



**Serviço Público
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Instituto de Biociências**



**DNA barcoding de espécies brasileiras de
Parmotrema A. Massal. (Ascomycota liquenizados)**

Bruna da Rocha Maia

2025

Bruna da Rocha Maia

**DNA barcoding de espécies brasileiras de *Parmotrema* A.
Massal. (Ascomycota liquenizados)**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado para graduação no curso de
Ciência Biológicas Bacharelado, da
Universidade Federal de Mato Grosso do
Sul - UFMS.

Orientadora: Profa. Dra. Aline Pedroso
Lorenz.

Campo Grande - MS

2025

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), pelo fomento, estrutura de ensino e pesquisa e também pelo compromisso com a formação de qualidade. Sou grata pelas oportunidades oferecidas ao longo da minha trajetória acadêmica

à Profa. Dra Aline, expressei minha profunda gratidão por todos os anos de orientação, aprendizado e incentivo. Foi um privilégio trabalhar ao lado de uma profissional tão dedicada, cujo exemplo me inspira e motiva.

Um agradecimento especial ao Laboratório de Ecologia e Biologia Evolutiva, que se tornou minha segunda casa por tanto tempo e onde dei meus primeiros passos como cientista. À Jô, sou grata por tudo que me ensinou, por sempre me ouvir, aconselhar e até pelos docinhos e puxões de orelha no momento certo. Ao Pedro Colette, pela ajuda e parceria durante essa pesquisa. Ao Guilherme, Jeferson e à Larissa, agradeço pelo apoio e companhia ao longo dessa caminhada.

Sou grata também aos colegas e amigos que encontrei ao longo da graduação. Em especial à minha Trupe – Alane, Akyel, Joyce, Vitória, Kamila e Isabel. Vocês foram, sem dúvida, os grandes amigos que a universidade me trouxe. Nossas personalidades, tão diferentes e ao mesmo tempo tão parecidas, me fazem acreditar que nosso encontro já estava mesmo destinado a acontecer. Com vocês, compartilhei ao longo desses quatro anos inúmeras memórias – os momentos difíceis e também os mais leves – que nos trouxeram até aqui e nos mantiveram unidos.

Também sou profundamente grata às amigas que estiveram comigo muito antes de eu sequer imaginar me tornar bióloga, Heidi e Mariana. Vocês estiveram ao meu lado grande parte da minha vida e continuam presentes nos momentos mais importantes. Obrigada por sempre estarem aqui, nem o tempo ou as mudanças foram capazes de nos afastar.

Agradeço à minha família, principalmente aos meus pais, que sempre lutaram para me proporcionar a melhor qualidade de vida dentro da nossa realidade. Sem vocês eu não estaria nem aqui. Obrigada ao meu irmão e minha cunhada, e aos seres que vocês trouxeram ao mundo, Laura e Helena.

E por fim, mas definitivamente não menos importante, ao meu namorado, Julio. Você esteve ao meu lado durante todos os quatro anos da faculdade e foi meu alicerce, me sustentando nos momentos mais difíceis e acreditando em mim mesmo quando eu já não conseguia acreditar. Foi você quem ouviu todas as minhas reclamações, enxugou minhas lágrimas, me aconselhou e me confortou com abraços que sempre pareciam colocar tudo no lugar. Sem você, eu não teria conseguido seguir em frente.

RESUMO

Líquens são associações simbióticas entre fungos e organismos fotossintetizantes, tradicionalmente vistas como mutualistas, mas que envolvem interações mais complexas. Amplamente distribuídos, inclusive em ambientes com climas extremos como o Pantanal e a Antártica, desempenham funções ecológicas essenciais e atuam como bioindicadores ambientais. A família Parmeliaceae, especialmente o gênero *Parmotrema*, destaca-se pela alta diversidade e, embora exibam uma morfologia típica, muitas espécies são de difícil identificação com base apenas em caracteres fenotípicos, devido à plasticidade, convergência e variação intraespecífica. Nesse contexto, o DNA *barcoding*, abordagem que utiliza sequências de DNA de espécimes previamente identificados como referência para auxiliar na identificação e delimitação de espécies, tem se mostrado uma ferramenta eficaz. Este estudo visou a identificação de espécimes de *Parmotrema* a partir do sequenciamento da região ITS do DNA ribossomal nuclear de amostras depositadas no Herbário CGMS. Acervo que abriga a maior coleção de fungos liquenizados da Região Centro-Oeste. Foram geradas 42 novas sequências ITS representando 32 espécies brasileiras, das quais 17 não possuíam registros moleculares anteriores. Considerando as 832 sequências previamente disponíveis no GenBank para 54 espécies (levantamento feito em agosto de 2025), os novos dados ampliam em cerca de 31% a diversidade do gênero representada neste banco. As sequências agora integram o acervo genético do Laboratório de Ecologia & Biologia Evolutiva (LEBio/UFMS) e do GenBank, fortalecendo as bases para estudos de biodiversidade, evolução e conservação de líquens.

Palavras chave: ITS, DNA *barcoding*, GenBank

ABSTRACT

Lichens are symbiotic associations between fungi and photosynthetic organisms, traditionally viewed as mutualistic, but involving more complex interactions. Widely distributed, including in environments with extreme climates such as the Pantanal and Antarctica, they perform essential ecological functions and act as environmental bioindicators. The Parmeliaceae family, especially the *Parmotrema* genus, stands out for its high diversity. Although they exhibit a typical morphology, many species are difficult to identify solely on phenotypic characters due to plasticity, convergence, and intraspecific variation. In this context, DNA barcoding, which uses DNA sequences from previously identified specimens as references to support species identification and delimitation, has proven to be an effective tool. This study aimed to identify *Parmotrema* specimens through sequencing of the ITS region of the nuclear ribosomal DNA from samples deposited in the CGMS Herbarium. A repository that houses the most extensive collection of lichenized fungi in the Central-West Region of Brazil. A total of 42 new ITS sequences were generated, representing 32 Brazilian species, 19 of which lacked prior molecular records. Considering the 832 ITS sequences previously available in GenBank for 54 species (survey conducted in August 2025), these new data increase the diversity of the genus represented in the global database by approximately 31%. The sequences now integrate the genetic collection of the Laboratory of Ecology & Evolutionary Biology (LEBio/UFMS) and GenBank, strengthening the foundation for biodiversity, evolutionary, and conservation studies of lichens.

Keywords: ITS, DNA barcoding, GenBank

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 - Filogenia baseada nas sequências da região ITS do gênero

Parmotrema.....32

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Componentes e concentrações utilizadas nas reações de PCR.....	15
Quadro 2 - Espécimes de <i>Parmotrema</i> com sequências da região ITS já geradas.....	24
Quadro 3 - Amostras sequenciadas para a região ITS.....	25
Quadro 4 - Sequências de referência extraída do Genbank.....	28

SUMÁRIO

1. Introdução.....	8
1.1 Fungos liquenizados.....	8
1.2. Família <i>Parmeliaceae</i> e gênero <i>Parmotrema</i>	9
1.2. DNA barcoding de fungos liquenizados.....	10
2. Objetivos.....	12
2.1 Objetivo Geral.....	12
2.2 Objetivos Específicos.....	12
3. Materiais e Métodos.....	12
3.1 Extração de DNA.....	12
3.2 Quantificação de DNA.....	14
3.3 PCR.....	14
3.4 Análises das sequências de DNA.....	21
4. Resultados e discussão.....	22
4.1 Banco de DNA do LEBio e depósitos do Herbário CGMS.....	22
4.2 Levantamento de amostras sequenciadas previamente.....	22
4.3 Sequenciamento.....	24
4.4 Ampliação da representatividade do GenBank.....	26
4.5 Filogenia.....	36
5. Conclusão.....	35
6. Referências.....	36

INTRODUÇÃO

1.1 Fungos liquenizados

Os fungos liquenizados, comumente denominados líquens, constituem estruturas biológicas complexas formadas por uma associação simbiótica estável entre fungos (micobionte) e um ou mais organismos fotossintetizantes (fotobiontes), que podem ser algas verdes e/ou cianobactérias, além de outros microrganismos (MITCHELL, 2007; HAWKSWORTH, 2020; LA TORRE, 2023)..

A simbiose entre micobiontes e fotobiontes nos líquens é tradicionalmente vista como mutualística, pois resulta na formação de um corpo vegetativo em que o fungo oferece suporte e proteção, enquanto o parceiro fotossintetizante fornece compostos orgânicos essenciais. Um estudo recente, porém, mostrou que essa relação envolve uma interdependência funcional mais complexa: o fotobionte fornece carboidratos ao fungo, enquanto esse fornece um ambiente de proteção contra herbívora, excesso de luz e variações ambientais, além de possíveis vantagens nutricionais (SPRIBILLE et al., 2022).

Os líquens exibem notável variabilidade em forma, coloração, tamanho, abundância e preferência por substratos, podendo colonizar superfícies diversas como rochas, solos, troncos de árvores, folhas, plantas vivas ou qualquer outra estrutura que se mantenha estável por tempo suficiente para seu desenvolvimento (KOCH, 2016). Embora muitas espécies sejam pioneiras na colonização de ambientes extremos graças à sua alta tolerância à dessecação, radiação UV, frio e infecções, outras podem ser fortemente afetadas por fatores específicos, como a poluição atmosférica. Assim, mesmo possuindo estratégias fisiológicas que lhes permitem sobreviver em condições adversas, sua sensibilidade a determinados poluentes evidencia limites importantes dessa tolerância, razão pela qual são muito utilizados como bioindicadores da qualidade do ar (COSTA, 2021; KOCH, 2016). Além disso, produzem compostos químicos com potencial farmacológico e biotecnológico (ISMED et al., 2018). O estudo de Mallavadhani et al. (2019), realizado com *Parmotrema mesotropum* (Müll. Arg.) Hale, identificou compostos sintetizados com capacidade de inibir atividades cancerígenas em diferentes linhagens celulares, incluindo câncer de pulmão, próstata, mama, colo do útero e glioblastoma.

1.1 Família *Parmeliaceae* e gênero *Parmotrema*

A diversidade dos fungos liquenizados é expressiva, segundo Lücking et al. (2017), abrange aproximadamente 115 famílias, 995 gêneros e mais de 19.000 espécies descritas, o que representa cerca de 17% de todas as espécies fúngicas atualmente conhecidas. Estimativas anteriores indicam que esses organismos correspondem a aproximadamente 17% das cerca de 110.000 espécies de fungos catalogadas e a 27% dos Ascomycota (FEUERER & HAWKSWORTH, 2007; JAKLITSCH et al., 2016).

