./Nostoc sp. | not informed | Chile | KX255147 | Zuniga et al. (2017) |

| Permafrost darkness/Nostoc | not informed | Russia: Siberia, Kolyma | EU282432 | Vishnivetskaya (2009) |
|----------------------------------|------------------------|------------------------------|----------|---------------------------|
| sp. | | Lowland | | |
| Peltigera evansiana/Nostoc sp. | not informed | USA, OR, Marion Co. | JQ007784 | Kaasalainen et al. (2012) |
| Peltigera praetextata/Nostoc sp. | Rikkinen V2a | NW U.S.A. | AY333639 | Lohtander et al. (2003) |
| Peltigera lichen | not informed | Chile | KX255127 | Zuniga et al. (2017) |
| substrate/Nostoc sp. | | | | |
| <i>Peltigera</i> lichen | not informed | Chile | KX255130 | Zuniga et al. (2017) |
| substrate/Nostoc sp. | | | | |
| <i>Peltigera</i> lichen | not informed | Chile | KX255092 | Zuniga et al. (2017) |
| substrate/Nostoc sp. | | | | |
| <i>Peltigera</i> lichen | not informed | Chile | KX255084 | Zuniga et al. (2017) |
| substrate/Nostoc sp. | | | | |
| <i>Peltigera</i> lichen | not informed | Chile | KX255064 | Zuniga et al. (2017) |
| substrate/Nostoc sp. | | | | |
| Collema sp./Nostoc sp. | JR000734 | China, Hunan | KF359712 | Kaasalainen et al. (2015) |
| <i>Peltigera</i> lichen | not informed | Chile | KX255279 | Zuniga et al. (2017) |
| substrate/Nostoc sp. | | | | |
| <i>Peltigera</i> lichen | not informed | Chile | KX255172 | Zuniga et al. (2017) |
| substrate/Nostoc sp. | | | | |
| Peltigera rufescens/Nostoc sp. | F. Lutzoni 99.07.18-24 | Poland | DQ185249 | O'Brien et al. (2005) |
| not informed/Nostoc commune | not informed | China | EU178142 | Unpublished |
| Soil/Nostoc punctiforme | M. Lefèvre SAG 71.79 | France | DQ185258 | O'Brien et al. (2005) |
| mature forest of Lenga Beech | not informed | Chile: Tierra del Fuego | KC514662 | Unpublished |
| (Nothofagus pumilio)/Nostoc | | | | |
| sp. | | | | |
| free-living/Nostoc sp. | not informed | not informed Norway: Kvaloya | | Unpublished |

| Pannaria obscura/Nostoc sp. | Tibell 14002 (1983) | 14002 (1983) Australia | | Elvebakk et al. (2008) |
|---------------------------------|-------------------------------|--------------------------|----------|------------------------|
| not informed/Nostoc sp. | not informed | Norway: Skibotn | EU022742 | Unpublished |
| Nothofagus pumilio | not informed | Chile: Aysen Region, | KF718392 | Zuniga et al. (2015) |
| forest/Nostoc sp. | | Coyhaique National | | - |
| | | Reserve | | |
| Peltigera lichen | era lichen not informed Chile | | KX255239 | Zuniga et al. (2017) |
| substrate/Nostoc sp. | | | | |
| Peltigera lichen | not informed | Chile | KX255207 | Zuniga et al. (2017) |
| substrate/Nostoc sp. | | | | |
| mature forest of Lenga Beech | not informed | Chile: Tierra del Fuego, | KC514661 | Zuniga et al. (2017) |
| (Nothofagus pumilio)/Nostoc sp. | | Karukinka's Natural Park | | |
| Peltigera lichen substrate, | not informed | Antarctica | KX255325 | Zuniga et al. (2017) |
| volcanic hillside, | | | | |
| Deception/Nostoc sp. | | | | |
| Peltigera lichen substrate, | not informed | Chile | KX255274 | Zuniga et al. (2017) |
| grassland, Navarino/Nostoc sp. | | | | |
| Peltigera lichen substrate, | not informed | Antarctica | KX255334 | Zuniga et al. (2017) |
| volcanic hillside, | | | | |
| Deception/Nostoc sp. | | | | |
| not informed/Nostoc | not informed | China | EU178144 | Unpublished |
| sphaeroides | | | | |
| not informed/Nostoc | not informed | China | EU178143 | Unpublished |
| flagelliforme | | | | |
| Pseudocyphellaria gilva/Nostoc | Elvebakk 06:202 | Chile | EF536023 | Elvebakk et al. (2008) |
| <i>sp</i> . | | | | |
| Pannaria andina/Nostoc sp. | Elvebakk 06:307 | Chile | EF536022 | Elvebakk et al. (2008) |
| Soil/Nostoc sp. | A. Watanabe PCC 6720 | Indonesia | DQ185240 | O'Brien et al. (2005) |
| not informed/Nodularia sp. | not informed | not informed | AB075991 | Tomitani et al. (2006) |