No território brasileiro, os fungos liquenizados apresentam ampla distribuição nos distintos domínios fitogeográficos.. No checklist atualizado de líquens do Brasil, foram registradas 4.799 espécies aceitas, além de 29 táxons infraespecíficos (APTROOT et al., 2025), elevando o país a liderança global em riqueza de táxons de fungos liquenizados registrados em nível nacional. Os 4.828 táxons aceitos correspondem a 481 gêneros e 83 famílias, representando quase metade de todos os gêneros e 70% das famílias reconhecidas mundialmente. Entre os gêneros mais ricos em espécies destacam-se *Astrothelium* Eschw., *Parmotrema* A. Massal, *Graphis* Adans., *Ocellularia* G. Mey., *Pyrenula* Ach. e *Cladonia* P. Browne (APTROOT et al., 2025).

O estado do Mato Grosso do Sul é marcado por uma flora extremamente rica e diversificada, composta principalmente por quatro biomas: Cerrado, Mata Atlântica, Chaco e Pantanal. O Pantanal, uma savana sazonalmente inundada situada na depressão do alto Rio Paraguai, compõe no Brasil parte do domínio fitogeográfico do Cerrado, caracterizado por elevada heterogeneidade vegetal (BUENO et al., 2018). Estima-se que o estado abrigue cerca de 1.021 espécies de fungos liquenizados (APTROOT et al., 2025). Entre essas, Canêz et al. (2021) realizaram uma revisão detalhada da diversidade e da classificação das espécies, registrando 165 espécies infraespécies encontradas no Pantanal. Atualmente, *Parmeliaceae* é considerada a família mais diversa, amplamente conhecida e estudada entre os fungos liquenizados, compreendendo 2.765 espécies distribuídas em 77 gêneros, com o hemisfério sul reconhecido como seu principal centro de diversificação (LÜCKING et al., 2017). Essa família destaca-se também como a melhor representada no estado, apresentando ampla variedade de espécies, sendo os gêneros *Parmotrema* A. Massal., *Pseudoparmelia* Lynge., *Hypotrachyna* (Vain.) Hale, e *Bulbothrix* Hale, são os mais frequentemente encontrados nas áreas coletadas do estado do Mato Grosso do Sul, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (HONDA, 1997 & HONDA et al., 2016). A família forma um grupo monofilético caracterizado por aspectos morfológicos e anatômicos específicos, como a ontogenia do ascoma e a presença de um excípulo em forma de taça (CANÊZ, 2005; RODRIGUES, 2023).

Dentro da família, espécies pertencentes ao gênero *Parmotrema*, normalmente, distingue-se por apresentar lóbulos amplos com ápices arredondados, ausência de pseudocifelas, presença frequente de cílios marginais, além de uma zona marginal larga no córtex inferior desprovida de rizinas (em *Parmotrema* s.str.) — que, quando presentes, são geralmente simples ou dimórficas. As espécies também podem apresentar máculas, assim como sorédios ou isídios, que constituem os principais tipos de propágulos vegetativos. Outra característica marcante é a presença de ascósporos elipsoides com paredes espessas, bem como uma grande diversidade de compostos químicos secundários (BENATTI et al., 2009; BRODO et al., 2001; NASH; ELIX, 2002; CUNHA-DIAS et al., 2025).

1.3 DNA barcoding de fungos liquenizados

Os primeiros estudos baseados em filogenia molecular na família *Parmeliaceae* tiveram início no final da década de 1990, abrindo novas perspectivas para a compreensão das relações dentro do grupo (CRESPO et al., 1998; MATTSSON et al., 1998; RODRIGUES, 2023). Desde então, avanços significativos na biologia molecular, associados ao desenvolvimento de ferramentas de bioinformática, têm transformado o cenário da sistemática de fungos liquenizados. Técnicas como o DNA *barcoding*, que utiliza uma região específica do genoma para identificar espécies com base em sequências de DNA curtas têm se tornado fundamentais para estudos taxonômicos, ecológicos e evolutivos de fungos liquenizados. A aplicação desse método em conjunto com a crescente capacidade de análise de grandes volumes de dados biológicos, possibilitam a detecção rápida de uma diversidade de organismos, além de fornecerem dados para a reavaliação das características morfológicas utilizadas na delimitação taxonômica. Isso tem contribuído para a melhor compreensão das relações filogenéticas entre gêneros e espécies dentro de *Parmeliaceae* (HAJIBABAEI et al., 2007; HEBERT et al., 2005; RODRIGUES, 2023).

O que diferencia o DNA *barcoding* de outras técnicas moleculares é o uso de uma mesma região do DNA escolhida especificamente para cada grande grupo de organismos (KELLY et al., 2011). Em animais, a região mais comum é uma parte do gene mitocondrial COI, em plantas, usam-se principalmente os genes plastidiais *matK* e *rbcL*, que também mostram boa capacidade de distinção entre espécies (CBOL Plant Working Group, 2009 & HEBERT et al., 2005). Para fungos em geral, incluindo os liquenizados, é proposta a região dos espaçadores internos transcritos do DNA ribossomal nuclear (nuITS) como DNA *barcode* universal (SCHOCH et al., 2012 & KELLY et al., 2011). A região ITS (espaçadores internos transcritos do DNA ribossomal), composta por ITS1, 5.8S e ITS2, é atualmente o marcador genético mais utilizado para identificação de fungos. Essa região é muito eficaz

devido à sua alta variabilidade entre espécies, o seu tamanho ser relativamente curto especialmente e facilidade de amplificação com primers universais complementares aos genes de rRNA (Gardes & Bruns, 1993). No caso da família *Parmeliaceae*, estudos como o de Del-Prado et al. (2010), Del-Prado et al. (2019) e Leavitt et al. (2015), demonstraram que, em geral, a região ITS pode separar de maneira eficaz algumas espécies, com pouca sobreposição entre variação intra e interespecífica, além de detectar linhagens crípticas, como observado em diversos complexos taxonômicos de *Parmeliaceae*. Apesar de seu potencial, a região ITS pode apresentar limitações em filogenias de ramos mais profundos devido à complexidade evolutiva de alguns gêneros, o que reforça a importância de combiná-la com outros marcadores moleculares. Além disso, a eficácia do DNA *barcoding* ainda é limitada pela falta de bancos de referência de espécies no GenBank e no BOLD (Barcode of Life Data Systems), os quais ainda não abrangem adequadamente a diversidade de fungos, dificultando a identificação precisa (RATNASINGHAM & HEBERT, 2007; PHILLIPS et al., 2024). Outro fator importante é que a identificação pode ser prejudicada por amostragens insuficientes e por variações geográficas não representadas, o que impacta o cálculo do *Barcode Gap* (PHILLIPS et al., 2024). Ampliar o número de indivíduos e espécies sequenciadas é essencial para aprimorar a precisão e a aplicabilidade dessa ferramenta.

Diante da complexidade na identificação de fungos liquenizados e da relevância ecológica do gênero *Parmotrema* (*Parmeliaceae*) no Brasil, este projeto tem como objetivo aplicar o *DNA barcoding* para aprofundar o conhecimento genético e taxonômico das espécies presentes na coleção de líquens do Herbário CGMS.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Gerar novas sequências de DNA barcodes de espécies brasileiras do gênero *Parmotrema* (Ascomycota liquenizados) a partir de amostras do Herbário CGMS, visando ampliar o conhecimento genético e taxonômico das espécies ocorrentes no Brasil.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Gerar sequências de referência (região ITS) de fungos liquenizados do Brasil;
- Acrescentar sequências curadas ao acervo de líquens do herbário CGMS;
- Montar um banco de DNA *barcodes* de *Parmotrema* de referência local, o qual poderá ser usado para facilitar a identificação molecular das espécies.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Extração de DNA

A extração de DNA foi realizada a partir de pequenos fragmentos dos talos liquênicos preservados de espécimes herborizados, coletados entre os anos de 1980 e 2024, pertencentes ao acervo do Herbário CGMS. Foi dada preferência às amostras mais recentes do gênero *Parmotrema*, visando à obtenção de DNA em melhores condições. O Herbário CGMS da UFMS é o maior herbário do Mato Grosso do Sul e abriga a maior coleção de fungos liquenizados da Região Centro-Oeste. Ainda, o herbário CGMS está indexado internacionalmente no Index Herbariorum (<http://sweetgum.nybg.org/science/ih/>) e nacionalmente indexado na Rede Brasileira de Herbários (<https://www.botanica.org.br/a-rede-brasileira-de-herbarios/>), além de fazer parte do projeto Flora e Funga do Brasil - Re flora (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>).

Antes da extração, os fragmentos foram submersos em acetona por 20 minutos para remover metabólitos secundários que poderiam interferir nas etapas de extração e amplificação do DNA. Após esse processo, as amostras foram deixadas secar ao ar livre até a completa evaporação do solvente. Considerando que as pesquisas no campo da biologia molecular requerem DNA de alto grau de pureza, a extração foi realizada utilizando o Kit Wizard® Genomic DNA Purification System da Promega, seguindo o protocolo do fabricante.

Para as análises genéticas e montagem do banco de dados, foram utilizadas 42 amostras de 32 espécies do gênero *Parmotrema*, incluindo as seguintes espécies:

1. *P. austrosinense* (Zahlbr.) Hale; (2 sequências)
2. *P. austromaculatum* A.A. Spielm. & Marcelli;
3. *P. commensuratum* (Hale) Hale; (2 sequências)
4. *P. conferendum* Hale;
5. *P. consors* (Nyl.) Krog & Swinscow; (3 sequências)
6. *P. conjunctum* (Lynge) Hale;
7. *P. delicatulum* (Vain.) Hale;
8. *P. dilatatum* (Vain.) Hale;
9. *P. sp* 1.;
10. *P. eciliatum* (Nyl.) Hale;
11. *P. eurysacum* (Hue) Hale;
12. *P. flavomedullosum* Hale; (2 sequências)
13. *P. gardneri* (C.W. Dodge) Sérus;
14. *P. hypomiltoides* (Vainio) Fleig;
15. *P. latissimum* (Fée) Hale; (2 sequências)
16. *P. magnum* (Lynge) A.A. Spielm. & Marcelli;
17. *P. melanochaetum* (Kurok.) O. Blanco, A. Crespo, Divakar, Elix & Lumbsch;
18. *P. mellissii* (C.W. Dodge) Hale;
19. *P. mesotropum* (Müll. Arg.) Hale;
20. *P. pachydermum* (Hue) O. Blanco, A. Crespo, Divakar, Elix & Lumbsch;
21. *P. pectinatum* Jungbluth & Marcelli;
22. *P. perlatum* (Huds.) M. Choisy;
23. *P. praesorediosum* (Nyl.) Hale; (2 sequências)
24. *P. pilosum* (Stizenb.) Krog & Swinscow;
25. *P. recipiendum* (Nyl.) Hale; (2 sequências)
26. *P. reitzii* Jungbluth & Marcelli;
27. *P. reticulatum* (Taylor) M. Choisy; (2 sequências)
28. *P. rigidum* (Lynge) Hale;
29. *P. sancti-angeli* (Lynge) Hale;
30. *P. subtinctorum* (Zahlbr.) Hale;
31. *P. tinctorum* (Nyl.) Hale; (2 sequências)
32. *P. wrightii* L.I. Ferraro & Elix.

3.2 Quantificação de DNA

A quantificação do DNA extraído foi realizada utilizando o equipamento NanoDrop 2000, um espectrofotômetro de microvolume amplamente adotado em laboratórios de biologia molecular para medir a concentração e pureza de ácidos nucleicos, como DNA e RNA. O aparelho estima a concentração com base na absorbância a 260 nm, enquanto as razões 260/280 e 260/230 são usadas para avaliar a presença de possíveis contaminantes, como proteínas ou solventes residuais do processo de extração.

3.3 PCR

A amplificação do DNA foi realizada utilizando dois pares de primers específicos para fungos: ITS1F (GARDES & BRUNS, 1993) e ITS4 (WHITE et al., 1990). Esses primers apresentam, respectivamente, 22 e 20 pares de base, permitindo amplificar toda a região ITS – região com média de 500 pares de base – que compreende os espaçadores intergenômicos ITS1 e ITS2, o gene 5.8S, além das extremidades 3' do gene 18S e 5' do gene 28S (DE BEECK et al., 2014; CUBERO et al., 1999), sendo amplamente utilizados em estudos de identificação molecular de fungos liquenizados (RODRIGUES, 2024)

As reações de PCR foram preparadas em volume final de 25 µL, contendo Tampão 1X, 0,2 mM de dNTPs, 0,32 µM de cada primer (ITS1F e ITS4, (Gardes & Bruns 1993, White et al. 1990) 3 mM de MgCl₂, 1 unidade de Taq DNA polimerase (Promega) e DNA extraído, em diferentes concentrações de acordo com cada amostra conforme especificado na quadro 1. As condições utilizadas incluíram: desnaturação inicial a 95 °C por 3 minutos, seguida de 35 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 segundos, anelamento entre 53 °C e 56 °C (dependendo da espécie) por 30 segundos, extensão a 72 °C por 1 minuto, e uma extensão final a 72 °C por 7 minutos. As reações foram conduzidas em um termociclador Veriti™ Thermal Cycler (Applied Biosystems).

Os produtos de PCR foram visualizados por eletroforese em gel de agarose a 1%, corado com GelRed®, permitindo a verificação da eficiência da amplificação e o tamanho dos fragmentos.

Quadro 1 - Componentes e concentrações utilizadas nas reações de PCR dos espécimes sequenciados.

Espécie	Voucher	Mix reações de PCR com volume final de 25uL	Temperatura de anelamento
<i>Parmotrema pectinatum</i>	PEC158	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 4µL; DNA total: 4µL Concentração DNA total: 133,5 ng/ul	54°C
<i>Parmotrema eurysacum</i>	RUCA 2573	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 4µL; DNA total: 4µL Concentração DNA total: 296,2 ng/µL	54°C
<i>Parmotrema conjunctum</i>	AAS 14675	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 4µL DNA total: 4µL Concentração DNA total: 250,2 ng/µL	54°C
<i>Parmotrema subtinctorium</i>	PEC97	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 4µL DNA total: 4µL Concentração DNA total: 273,2 ng/µL	54°C
<i>Parmotrema sp 1.</i>	AR721	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 5µL; DNA total: 2µL Concentração DNA total: 246,6 ng/µL	56°C
<i>Parmotrema delicatulum</i>	AAS 14624	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 4µL; DNA total: 4µL; Concentração DNA total: 253,9 ng/µL	53°C

Quadro 1 – Continuação.

Espécie	Voucher	Mix reações de PCR com volume final de 25uL	Temperatura de anelamento
<i>Parmotrema melanochaetum</i>	AAS 14169	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 3µL; DNA total: 6µL Concentração DNA total: 244,60 ng/µL	54°C
<i>Parmotrema mellisii</i>	AAS 14193	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 4µL; DNA total: 4µL Concentração DNA total: 304,6 ng/uL	52°C
<i>Parmotrema cf. wrightii</i>	AAS 14557	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 5µL; DNA 10x: 2µL Concentração DNA 10x: 235,8 ng/ul ng/µL	56°C
<i>Parmotrema austrosinense</i>	AAS 13908	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 5µL; DNA total: 2µL Concentração DNA total: 324,1 ng/uL	56°C
<i>Parmotrema cf. hypomiltoides</i>	AAS 13928	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 5µL; DNA total: 2µL Concentração DNA total: 334,2 ng/uL	56°C
<i>Parmotrema latissimum</i>	AAS 14008	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 5µL; DNA total: 2µL Concentração DNA total: 331,7 ng/uL	56°C

Quadro 1 – Continuação.

Espécie	Voucher	Mix reações de PCR com volume final de 25uL	Temperatura de anelamento
<i>Parmotrema mesotropum</i>	AAS 14009	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 5µL; DNA total: 2µL Concentração DNA total: 138,6 ng/uL	54°C
<i>Parmotrema gardneri</i>	AAS 14012	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 5µL; DNA total: 2µL Concentração DNA total: 238,5 ng/uL	54°C
<i>Parmotrema latissimum</i>	AAS 14014	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 5µL; DNA total: 2µL Concentração DNA total: 177,6 ng/uL	54°C
<i>Parmotrema "tinctorum"</i>	AAS 14342	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 5µL; DNA total: 2µL Concentração DNA total: 309 ng/uL	56°C
<i>Parmotrema sancti-angeli</i>	AAS 14343	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 5µL; DNA total: 2µL Concentração DNA total: 313 ng/uL	56°C
<i>Parmotrema praesorediosum</i>	AAS 14346	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 5µL; DNA total: 2µL Concentração DNA total: 372,4 ng/uL	56°C

Quadro 1 – Continuação.

Espécie	Voucher	Mix reações de PCR com volume final de 25uL	Temperatura de anelamento
<i>Parmotrema cf. praesorediosum</i>	AAS 14347	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 5µL; DNA total: 2µL Concentração DNA total: 356,6 ng/uL	56°C
<i>Parmotrema "tinctorum"</i>	AAS 14348	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 5µL; DNA total: 2µL Concentração DNA total: 156,8 ng/uL	56°C
<i>Parmotrema magnum</i>	AAS 14676	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 3µL; DNA total: 6µL Concentração DNA total: 269,30 ng/uL	54°C
<i>Parmotrema austromaculatum</i>	AAS 14669	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 3µL; DNA total: 6µL Concentração DNA total: 216,40 ng/uL	54°C
<i>Parmotrema conferendum</i>	AAS 14543	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 5µL; DNA total: 2µL Concentração DNA total: 315,4 ng/uL	56°C
<i>Parmotrema consors</i>	AAS 14546	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 5µL; DNA total: 2µL Concentração DNA total: 212,5 ng/uL	56°C
<i>Parmotrema commensuratum</i>	AAS 14545	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 5µL; DNA total: 2µL Concentração DNA total: 329,8 ng/uL	56°C

Quadro 1 – Continuação.

Espécie	Voucher	Mix reações de PCR com volume final de 25uL	Temperatura de anelamento
<i>Parmotrema perlatum</i>	AAS 14541	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 5µL; DNA total: 2µL Concentração DNA total: 233,2 ng/uL	56°C
<i>Parmotrema pilosum</i>	AAS 14544	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 5µL; DNA total: 2µL Concentração DNA total: 290 ng/uL	56°C
<i>Parmotrema dilatatum</i>	AAS 14591	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 3µL; DNA total: 6µL Concentração DNA total: 240,4 ng/uL	54°C
<i>Parmotrema reitzii</i>	AAS 14583	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 4µL; DNA total: 4µL Concentração DNA 10x: 247 ng/uL	52°C
<i>Parmotrema eciliatum</i>	AAS 14518	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 5µL; DNA total: 2µL Concentração DNA total: 138,6 ng/uL	56°C
<i>Parmotrema rigidum</i>	AAS 14501	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 5µL; DNA total: 2µL Concentração DNA total: 308,3 ng/uL	56°C

Quadro 1 – Continuação.

Espécie	Voucher	Mix reações de PCR com volume final de 25uL	Temperatura de anelamento
<i>Parmotrema cf. austrosinense</i>	AAS 13941	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 5µL; DNA total: 2µL Concentração DNA total: 244,7 ng/uL	56°C
<i>Parmotrema pachydermum</i>	AAS 14528	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 5µL; DNA total: 2µL Concentração DNA total: 89 ng/uL	56°C
<i>Parmotrema reticulatum</i>	AAS 14610	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 4µL; DNA total: 4µL Concentração DNA total: 89 ng/uL	54°C
<i>Parmotrema reticulatum</i>	AAS 14710	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 4µL; DNA total: 4µL Concentração DNA total: 287,6 ng/uL	54°C
<i>Parmotrema consors</i>	AAS 14698	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 3µL; DNA total: 6µL Concentração DNA total: 280,8 ng/uL	54°C
<i>Parmotrema consors</i>	AAS 14700	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 3µL; DNA total: 6µL Concentração DNA total: 275,70 ng/uL	52°C
<i>Parmotrema flavomedullosum</i>	AAS 14686	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 3µL; DNA total: 6µL Concentração DNA total: 266,70 ng/uL	54°C

Quadro 1 – Continuação.

Espécie	Voucher	Mix reações de PCR com volume final de 25uL	Temperatura de anelamento
<i>Parmotrema flavomedullosum</i>	AAS 14688	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 3µL; DNA total: 6µL Concentração DNA total: 323,10 ng/uL	54°C
<i>Parmotrema conjunctum</i>	AAS 14675	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 3µL; DNA total: 6µL Concentração DNA total: 250,20 ng/uL	54°C
<i>Parmotrema recipiendum</i>	AAS 14678	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 4µL; DNA total: 4µL Concentração DNA 10x: 27,2 ng/uL	54°C
<i>Parmotrema recipiendum</i>	AAS 14680	Tampão: 5µL; dNTPs: 5µL; MgCl ₂ : 3µL; Primers: 3µL; DNA total: 6µL Concentração DNA total: 275 ng/uL	54°C

3.4 Análises das sequências de DNA

A análise da qualidade das sequências de DNA e sua posterior montagem foram realizadas por meio do software Geneious 7.1 (<https://www.geneious.com>), (KEARSE et al., 2012).