| not | not informed | Japan:Shiga, Otsu, | AB271212 | Ishikawa et al. (2006) |
|--------------------------|--------------------|--------------------|----------|------------------------------|
| spiroides | | Lake Diwa | | |
| Coccocarpia | Lücking et al. R17 | Costa Rica | EU818951 | Lucking et al. (2009) |
| stellata/Scytonema sp | | | | |
| Dictyonema | Lücking et al. R06 | Costa Rica | EU818954 | Lucking et al. (2009) |
| glabratum/Scytonema sp | | | | |
| Dictyonema | Lücking 16561 | Costa Rica | EU818966 | Lucking et al. (2009) |
| sericeum/Scytonema sp | | | | |
| Dictyonema | Lücking et al. R16 | Costa Rica | EU818948 | Lucking et al. (2009) |
| glabratum/Scytonema sp | | | | |
| Dictyonema | Lücking et al. R19 | Costa Rica | EU818957 | Lucking et al. (2009) |
| glabratum/Scytonema sp. | | | | |
| Dictyonema | Lücking et al. R11 | Costa Rica | EU818955 | Lucking et al. (2009) |
| glabratum/Scytonema sp. | | | | |
| Lichinodium | not informed | Canada | KT883991 | Cornejo & Scheidegger (2016) |
| sp./Rhizonema sp. | | | | |
| Dictyonema | Lücking et al. R18 | Costa Rica | EU818956 | Lucking et al. (2009) |
| glabratum/Scytonema sp. | | | | |
| Parmeliella | not informed | Canada | KT883970 | Cornejo & Scheidegger (2016) |
| parvula/Scytonema sp. | | | | |
| Stereocaulon | Malcom & Vezda; | New Zealand | DQ265951 | Stenroos et al. 2006 |
| fronduliferum/Nostoc sp. | Vezda exs. 279 | | | |
| Coccocarpia | Lücking et al. R13 | Costa Rica | EU818950 | Lucking et al. (2009) |
| palmicola/Scytonema sp. | | | | |
| Dictyonema | Lücking et al. R20 | Costa Rica | EU818958 | Lucking et al. (2009) |
| glabratum/Scytonema sp. | | | | |