Para a identificação das sequências mais similares às sequências geradas neste estudo, foi utilizada uma das ferramentas mais reconhecidas no campo da bioinformática: o BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (SAMAL et al., 2021).

O alinhamento foi feito no MAFFT v7.308 (Katoh et al. 2002), utilizando o algoritmo G-INS-i e os seguintes parâmetros: matriz de similaridade 200 PAM/K=2, penalidade de abertura de gap 1.53 e *offset value* de 0,123. Depois do alinhamento, todas as sequências foram ajustadas com base em uma sequência de referência do gene ITS para remover trechos externos ao marcador.

A análise filogenética foi realizada utilizando o software MEGA (Molecular

Evolutionary Genetics Analysis). A árvore filogenética foi construída utilizando o método de máxima verossimilhança, com 1000 replicatas de bootstrap. A monofilia dos clados e a posição filogenética das amostras foram avaliadas, considerando-se ramos com valores de bootstrap ≥ 75 como moderadamente suportados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Banco de DNA do LEBio e depósitos do Herbário CGMS

O banco de DNA do Laboratório de Ecologia e Biologia Evolutiva do INBIO (LEBio) é um biorrepositório organizado com o uso do software de gerenciamento eletrônico de dados chamado REDCap (*Research Electronic Data Capture*). Atualmente, o acervo de DNA do LEBio conta com mais de 2.900 registros de líquens. Desse total, 958 pertencem à família *Parmeliaceae*, distribuídos em 18 gêneros.

Entre esses gêneros pode-se citar: *Alectoria* Ach. (2 amostras de DNA), *Bulbothrix* Hale (16), *Bryoria* Brodo & D. Hawksw. (6), *Canoparmelia* Elix & Hale (15), *Cetraria* Ach. (2), *Concamerella* W.L. Culb. & C.F. Culb. (2), *Crespoa* (subg. *Parmotrema*) D. Hawksw., Lendemer & B.P. Hodk. (7), *Flavoparmelia* Hale (6), *Himantormia* I.M. Lamb (2), *Hypotrachyna* (Vain.) Hale (17), *Menegazzia* A. Massal. (2), *Myelochroa* (Asahina) Elix & Hale (1), *Parmelinella* Elix & Hale (11), *Parmotrema* A. Massal. (522), *Punctelia* Krog (338), *Relicina* (Hale & Kurok.) Hale (1), *Usnea* Dill. ex Adans. (6) e *Xanthoparmelia* (Vain.) Hale (2).

O Herbário CGMS possui atualmente um acervo de 15.443 espécimes de fungos liquenizados coletados no Brasil (consulta feita em novembro de 2025). Desses, 4.199 pertencem à família *Parmeliaceae* e 2.141 são do gênero *Parmotrema*. Entre os depósitos de *Parmotrema*, apenas 777 estão identificados até o nível de espécie, enquanto 1.364 permanecem sem identificação específica. A obtenção de sequências da região ITS dessas amostras auxiliará nas atribuições taxonômicas a nível de espécie, ampliando a base de dados genéticos de *Parmotrema* do Brasil depositada no Herbário CGMS.

4.2 Levantamento de amostras sequenciadas previamente

Entre as amostras de DNA de espécimes do gênero *Parmotrema* presentes no LEBio, 23 já tiveram a região ITS sequenciada, representando 8 espécies distintas (quadro 2). Essas amostras foram coletadas em diferentes locais do Brasil, nos estados do Mato Grosso do Sul

e Rio Grande do Sul.

Quadro 2 - Espécimes de *Parmotrema* com sequências da região ITS já geradas.

Espécie	Voucher	Local de coleta
<i>Parmotrema madilynae</i> A. Fletcher	AR 549	Brasil, Rio Grande do Sul
<i>Parmotrema madilynae</i> A. Fletcher	AR 589	Brasil, Rio Grande do Sul
<i>Parmotrema argentinum</i> (Kremp.) Hale	AR 718	Brasil, Mato Grosso do Sul
<i>Parmotrema argentinum</i> (Kremp.) Hale	AR 678	Brasil, Mato Grosso do Sul
<i>Parmotrema subrugatum</i> (Kremp.) Hale	AR 184	Brasil, Mato Grosso do Sul
<i>Parmotrema subrugatum</i> (Kremp.) Hale	AR 484	Brasil, Mato Grosso do Sul
<i>Parmotrema subrugatum</i> (Kremp.) Hale	AR 297	Brasil, Mato Grosso do Sul
<i>Parmotrema subrugatum</i> (Kremp.) Hale	AR 277	Brasil, Mato Grosso do Sul
<i>Parmotrema eitenii</i> Marcelli & Benatti	AR 154	Brasil, Rio Grande do Sul
<i>Parmotrema eitenii</i> Marcelli & Benatti	AR 569	Brasil, Rio Grande do Sul
<i>Parmotrema eitenii</i> Marcelli & Benatti	AR 149	Brasil, Rio Grande do Sul
<i>Parmotrema eitenii</i> Marcelli & Benatti	NMK 1111	Brasil, Mato Grosso do Sul
<i>Parmotrema eitenii</i> Marcelli & Benatti	NML 1116	Brasil, Mato Grosso do Sul
<i>Parmotrema tinctorum</i> (Nyl.) Hale	AR 693	Brasil, Mato Grosso do Sul
<i>Parmotrema tinctorum</i> (Nyl.) Hale	AR 675	Brasil, Mato Grosso do Sul
<i>Parmotrema tinctorum</i> (Nyl.) Hale	AR 686	Brasil, Mato Grosso do Sul
<i>Parmotrema clavuliferum</i> (Räsänen) Streimann	NMK 1112	Brasil, Mato Grosso do Sul

Quadro 2 - Continuação

Espécie	Voucher	Local de coleta
<i>Parmotrema clavuliferum</i> (Räsänen) Streimann	AR 303	Brasil, Rio Grande do Sul
<i>Parmotrema clavuliferum</i> (Räsänen) Streimann	AR 588	Brasil, Rio Grande do Sul
<i>Parmotrema cetratum</i> (Ach.) Hale	AR 640	Brasil, Rio Grande do Sul
<i>Parmotrema cetratum</i> (Ach.) Hale	AR 536	Brasil, Rio Grande do Sul
<i>Parmotrema reticulatum</i> (Taylor) M. Choisy, Bull.	AR 506	Brasil, Rio Grande do Sul
<i>Parmotrema reticulatum</i> (Taylor) M. Choisy, Bull.	AR 636	Brasil, Rio Grande do Sul

4.3 Sequenciamento

O sequenciamento foi realizado em 42 amostras de 32 espécies brasileiras (quadro 3), distribuídas entre três estados: 21 sequências correspondem a amostras provenientes do Mato Grosso do Sul, 16 do Rio Grande do Sul e 4 de Santa Catarina. Além disso, foi incluída uma sequência de espécie coletada fora do Brasil — *P. eurysacum* (México).

Algumas amostras do Pantanal e de outras regiões não puderam ser utilizadas por falhas na amplificação do DNA, as quais podem ser atribuídas a fatores como baixa qualidade do material genético (degradado), limitações nas técnicas de extração ou ineficiência na reação de PCR.

Quadro 3 - Amostras sequenciadas para a região ITS

Espécie	Voucher	Localização
<i>Parmotrema austromaculatum</i>	AAS 14669	Brasil, Mato Grosso do Sul, Município de Porto Murtinho. Pão de açúcar,
<i>Parmotrema magnum</i>	AAS 14676	Brasil, Mato Grosso do Sul, Município de Porto Murtinho.
<i>Parmotrema conferendum</i>	AAS 14543	São Francisco de Paula, Lajeado Grande, RS

Quadro 3 - continuação

Espécie	Voucher	Localização
<i>Parmotrema consors</i>	AAS 14546	São Francisco de Paula, Lajeado Grande, RS
<i>Parmotrema commensuratum</i>	AAS 14547	São Francisco de Paula, Lajeado Grande, RS
<i>Parmotrema commensuratum</i>	AAS 14545	São Francisco de Paula, Lajeado Grande, RS
<i>Parmotrema perlatum</i>	AAS 14541	São Francisco de Paula, Lajeado Grande, RS
<i>Parmotrema pilosum</i>	AAS 14544	São Francisco de Paula, Lajeado Grande, RS
<i>Parmotrema dilatatum</i>	AAS 14591	São Francisco de Paula, Tainhas, Estrada Josafaz, RS
<i>Parmotrema reitzii</i>	AAS 14583	Brasil, Rio Grande do Sul, São Francisco de Paula. Parque da Ronda.
<i>Parmotrema eciliatum</i>	AAS 14518	Brasil, Rio Grande do Sul, Santana da Boa Vista. Minas do Camaquã. Pedra da Cruz
<i>Parmotrema rigidum</i>	AAS 14501	Santana da Boa Vista, Minas do Camaquã, Pedra da Cruz, RS
<i>Parmotrema reitzii</i>	AAS 14583	Brasil, Rio Grande do Sul, São Francisco de Paula. Parque da Ronda.
<i>Parmotrema eciliatum</i>	AAS 14518	Brasil, Rio Grande do Sul, Santana da Boa Vista. Minas do Camaquã. Pedra da Cruz
<i>Parmotrema rigidum</i>	AAS 14501	Santana da Boa Vista, Minas do Camaquã, Pedra da Cruz, RS
<i>Parmotrema cf. austrosinense</i>	AAS 13941	Santa Cruz do Sul, Parque da Santa Cruz, RS
<i>Parmotrema consors</i>	AAS 14698	Arroio do Tigre, Margem RST-481, RS
<i>Parmotrema pachydermum</i>	AAS 14528	Jaquirana, Passo do S., RS
<i>Parmotrema reticulatum gr</i>	AAS 14610	Jaquirana, Cachoeira Princesa dos Campos, RS

Quadro 3 - continuação.