| 1051 | Dictyonema | Nelsen 3754 | Costa Rica | EU818952 | Lucking et al. (2009) |
|------|------------------------------|--------------------|------------------|----------|------------------------|
| | aeruginosulum/Scytonema sp. | | | | |
| | Coccocarpia | Lücking et al. R03 | Costa Rica | EU818949 | Lucking et al. (2009) |
| | palmicola/Scytonema sp. | | | | |
| | "soil"/Westiellopsis sp. | not informed | Papua New Guinea | AJ544222 | Gugger et al. (2004) |
| | "cryptoendolithic in | not informed | South Africa | AJ544080 | Gugger et al. (2004) |
| | sandstone in | | | | |
| | freshwater''/Nostochopsis | | | | |
| | lobatus | | | | |
| | not informed/Hapalosiphon | not informed | not informed | AB093484 | Unpublished |
| | delicatulus | | | | |
| | not informed/Fischerella | PCC 7414 | New Zealand | AF132788 | Turner et al. (1999) |
| | muscicola | | | | |
| | ''Dinghu | not informed | China | KJ786940 | Song et al (2015) |
| | mountain''/Stigonema | | | | |
| | dinghuense | | | | |
| | Stereocaulon | Inoue 28958 | Japan | DQ265950 | Stenroos et al. 2006 |
| | exutum/Stigonema sp. | | | | |
| | ''Jureira-Itatins Ecological | not informed | Brazil | MK471332 | Unpublished |
| | Station on rock''/Stigonema | | | | |
| | <i>sp</i> . | | | | |
| | Sphagnum bog/Stigonema | not informed | Germany | AJ544082 | Gugger & Hoffmann |
| | ocellatum | | | | (2004) |
| | not informed/Scytonema sp. | not informed | not informed | AB093483 | Unpublished |
| | not informed/Scytonema sp. | not informed | not informed | AY069954 | Unpublished |
| | "geothermal | not informed | New Zealand | DQ235801 | Unpublished |
| | rock''/Scytonema sp. | | | | - |
| | Crystal Cave, | PCC 7110 | Bermuda | AF132781 | Tomitani et al. (2006) |
| | limestone/Scytonema | | | | |
| | hofmanni | | | | |
| | | | | | |

| | Crystal Cave, | PCC 7110 | Bermuda | AB075996 | Tomitani et al. (2006) |
|----|---------------------------------|--------------|-------------------|----------|------------------------|
| | limestone/Scytonema hofmanni | | | | |
| | Periphyton/Scytonema | not informed | Brazil | KC682101 | Komarek et al. (2013) |
| | arcangeli | | | | |
| | biological soil crust/Scytonema | not informed | USA | DQ531698 | Yeager et al. (2007) |
| | sp. (No artigo aparece como S. | | | | |
| | hyalinum) | | | | |
| | Sphagnum bog/Gloeocapsa sp. | PCC 73106 | Switzerland | AB039000 | Ishida et al. (2001) |
| | kopara microbial | Not Informed | French | AJ621832 | Unpublished |
| | mat/Chroococcus submarinus | | Polynesia:Tuamotu | | |
| | | | archipelago | | |
| | "seagrasses"/Gloeothece sp. | Not Informed | Kenia | DQ072918 | Uku et al. (2007) |
| | ''quartz | Not Informed | China | DQ914863 | Pointing et al. (2007) |
| | hypoliths''/Chroococcidiopsis | | | | |
| 54 | | | | | |
| 55 | | | | | |
| | | | | | |
| 6 | | | | | |
| 7 | | | | | |
| - | | | | | |
| 8 | | | | | |
| 9 | | | | | |
| 0 | | | | | |
| 1 | | | | | |



Figura 2. A) Mapas dos pontos de coleta com a indicação dos haplótipos de ITS de cada lugar. B) *Median-joining network* com sequências
do marcador ITS de *Stereocaulon alpinum* e suas distribuições geográficas na região sul da América do Sul e Antártica baseado nas. No quadro 1
é ilustrado os tipos de haplótipos encontrados no sul da América do Sul e Península Antártica. Enquanto no quadro 2 é apresentado a distribuição
e variação dos haplótipos apenas para a Antártica. Já no quadro 3 é representado a rede de haplótipos encontrados na espécie *S. alpinum*, bem como
sua frequência de acordo com o tamanho do círculo.