Espécie	Voucher	Localização
<i>Parmotrema consors</i>	AAS 14700	Arroio do Tigre, Margem RST-481, RS
<i>Parmotrema flavomedullosum</i>	AAS 14686	Mondaí, Área de Lazer, SC
<i>Parmotrema flavomedullosum</i>	AAS 14688	Mondaí, Área de Lazer, SC
<i>Parmotrema recipiendum</i>	AAS 14680	Anchieta, Auto Posto Anchieta, SC
<i>Parmotrema eurysacum</i>	RUCA 2573	México
<i>Parmotrema conjunctum</i>	AAS 15675	Brasil, MS, Município de Porto Murtinho. Pão de açúcar (topo), Fazenda Porto Conceição.
<i>Parmotrema recipiendum</i>	AAS 14678	Brasil, Santa Catarina, Anchieta. Auto Posto Anchieta.
<i>Parmotrema reticulatum</i>	AAS 14710	Candelária, Cerro Botucaraí (topo), RS

4.4 Ampliação da representatividade do GenBank

O GenBank conta com 832 sequências da região ITS geradas a partir de espécimes *Parmotrema*, correspondendo a 54 espécies (levantamento feito em agosto). Como resultado, o banco de material genético do LEBio conta com 368 espécimes, representando 92 espécies. Como contribuição para esse acervo, foram geradas nesse estudo, 42 novas sequências correspondendo a 32 espécies brasileiras.

Dentre essas, 17 correspondem a espécies que ainda não possuíam registros no GenBank, o que representa uma ampliação de aproximadamente 31% na diversidade de espécies de *Parmotrema* presentes no banco de dados genéticos, sendo essas: *Parmotrema hypomiltoides*, *P. conferendum*, *P. mesotropum*, *P. commensuratum* (2 sequências), *P. latissimum* (2 sequências), *P. rigidum*, *P. eciliatum*, *P. pachydermum*, *P. magnum*, *P. wrhightii*, *P. reitzii*, *P. pectinatum*, *P. eurysacum*, *P. conjunctum*, *P. delicatulum*, *P. perlatum*, *P. austromaculatum*.

4.5 Filogenia

No presente estudo, foram geradas árvores filogenéticas com as 42 novas sequências, 14 sequências previamente obtidas identificadas na árvore sob o código de coletor NMK ou

AR, além de sequências adicionais extraídas do GenBank (46 sequências). Para a seleção das sequências do GenBank, foram considerados como critérios a origem em artigos já publicados e a maior completude possível da região ITS (quadro 4). Como grupo externo, foram utilizadas sequências da espécie *Flavoparmelia subcapitata*.

Quadro 4 - Sequências de referência extraídas do GenBank.

Espécie	Nº de acesso Genbank	Localidade	Autor
<i>Parmotrema praesorediosum</i>	KY929427	Argentina, Corrientes	Michlig et al 2017
<i>Parmotrema praesorediosum</i>	KF129451	India	Roca-Valiente et al 2013
<i>Parmotrema dilatatum</i>	ON312501	China	Stelate et al 2022
<i>Parmotrema dilatatum</i>	PP840465	Ilhas Maurício	Masson et al 2024
<i>Parmotrema flavomedullosum</i>	KY929421	Argentina, Misiones	Michlig et al 2017
<i>Parmotrema flavomedullosum</i>	KY929422	Argentina, Misiones	Michlig et al 2017
<i>Parmotrema gardneri</i>	KP941029	Tailândia	Buauruang et al 2015
<i>Parmotrema gardneri</i>	MK722215	Tailândia	Del-Prado et al 2019
<i>Parmotrema subcaperatum</i>	AY586557	Australia	Blanco et al 2005
<i>Parmotrema subtinctorium</i>	GU994578	Espanha	Crespo et al 2010
<i>Parmotrema subtinctorium</i>	AY586558	Espanha	Blanco et al 2005
<i>Parmotrema argentinum</i>	KY929417	Argentina, Corrientes	Michlig et al 2017
<i>Parmotrema mellissii</i>	PP840473	Ilhas Reunião	Masson et al 2024
<i>Parmotrema mellissii</i>	ON312515	Ecuador	Stelate et al 2022
<i>Parmotrema melanochaetum</i>	KY929425	Argentina, Misiones	Michlig et al 2017
<i>Parmotrema andinum</i>	KF129453	Espanha	Roca-Valiente et al 2013
<i>Parmotrema masonii</i>	KY929423	Argentina, Corrientes	Michlig et al 2017

Quadro 4 - continuação

Espécie	Nº de acesso Genbank	Localidade	Autor
<i>Parmotrema fistulatum</i>	AY251415	Argentina	Thell et al 2004
<i>Parmotrema fistulatum</i>	AY581057	Uruguai	Blanco et al 2004
<i>Parmotrema austrosinense</i>	PP840522	Ilhas Maurício	Masson et al 2024
<i>Parmotrema austrosinense</i>	HQ650683	Holanda	Schmull et al 2011
<i>Parmotrema pseudotinctorum</i>	KF129421	India, Chamoli	Roca-Valiente et al 2013
<i>Parmotrema pseudotinctorum</i>	KF129425	Espanha, La Palma	Roca-Valiente et al 2013
<i>Parmotrema sancti-angelii</i>	MK722233	Espanha	Del-Prado et al 2019
<i>Parmotrema internexum</i>	KF129454	Brasil	Roca-Valiente et al 2013
<i>Parmotrema tinctorum</i>	PP840572	Ilhas Reunião	Masson et al 2024
<i>Parmotrema tinctorum</i>	AB177401	Japão	Ohmura et al 2006
<i>Parmotrema pilosum</i>	AY581056	Uruguai	Blanco et al 2004
<i>Parmotrema consors</i>	GQ344481	Brasil, Curitiba	Cordeiro et al 2009
<i>Parmotrema consors</i>	GQ344482	Brasil, Curitiba	Cordeiro et al 2009
<i>Parmotrema reticulatum</i>	AY251450	Uruguai	Thell et al 2004
<i>Parmotrema clavuliferum</i>	AY586577	China	Blanco et al 2004
<i>Parmotrema reticulatum</i>	HM016953	Marrocos	Del-Prado et al 2010
<i>Parmotrema cetratum</i>	KY929419	Argentina, Corrientes	Michlig et al 2017
<i>Parmotrema perlatum</i>	ON312496	Espanha, Ilhas Canárias	Stelate et al 2022
<i>Parmotrema perlatum</i>	PP574426	Reino Unido, Millpool	Brown, T. J. 2024

Quadro 4 - continuação

Espécie	Nº de acesso Genbank	Localidade	Autor
<i>Parmotrema cetratum</i>	OQ600640	India	Pradhan et al 2023
<i>Parmotrema masonii</i>	KY929424	Argentina, Corrientes	Michlig et al 2017
<i>Parmotrema perlatum</i>	HM017046	Marrocos	Del-Prado et al 2010
<i>Parmotrema perlatum</i>	HM017045	Marrocos	Del-Prado et al 2010
<i>Parmotrema perlatum</i>	HM017044	Marrocos	Del-Prado et al 2010
<i>Flavoparmelia subcapitata</i>	KF017376	Estados Unidos, California	Del-Prado et al 2013
<i>Flavoparmelia subcapitata</i>	KF017373	Estados Unidos, California	Del-Prado et al 2013
<i>Flavoparmelia subcapitata</i>	KF017374	Estados Unidos, California	Del-Prado et al 2013
<i>Flavoparmelia subcapitata</i>	KF017372	Estados Unidos, California	Del-Prado et al 2013
<i>Flavoparmelia subcapitata</i>	KF017375	Estados Unidos, California	Del-Prado et al 2013

As análises filogenéticas permitiram avaliar o posicionamento das sequências obtidas em relação a espécimes previamente depositadas em bancos de dados globais, como o GenBank, sendo possível observar o agrupamento das sequências de espécies analisadas, contribuindo para a validação das identificações.

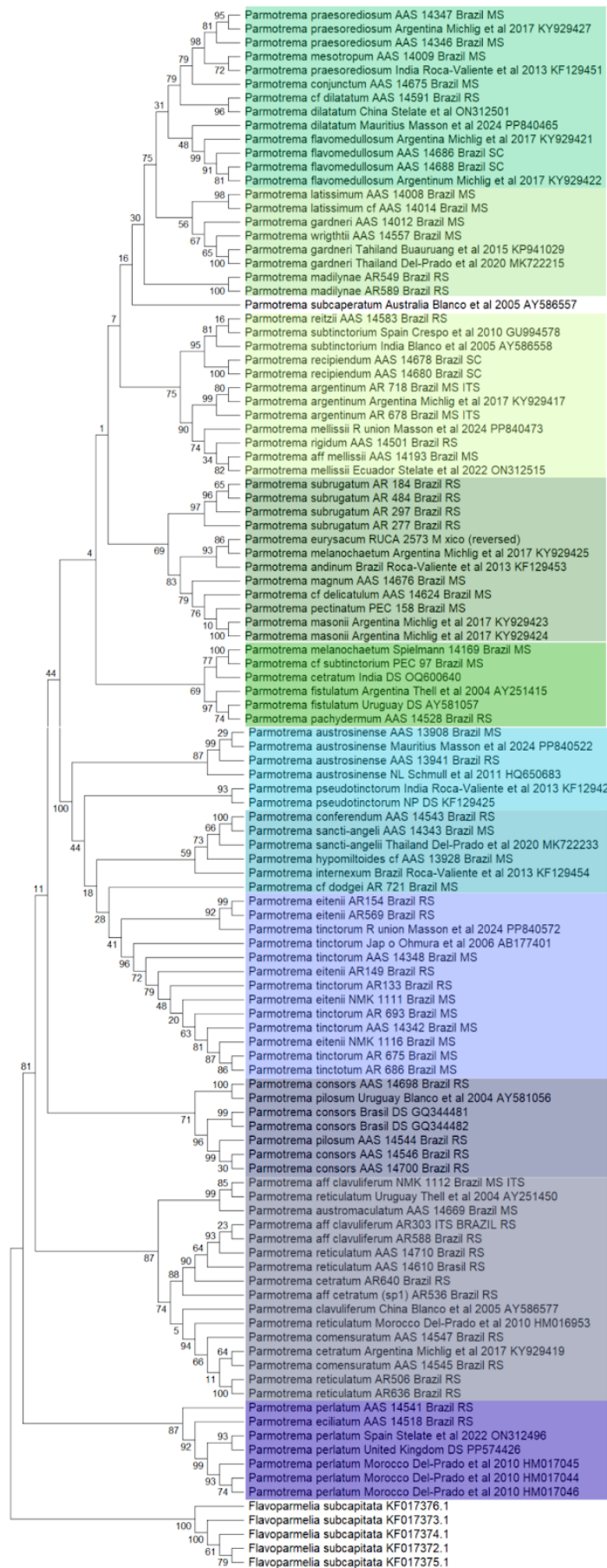


Figura 1. Filogenia baseada nas sequências da região ITS do gênero *Parmotrema*

Nos clados marcados em verde da árvore filogenética, as duas sequências identificadas como *Parmotrema praesorediosum* (AAS 14347 e AAS 14346) formam um clado com um registro do GenBank proveniente da Argentina, apresentando suporte bootstrap de 81%. Esse resultado indica que as amostras obtidas neste estudo são geneticamente próximas a espécimes da mesma espécie de outra região. *Parmotrema mesotropum* agrupou com sequências de *P. praesorediosum* (Índia) e *P. conjunctum* com valor de suporte de 72%. Morfologicamente, *P. conjunctum* e *P. praesorediosum* apresentam sorédios marginais, enquanto *P. mesotropum* possui apenas apotécios (MALLAVADHANI et al., 2019; MARCELLI & BENATTI, 2010; BENATTI & MARCELLI, 2009). *Parmotrema conjunctum* possui medula totalmente amarela, rica em liquexantona — substância que confere reação UV+ amarelo-dourado — e ácido girofórico, além de poder conter traços de ácido secalônico (BENATTI & MARCELLI, 2009). Em *P. praesorediosum*, a medula apresenta uma reação K-, sendo composta principalmente pelos ácidos praesorediósico e protoliqueterínico, ambos classificados como ácidos graxos. (MARCELLI & BENATTI, 2010). Já *P. mesotropum* apresenta composição mais complexa, com depsídeos e fenóis substituídos, incluindo metil hematômato, metil-2,4-di-hidroxi-3,6-dimetilbenzoato, orcinol e atranorina (MALLAVADHANI et al., 2019).