Figura 5. a-l: *Stereocaulon alpinum*. a, Pseudopodécio decumbente; b, Pseudopodécio ereto; c, Filocládios verruciformes; d, Filocládios esquamuliformes, confluentes; e, Filocládios esquamuliformes, ramificados e sobrepostos; f, Cefalódios esverdeados cobertos por um tomento fino; g, Cefalódios amarronzados e fissurados; h, Seção transversal de um cefalódio; i, filamentos de *Nostoc* agrupados em capsulas rodeadas por hifas entrelaçadas. j, tomento rosado; k, Cefalódio coberto por um tomento espesso; l, Apotécio ondulado com disco marromenegrecido. Escalas: a-b, 1.0 cm; h, 20 tr; i, 50 µm; c-l = 1 µ.

| Stereocaulon nivale FH125 |
|---|
| Stereocaulon nivale FH126 |
| Stereocaulon tornense FH78 |
| Stereocaulon plicatile FH238 |
| Stereocaulon cumulatum FH7 |
| Stereocaulon urceolatum AT1193 |
| Stereocaulon delisei FH69 |
| Stereocaulon corticatulum AT1047 |
| Stereocaulon corticatulum AT1048 |
| Stereocaulon ramulosum AT1160 |
| Stereocaulon fronduliferum FH6 |
| Stereocaulon alpestre AT1031 |
| L Stereocaulon rivulorum FH60 |
| Stereocaulon alpinum AT1036_Itália |
| Stereocaulon alpinum AT1194_Àustria |
| Stereocaulon botryosum AT1175 |
| Stereocaulon farinaceum FH74 |
| Stereocaulon glareosum FH77 |
| Stereocaulon intermedium Hur130044 |
| Stereocaulon intermedium Hur130055 |
| Stereocaulon sasakii AT1186 |
| Stereocaulon sasakii AT1187 |
| Stereocaulon tomentosum AT1032 |
| Stereocaulon tomentosum AT1061 |
| Stereocaulon tomentosum AT1073 |
| Stereocaulon tomentosum AT1074 |
| Stereocaulon tomentosum AT1076 |
| Stereocaulon tomentosum AT1084 |
| Stereocaulon nanodes FH71 |
| Stereocaulon verruculigerum AT1128 |
| — Stereocaulon depreaultii AT1164 |
| Stereocaulon exutum AT1165 |
| Stereocaulon exutum Hur130031 |
| Stereocaulon octomerellum Hur121094 |
| Stereocaulon octomerellum Hur141479 |
| Stereocaulon pileatum Hur121822 |
| Stereocaulon pileatum Hur121815 |
| Stereocaulon japonicum AT1162 |
| Stereocaulon japonicum Hur120706 |
| Stereocaulon japonicum Hur130069 |
| Stereocaulon verruculigerum Hur130015 |
| Stereocaulon verruculigerum Hur130016 |
| Stereocaulon exutum AT1170 |





0.04



Landing and the second Asterochioris friedili from Lepraria ct. caesioatha (AMA9060201) terochuoris friedill from Lennaria ct. caeesioatua (AM90692.11) Astronomic and a state of the s Asterochloris sp. from Lepraria Jobificans (ELU00870A) Asterochloris sp. from Cladonia rangiferina (MH382117) ⁴⁵ferochions woessige from Caronia fulgeed AM006491 ^{Asterochloris} ^{woessige from Ste^{reocaulon azoreun} (MH382128) *H*} Asterochloris sp. from Cladonia fimbriata (FM955674) Kasterochloris sp. from Leprania lobificans (EU008707) Asterochloris sp. from Cladonia rei (FM955675) L Asterochloris friedlii from Lepraria caesioalba (AM906022) ^{Aster}ochloris wo_{essiae} from Stereo_{caulon} azoreum (MH382127) terochion's sp. from Lepraria sp. (EU008716) Asterochloris sp. from Lepraria sp. (EU008711) — Asterochloris sp. from Lepraria caesioalba (EU008697) Asterothor's woossile front epiere creat Pare officies and a for land the second and the second sec Asterochloris sp. from Pilophorus cf. cereolus (DQ229895)_ Asterochloris sp. from Stereocaulon sp. (DQ229896)= Cladonia corymbescens (MH382119) Asterochloris sp. from Cladonia scabriuscula (KP318682)— Asterochloris sp. from Stereocaulon cf. obesum (MH382135)—