A sequência de *P. dilatatum* agrupou com um espécime de mesma identidade originária da China (com 96% de suporte). No entanto, mostrou-se distante da sequência da mesma espécie das Ilhas Maurício. *Parmotrema dilatatum* apresenta medula contendo ácidos protocetrário e equinocárpico, ambos derivados do grupo depsidônico/depsidônico-aromático (BENATTI & MARCELLI, 2009). Apesar dessas diferenças químicas específicas, as duas espécies compartilham importantes características morfológicas, como a presença de sorais marginais ou submarginais geralmente originadas a partir de pústulas (SPIELMANN & MARCELLI, 2009; BENATTI & MARCELLI, 2009). Sequências de *P. flavomedullosum*, espécie que apresenta lobos com poucos ou nenhum cílio, medula amarelada a alaranjada e presença de pústulas. Quimicamente, contém atranorina no córtex e ácido girofórico e secalônico, foram recuperadas filogeneticamente com sequências de mesma identidade oriundas da Argentina (99% de suporte) (SPIELMANN & MARCELLI, 2009).

As duas sequências de *P. latissimum* geradas agruparam-se com suporte de 98%, confirmando tratar-se da mesma linhagem genética. Sequências de *P. wrightii* e *P. gardneri*, com registros do Brasil e da Tailândia agruparam no mesmo clado, mas com baixa resolução das relações intraespecíficas. A alta similaridade genética entre amostras geograficamente distantes sugere uma linhagem de ampla distribuição ou espécies-irmãs com baixa

divergência no marcador ITS. *Parmotrema latissimum* é caracterizado por apresentar lóbulos largos e ausência de cílios, face inferior negra com rizinas e ampla zona marginal marrom, produzindo atranorina e ácido salazínico (KUKWA et al., 2012). *P. latissimum*, *P. gardneri* e *P. wrightii* compartilham talos cinzentos, margens sem cílios e face inferior negra com zonas marginais marrom-claras, além de atranorina cortical (KUKWA et al., 2012; SPIELMANN & MARCELLI, 2009). *Parmotrema madilynae* foi recuperado com a sequência de mesma identidade, ambas do Brasil. A espécie é caracterizada pelo talo lobado, pústulas marginais a submarginais que geram sorédios, medula branca e córtex superior com atranorina, além de ácido protocetrárico e traços de ácidos graxos, aproximando-se morfoquimicamente de *P. latissimum* e *P. gardneri* (KUKWA et al., 2012; BENATTI & MARCELLI, 2011; SPIELMANN & MARCELLI, 2009).

A sequência do estudo de *P. reitzii* agrupou com registros de *P. subtinctorum* provenientes da Espanha e da Índia (com valor bootstrap de 81%). No caso de *P. reitzii*, a espécie é caracterizada por sorais submarginais, frequentemente ramificados, pela face inferior marrom-clara a marrom e pela composição química marcada principalmente pelo ácido salazínico e norlobaridona – além de atranorina, cloroatranorina, consalazínico e traços de loxodina (SPIELMANN & MARCELLI, 2020). Já *P. subtinctorum* apresenta medula com norlobaridona e loxodina como compostos característicos. Morfologicamente, distingue-se pelo talo cinza-esverdeado, com máculas brancas visíveis e pela presença de isídios simples ou ramificados (MARCELLI & BENATTI, 2008)

As sequências de *P. recipiendum* obtidas neste estudo formaram um agrupamento com suporte de 100%, confirmando que pertencem à mesma espécie. Essa espécie apresenta lobos estreitos, máculas efiguradas e medula KC+ rosa (norlobaridona) (SPIELMANN & MARCELLI, 2009).

Os espécimes de *P. Argentinum* oriundos desse estudo foram recuperados com as sequências de mesma identidade da Argentina (99% bootstrap), mostrando que a identificação morfológica e filogenética foram confirmadas. Enquanto isso, sequências de *P. mellissii* agruparam com um registro do Equador da mesma espécie e também com a sequência de *P. rigidum* (74% bootstrap). Essas espécies compartilham características morfológicas marcantes: talos lobados, margens com cílios negros abundantes, face inferior escura com rizinas e apotécios laminais ou submarginais. Quimicamente, todas contêm atranorina no córtex e ácidos medulares relacionados (alectorônico em *P. argentinum* e *P. mellissii*, alectórônico e às vezes norstictico em *P. rigidum*, norlobaridona e loxodina em *P. recipiendum*) (KUKWA et al., 2012; SPIELMANN & MARCELLI, 2009; EGAN et al., 2005).

Também observou-se a formação de um clado bem sustentado reunindo espécies do gênero *Parmotrema* com características morfológicas e químicas amplamente parecidas. Sequências de *P. subrugatum* provenientes do Brasil agruparam-se com alto suporte (97%). Essas espécies apresentam talos foliosos de coloração cinza a pardo-esverdeada, com lóbulos bem desenvolvidos, margens ciliadas e ausência de propágulos vegetativos e conídios do tipo unciforme (SPIELMANN & MARCELLI, 2020; SPIELMANN & MARCELLI, 2009; TORRES-BENITEZ et al., 2017).

Nossa sequência identificada como *P. melanocheatum* (Spielmann 14169) não agrupou com a sequência da mesma espécie disponível no GenBank (proveniente da Argentina), enquanto isso formou um grupo com *P. subtinctorium* com suporte de 100%, a sequência do GenBank se agrupou com *P. eurysacum* (amostra de Portugal), apresentando suporte de 86%. No mesmo clado, essas sequências se aproximaram com 76% com uma *P. cetratum* da Índia, e com nossa sequência de *P. pachydermum* duas amostras de *P. fistulatum* tiveram agrupamento com 74%. Este agrupamento remete ao antigo gênero *Concamerella*, sugerindo que características evolutivas compartilhadas por essas espécies justificam essa relação filogenética. A presença de *P. cetratum* (ácido salazínico, sem sorédios) e *P. pachydermum* no mesmo conjunto, junto a *P. fistulatum*, remete a afinidades já sugeridas no passado pelo antigo gênero *Concamerella*, provavelmente relacionadas a padrões de química secundária e estrutura do córtex.

No outro ramo, nossa sequência de *P. austrosinense* (MS) formou um clado com registros da mesma espécie provenientes das Ilhas Maurício e da Holanda (>87% de suporte). Espécie caracterizada por lóbulos largos, acinzentados e sem cílios, sorédios marginais sinuosos e face inferior negra com margem marrom-clara, além da composição química marcada por atranorina e ácido lecanórico (KUKWA et al., 2012).

As sequências de *P. conferendum* agruparam-se com *P. sancti-angeli* com 100% de suporte. Ambas pertencem ao grupo morfológico do antigo gênero *Canomaculina*, com lobos cíliceos, máculas efiguradas e rizinas dimórficas. Quimicamente, *P. conferendum* apresenta medula K–, KC+ avermelhada (norlobaridona), enquanto *P. sancti-angeli* tem medula KC+ rosa/vermelha (ácido girofórico) (KUKWA et al., 2012; SPIELMANN & MARCELLI, 2009). Apesar dessas diferenças, a semelhança estrutural pode explicar a relação próxima. Quando comparada à sequência de *P. sancti-angeli* da Tailândia, a similaridade foi menor (66%), possivelmente refletindo variação geográfica ou química intraespecífica.

Esse conjunto, por sua vez, agrupou-se com *P. hypomiltoides* (MS), formando um clado de suporte intermediário (73%), e posteriormente com *P. internexum* (54%). Ambas compartilham o córtex K+ amarelo (atranorina) e a presença de derivados fenólicos da

norlobaridona ou do ácido estíctico (KUKWA et al., 2012; SPIELMANN & MARCELLI, 2009). *P. hypomiltoides* distingue-se pela presença de sorédios arborescentes e pigmento alaranjado K⁺ vermelho nas sorálias (ácido aletorônico e α -collatólico), enquanto *P. internexum* apresenta talo isidiado e medula com o ácido estíctico. (KUKWA et al., 2012; SPIELMANN & MARCELLI, 2009).

A sequência de *P. dodgei* (MS) se aproximou de um agrupamento com as sequências de *P. eitenii* e de *P. tinctorum*. AS sp n possuem uma resolução significativa

Morfológicamente, *P. eitenii* apresenta talo verde-acinzentado, com sorálias marginais e laminais, compostos por sorédios granulares (BENATTI & MARCELLI, 2009). Já *P. tinctorum* possui talo cinza-esverdeado, com lobos mais largos e formação de isídios cilíndricos laminais. Quimicamente, ambas produzem atranorina no córtex e ácido lecanórico na medula (BENATTI & MARCELLI, 2009). *P. tinctorum* possui algumas variações morfológicas, podendo gerar sobreposição com *P. eitenii*, dificultando uma delimitação clara entre as duas espécies. Assim, alguns espécimes previamente identificados como *P. tinctorum* acabam se agrupando com *P. eitenii* na árvore filogenética — especialmente quando a morfologia e marcadores moleculares não são totalmente congruentes. Além disso, deve-se considerar que as sequências ITS dessas espécies possam apresentar baixa variabilidade resultando em uma filogenia com uma resolução não significativa, essas pequenas diferenças na sequência podem alterar o posicionamento dos táxons na árvore.

Parmotrema consors e *P. pilosum* formaram um clado com suporte elevado (>95%). Algumas sequências de *P. consors* e *P. pilosum* agruparam-se mais estreitamente entre si do que com outras da mesma espécie. Ambas compartilham lobos estreitos, máculas efiguradas e rizinas dimórficas, mas diferem quanto ao tipo de reprodução vegetativa: *P. consors* não possui sorédios a e *P. pilosum* é sorediada e não possui substâncias na medula (SPIELMANN & MARCELLI, 2009; BENATTI, 2013). Historicamente, essas espécies foram tratadas como pares correlatos, e o alto valor de bootstrap encontrado reforça a hipótese de parentesco próximo ou de uma relação derivativa entre essas linhagens.

No ramo que envolve *P. clavuliferum*, *P. reticulatum* e *P. austromaculatum*, os agrupamentos apresentaram suporte suficiente para considerá-las espécies relacionadas. A sequência de *P. clavuliferum* (MS) agrupou-se com 85% de suporte com *P. reticulatum* (Uruguai), e ambas se uniram com 99% de suporte a *P. austromaculatum* (MS). Todas compartilham perfil químico caracterizado por ácido salazínico e atranorina associados a padrões de máculas reticuladas e lóbulos amplos. A associação de *P. austromaculatum* com as duas espécies anteriores também pode ser explicada por uma afinidade geográfica e

ecológica regional, já que as amostras do Brasil (MS e RS) compartilham condições ambientais similares que favorecem talos amplos, reticulados e ricamente salazínicos. (SPIELMANN & MARCELLI, 2009; SPIELMANN & MARCELLI, 2020). Apesar disso, estudos prévios, como no de Del-Prado (2011) destacam diferenças morfológicas que sustentam o reconhecimento de *P. clavuliferum* e *P. reticulatum* como espécies distintas. Esse grupo aproximou-se ainda de sequências de *P. cetratum* (Argentina) e de nossa amostra de *P. commensuratum* (MS). Para *P. austromaculatum*, a proximidade sugere afinidade morfológica e química regional.

Por fim, o par *P. commensuratum* + *P. cetratum* formou um clado, mesmo apresentando diferenças morfológicas e químicas. *P. commensuratum* possui sorais submarginais e/ou nos ápices das lacínulas, além de apresentar norlobaridona e loxodina na medula. Já *P. cetratum* é uma espécie com apotécios e medula contendo ácido salazínico e consalazínico (SPIELMANN & MARCELLI, 2009). Possivelmente a filogenia utilizando apenas o marcador ITS não foi suficiente para essas espécies geneticamente, podendo indicar um complexo de espécies (RODRIGUES, 2023). Nossas sequências de *P. perlatum* e *P. eciliatum* apresentaram suporte de 87%, agrupando-se com outras sequências de *P. perlatum* provenientes da Espanha, Reino Unido e Marrocos. Esses agrupamentos mostraram valores elevados de suporte, variando de 74% até 99%, indicando forte proximidade filogenética entre as amostras.

5. CONCLUSÃO

A aplicação do DNA *barcoding* à coleção de *Parmotrema* do Herbário CGMS permitiu ampliar o conhecimento sobre a variabilidade genética do gênero e fortalecer o acervo molecular disponível no Brasil. Foram geradas 42 novas sequências ITS, referentes a 32 espécies, contribuindo para a ampliação de um banco de referência local de DNA *barcodes*.

Um dos avanços mais significativos deste trabalho foi a ampliação da representatividade do gênero no GenBank. Das espécies sequenciadas, 17 nunca haviam sido registradas no banco internacional, o que representa um aumento de aproximadamente 31% na diversidade de *Parmotrema* depositada globalmente. As análises filogenéticas mostraram tanto agrupamentos consistentes com sequências já publicadas quanto indícios de possíveis complexos de espécies, especialmente devido à baixa resolução do marcador ITS em alguns táxons. Em vários casos, como em *P. praesorediosum*, *P. dilatatum*, *P. argentinum*, *P. austrosinense* e *P. subrugatum*, as sequências produzidas agruparam-se de com registros

internacionais e/ou nacionais, confirmando identificações taxonômicas e mostrando a ampla distribuição geográfica de algumas linhagens. Em outros grupos, entretanto, a baixa resolução do marcador ITS ou o agrupamento inesperado entre espécies morfologicamente distintas, como observado em *P. melanocheatum*, *P. commensuratum*, *P. tinctorum*, *P. eitenii* e no conjunto associado ao antigo gênero *Concamerella*, sugerem identificação taxonômicas ainda incertas e reforçam a necessidade de uso de outros marcadores e análises integrativas.

Os resultados da pesquisa contribuem não apenas para a expansão do banco de dados do Laboratório de Ecologia e Biologia Evolutiva (LEBio) com novas sequências genéticas, mas também proporcionam uma análise mais aprofundada da diversidade genética e das relações filogenéticas dentro do gênero *Parmotrema*. Esse avanço é fundamental para pesquisas futuras voltadas à biodiversidade, conservação e ecologia de líquens no Brasil.

3. REFERÊNCIAS

- APTROOT, André; CÁCERES, Marcela Eugenia da Silva; SANTOS, Lidiane Alves dos; BENATTI, Michel N.; CANÊZ, Luciana; DAL FORNO, Manuela; FEUERSTEIN, Shirley C.; FRAGA JUNIOR, Carlos Augusto Vidigal; GERLACH, Alice C. L.; GUMBOSKI, Emerson Luiz; JUNGBLUTH, Patrícia; KÄFFER, Márcia I.; KALB, Klaus; KOCH, Natália M.; LÜCKING, Robert; TORRES, Jean-Marc; SPIELMANN, Adriano A. The Brazilian lichen checklist: 4,828 accepted taxa constitute a country-level world record. *The Bryologist*, v. 128, n. 2, p. 96-423, 27 jun. 2025.
- BENATTI, M. N. Espécies de *Parmotrema* (*Parmeliaceae*, Ascomycota) no Parque Estadual da Cantareira, Estado de São Paulo, Brasil. I. As espécies com máculas efiguradas ou reticulares. *Hoehnea*, São Paulo, v. 40, n. 4, p. 577-609, dez. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S2236-89062013000400007>.
- BENATTI, M. N.; MARCELLI, M. P.; YANO, O. Espécies de *Parmotrema* (*Parmeliaceae*, Ascomycota) do litoral centro-sul do Estado de São Paulo, Brasil: I. Grupos químicos girofórico e lecanórico. *Acta Botanica Brasilica*, v. 23, n. 1, p. 12-21, 2009.
- BENATTI, M. N.; MARCELLI, M. P. Espécies de *Parmotrema* (*Parmeliaceae*, Ascomycota) do litoral Centro-Sul do Estado de São Paulo IV: grupo químico protocetrário. *Brazilian Journal of Botany*, v. 34, p. 103–123, 2011.
- BRODO, I. M.; SHARNOFF, S. D.; SHARNOFF, S. *Lichens of North America*. New Haven; London: Yale University Press, 2001. 795 p.
- CANÊZ, L. S. A família *Parmeliaceae* na localidade de Fazenda da Estrela, município de

- Vacaria, Rio Grande do Sul, Brasil. 2005. Disponível em: <https://repositorio.unisc.br/jspui/handle/11624/712>. Acesso em: 12 jul. 2024.
- CANÊZ, L. da S.; KOCH, N. M.; BARBOSA, T. D.; KITaura, M. J.; SPIELMANN, A. A.; HONDA, N. K.; JUNGBLUTH, P.; GERLACH, A.; LÜCKING, R.; APTROOT, A. Lichenized Ascomycota from the Pantanal in Mato Grosso do Sul state, Brazil. In: POTT, A.; DA SILVA, J. S. V. (org.). Flora and Vegetation of the Pantanal Wetland: Ecology, Biodiversity and Conservation. Cham: Springer, 2021. DOI: 10.1007/978-3-030-83375-6_6.
- COSTA, R. F. S. Solubilização de fosfato inorgânico por bactérias de líquens da Antártica: isolamento, screening e influência de fatores abióticos. 2021. Disponível em: <https://ud10.arapiraca.ufal.br/repositorio/publicacoes/3847>. Acesso em: 12 jul. 2024.
- CRESPO, A.; CUBERO, O. F. A molecular approach to the circumscription and evaluation of some genera segregated from *Parmelia* s. lat. The Lichenologist, v. 30, p. 369–380, 1998.
- CUBERO, O. F.; CRESPO, A.; HAWKSWORTH, D. L. DNA extraction and PCR amplification method suitable for fresh, herbarium-stored, lichenized, and other fungi. Plant Molecular Biology Reporter, v. 17, p. 1–7, 1999.
- CUNHA-DIAS, I. P. R.; SANTOS, J. S.; DUTRA, T. S.; SANTOS, A. J. M.; NASCIMENTO, G. M. A new species of *Parmotrema* (*Parmeliaceae*, lichenized Ascomycota) from Cerrado vegetation in the state of Maranhão, Brazil. Rodriguésia, v. 76, p. e01042024, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1590/2175-7860202576024>
- DEL-PRADO, R.; CUBAS, P.; LUMBSCH, H. T.; DIVAKAR, P. K.; BLANCO, O.; DE PAZ, G. A.; ...; CRESPO, A. Genetic distances within and among species in monophyletic lineages of *Parmeliaceae* (Ascomycota) as a tool for taxon delimitation. Molecular Phylogenetics and Evolution, v. 56, n. 1, p. 125–133, 2010.
- DEL-PRADO, R.; CUBAS, P.; LUMBSCH, H. T.; DIVAKAR, P. K.; BLANCO, O.; DE PAZ, G. A.; MOLINA, M. C.; CRESPO, A. Using genetic distances in addition to ITS molecular phylogeny to identify potential species in the *Parmotrema reticulatum* complex: A case study. The Lichenologist, v. 43, p. 1–12, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0024282911000036>.
- EGAN, R. S.; HARMS, R.; WIDHELM, T. Studies on the Lichen *Parmotrema rigidum* s. lat. from North and South America. The Bryologist, v. 108, n. 3, p. 402–405, 2005. Disponível

- em: [https://doi.org/10.1639/0007-2745\(2005\)108\[0402:SOTLPR\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1639/0007-2745(2005)108[0402:SOTLPR]2.0.CO;2)
- FEUERER, T.; HAWKSWORTH, D. L. Biodiversity of lichens, including a worldwide analysis of checklist data based on Takhtajan's floristic regions. *Biodiversity and Conservation*, v. 16, p. 85–98, 2007.
- GARDES, M.; BRUNS, T. D. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes – Application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology*, v. 2, p. 113–118, 1993.
- HAJIBABAEI, M.; SINGER, G. A. C.; HEBERT, P. D. N.; HICKEY, D. A. DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *Molecular Ecology*, v. 16, n. 8, p. 1731–1751, 2007.
- HAWKSWORTH, D. L.; GRUBE, M. Lichens redefined as complex ecosystems. *New Phytologist*, v. 227, n. 5, p. 1281–1283, 2020. DOI: 10.1111/nph.16630.
- HEBERT, P. D. N.; GREGORY, T. R. The promise of DNA barcoding for taxonomy. *Systematic Biology*, v. 54, n. 5, p. 852–859, out. 2005.
- HONDA, N. K. Líquens de Mato Grosso do Sul: estudo químico e avaliação da atividade biológica. 1997. 208 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, 1997.
- HONDA, N. K.; FREITAS, D. dos S.; MICHELETTI, A. C.; CARVALHO, N. C. P.; SPIELMANN, A. A.; CANÊZ, L. da S. *Parmotrema screminiae* (Parmeliaceae), a Novel Lichen Species from Brazil with Potent Antimicrobial Activity. *Orbital: Electron. J. Chem.*, v. 8, p. 334–340, 2016.
- ISMED, F.; LOHÉZIC-LE DÉVÉHAT, F.; GUILLER, A.; CORLAY, N.; BAKHTIAR, A.; BOUSTIE, J. Phytochemical review of the lichen genus *Stereocaulon* (Fam. Stereocaulaceae) and related pharmacological activities highlighted by a focus on nine species. *Phytochemistry Reviews*, v. 17, p. 1165–1178, 2018.
- JAKLITSCH, W. M.; BARAL, H. O.; LÜCKING, R.; LUMBSCH, H. T. Ascomycota. In: FREY, W. (org.). *Syllabus of Plant Families – Adolf Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien*. Stuttgart: Borntraeger, 2016.
- KEARSE, M.; MOIR, R.; WILSON, A.; STONES-HAVAS, S.; CHEUNG, M.; STURROCK, S.; BUXTON, S.; COOPER, A.; MARKOWITZ, S.; DURAN, C. Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of

- sequence data. *Bioinformatics*, v. 28, n. 12, p. 1647–1649, 2012.
- KELLY, L. J.; HOLLINGSWORTH, P. M.; COPPINS, B. J.; ELLIS, C. J.; HARROLD, P.; TOSH, J.; YAHR, R. DNA barcoding of lichenized fungi demonstrates high identification success in a floristic context. *New Phytologist*, v. 191, n. 1, p. 288–300, 2011. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2011.03677.x.
- KOCH, N. M. Efeitos da poluição atmosférica como fator de estresse ambiental na estrutura e na funcionalidade das comunidades de líquens. 2016. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/143740>. Acesso em: 12 jul. 2024.
- KUKWA, Martin; BACH, Kerstin; SIPMAN, Harrie J. M.; FLAKUS, Adam. Thirty-six species of the lichen genus *Parmotrema* (Lecanorales, Ascomycota) new to Bolivia. *Polish Botanical Journal*, v. 57, n. 1, p. 243–257, 2012.
- LA TORRE, R. D.; RAMOS, D.; MEJÍA, M. D.; NEYRA, E.; LOARTE, E.; ORJEDA, G. Survey of lichenized fungi DNA barcodes on King George Island (Antarctica): an aid to species discovery. *Journal of Fungi*, v. 9, n. 5, p. 552, 2023. DOI: 10.3390/jof9050552.
- LEAVITT, Steven D.; DIVAKAR, Pradeep K.; OHMURA, Yoshihito; WANG, Li-song; ESSLINGER, Theodore L.; LUMBSCH, H. Thorsten. Who’s getting around? Assessing species diversity and phylogeography in the widely distributed lichen-forming fungal genus *Montanelia* (Parmeliaceae, Ascomycota). *Fungal Biology*, [s. l.], v. 119, n. 6, p. 528–540, 2015.
- LÜCKING, R.; HODKINSON, B. P.; LEAVITT, S. D. The 2016 classification of lichenized fungi in the Ascomycota and Basidiomycota – Approaching one thousand genera. *The Bryologist*, v. 119, p. 361–416, 2017.
- MALLAVADHANI, U. V.; TIRUPATHAMMA, R. S.; SAGARIKA, G.; RAMAKRISHNA, S. ISOLATION, CHEMICAL MODIFICATION, AND ANTICANCER ACTIVITY OF MAJOR METABOLITES OF THE LICHEN *PARMOTREMA MESOTROPUM*. *Chemistry of Natural Compounds*, v. 55, n. 5, p. 711–716, 2019. DOI: 10.1007/s10600-019-02824-2
- MATTSSON, J. E.; WEDIN, M. Phylogeny of the *Parmeliaceae* – DNA data versus morphological data. *The Lichenologist*, v. 30, p. 463–472, 1998. DOI: 10.1006/lich.1998.0143.
- MITCHELL, M. E. Signposts to symbiosis: a review of early attempts to establish the constitution of lichens. *Huntia*, v. 13, p. 101–120, 2007.

- MARCELLI, M. P.; BENATTI, M. N. ESPÉCIES DE *PARMOTREMA* (*PARMELIACEAE*, ASCOMYCETES LIQUENIZADOS) COM ÁCIDOS GRAXOS OU ATRANORINA MEDULARES DO LITORAL CENTRO-SUL DO ESTADO DE SÃO PAULO. *Hoehnea*, v. 37, p. 117–129, 2010
- MARCELLI, M.P ; BENATTI, M. N.. Espécies de *Parmotrema* (*Parmeliaceae*, Ascomycota) do litoral centro-sul do Estado de São Paulo V: grupo químico alectorônico. *Brazilian Journal of Botany*, v. 34, p. 261–283, 2011.
- MARCELLI, Marcelo Pinto; BENATTI, Michel Navarro. *Espécies de Parmotrema (Parmeliaceae, Ascomycetes liquenizados) com rizinas dimórficas do litoral centro-sul do estado de São Paulo*. São Paulo: Instituto de Botânica, 2008
- NASH III, T. H.; ELIX, J. A. *Parmotrema*. In: NASH III, T. H.; RYAN, B. D.; GRIES, C.; BUNGARTZ, F. (ed.). *Lichen flora of the Greater Sonoran Desert Region*. v. 1. Tempe: Arizona State University, 2002.
- OP DE BEECK, M.; LIEVENS, B.; BUSSCHAERT, P.; DECLERCK, S.; VANGRONSVELD, J.; COLPAERT, J. V. Comparison and validation of some ITS primer pairs useful for fungal metabarcoding studies. *PLoS ONE*, v. 9, n. 6, e97629, 2014. DOI: 10.1371/journal.pone.0097629.
- PARMOTREMA – Taxonomy and Species Information. *Parmotrema* MySpecies. Disponível em: <https://parmotrema.myspecies.info/taxonomy/term/33/descriptions>
- PHILLIPS, J. D.; SMITH, A. B.; BROWN, S. D.; JONES, M. L.; WILSON, C. A. A measure of the DNA barcode gap for applied and basic research. *Molecular Ecology Resources*, v. 24, p. 45-57, 2024. RATNASINGHAM, S.; HEBERT, P. D. N. The Barcode of Life Data System (BOLD). *Molecular Ecology Notes*, v. 7, n. 3, p. 355–364, 2007. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2007.01678.x.
- RODRIGUES, A. S. Taxonomia integrativa em líquens parmelioides (*Parmeliaceae*) do Brasil. Disponível em: <https://repositorio.ufms.br/handle/123456789/8299>. Acesso em: 12 jul. 2024.
- RATNASINGHAM, S.; HEBERT, P. D. N. The Barcode of Life Data System (BOLD). *Molecular Ecology Notes*, v. 7, n. 3, p. 355–364, 2007. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2007.01678.x.
- RODRIGUES, A. S. Taxonomia integrativa em líquens parmelioides (*Parmeliaceae*) do Brasil. Disponível em: <https://repositorio.ufms.br/handle/123456789/8299>. Acesso em: 12

jul. 2024.

- SAMAL, K. C.; SAHOO, J. P.; BEHERA, L.; DASH, T. Understanding the BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) program and a step-by-step guide for its use in life science research. *Bhartiya Krishi Anusandhan Patrika*, v. 36, n. 1, p. 55-61, 2021.
- SCHOCH, C. L.; SEIFERT, K. A.; HUHNDORF, S.; ROBERT, V.; SPOUGE, J. L.; LEVESQUE, C. A.; CHEN, W.; FUNGAL BARCODING CONSORTIUM. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, v. 109, p. 6241–6246, 2012.
- SPIELMANN, A. A.; MARCELLI, M. P. *Fungos liquenizados (liquens)*. São Paulo: Instituto de Botânica, 2006.
- SPIELMANN, A. A.; MARCELLI, M. P. *Parmotrema sl (Parmeliaceae, lichenized Ascomycota)* from Serra Geral slopes in central Rio Grande do Sul State, Brazil. *Hoehnea*, v. 36, p. 551-595, 2009.
- SPIELMANN, A. A.; MARCELLI, M.P. . Type studies on *Parmotrema (Parmeliaceae, Ascomycota)* with salazinic acid. *Plant and Fungal Systematics*, v. 65, n. 2, p. 403–508, 2020. DOI: <https://doi.org/10.35535/pfsyst-2020-0028>
- SPRIBILLE, T; RESL, P; STANTON, Daniel E.; TAGIRDZHANOVA, Gulnara. *Evolutionary biology of lichen symbioses*. 2022.
- TORRES-BENÍTEZ, Alfredo; RIVERA-MONTALVO, María; SEPÚLVEDA, Beatriz; CASTRO, Olivio N.; NAGLES, Edgar; SIMIRGIOTIS, Mario J.; GARCÍA-BELTRÁN, Olimpo; ARECHE, Carlos. Metabolomic analysis of two *Parmotrema* lichens: *P. robustum* (Degel.) Hale and *P. andinum* (Mull. Arg.) Hale using UHPLC-ESI-OT-MS-MS. *Metabolites*, v. 7, n. 4, p. 70, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3390/metabo7040070>
- WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS, M. A.; GELFAND, D. H.; SNINSKY, J. J.; WHITE, T. J. (Eds.). *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. New York: Academic Press Inc, 1990. p. 315-322