

Sistemática do gênero *Usnea* Adans (Ascomycota liquenizados) no sul do Brasil: uma abordagem tradicional e molecular

Doutoranda: Msc. Alice da Cruz Lima Gerlach

Orientadora: Dra. Rosa Mara Borges da Silveira (UFRGS)

Co-orientador: Dr. Philippe Clerc (CJB/Suíça)

Colaboradora: Dra. Camille Truong (CJB/Suíça)

1. Introdução

O gênero *Usnea* Adans é caracterizado pelo talo fruticoso, de arbustivo a pendente, com eixo cartilaginoso central e ácido úsnico cortical (Clerc 1998). Os ramos variam de cilíndricos a angulados e sulcados, raramente achatados (Swinscow & Krog 1988). Os apotécios possuem margem talina, fibrilosa e com disco claro, os ascósporos são hialinos e simples e o fotobionte é uma alga verde do gênero *Trebouxia* Puymaly (McCune 2000).

Usnea é um gênero cosmopolita, ocorrendo preferencialmente em locais úmidos e bem iluminados (Halonen *et al.* 1999). As espécies do gênero ocorrem desde o nível do mar até altitudes mais elevadas (Halonen *et al.* 1998) e também em fazendas, parques ou outros ambientes antropizados (Halonen *et al.* 1999). São encontradas sobre árvores e arbustos, e raramente em rochas (Clerc & Herrera-Campos 1997). Conforme Marcelli (1998), no Brasil a diversidade do gênero pode ser alta nas regiões mais úmidas e de maiores altitudes.

Embora o gênero seja facilmente reconhecido pela presença do eixo cartilaginoso central, a extensa plasticidade morfológica em resposta a parâmetros ambientais (*e.g.* luz, umidade) torna a taxonomia ao nível específico difícil de ser compreendida (Clerc 1998). Consequentemente muitos nomes foram descritos na literatura em decorrência de pequenas variações morfológicas o que torna a taxonomia deste gênero muito confusa (Clerc 1987).

A monografia mundial de *Usnea* (Motyka 1936-1938) apresenta 451 espécies e numerosas entidades infra-específicas. Porém, muitas delas estão em sinonímia por se acreditar serem formas modificadas por parâmetros ambientais (Halonen *et al.* 1998). Motyka foi um típico taxonomista a adotar o pensamento tipológico de espécie, e, segundo Clerc (1998), este é um dos fatores responsáveis pelas dificuldades taxonômicas encontradas no gênero.

Várias espécies foram sinonimizadas e, atualmente, acredita-se que o gênero possua cerca de 350 espécies (Clerc 1998). A América do Sul possui uma grande diversidade de

espécies de *Usnea*. Esta diversidade é pouco conhecida devido às poucas pesquisas taxonômicas efetuadas neste continente (Rodriguez & Estrabou 2008; Rodriguez *et al.* 2011; Truong *et al.* 2011, Truong & Clerc 2012). Com exceção destas duas últimas publicações, as quais descrevem *Usnea steineri* Zahlbr., *U. ceratina* Ach. e *U. entoviolata* Motyka para o Brasil, as demais publicações com exemplares brasileiros correspondem em geral a listas de espécies e/ou não adotam o conceito moderno de espécie aplicado a este gênero (*e.g.* Rizzini 1952; Osorio 1977; Osorio & Fleig 1989).

Para o Brasil são mencionados 75 nomes de *Usnea* (Marcelli 2008), dos quais a maioria (64) foi descrita na monografia de Motyka (Marcelli 1998). Para a Região Sul do Brasil são citadas 44 espécies: 22 para o Rio Grande do Sul (Spielmann 2006), apenas uma espécie para o Paraná (Eliasaro 2006) e 21 para Santa Catarina (Gumboski & Eliasaro 2011). Muitos destes nomes tornaram-se sinônimas e/ou nunca foram revistos. Os nomes mencionados para o Brasil e mesmo para a Região Sul, além dos vários exemplares não identificados de *Usnea* depositados em herbários brasileiros, indicam que este país possui grande diversidade de espécies que merecem serem estudadas.

Nas últimas décadas, estudos taxonômicos de *Usnea* têm sido publicados na América do Norte, Europa, África, Austrália e Japão (*e.g.* Clerc & Herrera-Campos 1997; Clerc 1991; Swinscow & Krog 1988, Stevens 2004, Ohmura 2001). Assim, uma série de artigos com descrições morfológicas anatômicas e químicas detalhadas constitui uma excelente base para o estudo do gênero na América do Sul, e mais particularmente no Brasil.

Motyka (1936-1938) reconheceu seis subgêneros em sua monografia mundial de *Usnea*: *Euusnea* Jatta, *Protousnea* Mot., *Lethariella* (Mot.) Krog, *Chlorea* (Nyl.) Mot., *Neuropogon* (Nees & Flot.) Mot. e *Eumitria* (Stirt.) Mot. *Euusnea* é o maior subgênero, apresenta eixo central sólido, disco do apotécio claro e, em geral com fibrilas marginais, ácido úsnico cortical e distribuição cosmopolita (Krog 1976). *Protousnea* é endêmico da Argentina e Chile e pode ser reconhecido pelo disco apotecial tipicamente marrom, o excípulo talino em geral sem fibrilas e pela ausência de sorédios (Calvelo *et al.* 2005). O subgênero *Eumitria* ocorre em regiões temperadas e tropicais e apresenta eixo central tubular (Articus 2004). *Lethariella* (Mot.) apresenta eixo espesso, rígido e oco, ausência de pigmento cortical e distribuição na Macarronésia e região do Mediterrâneo e *Chlorea* apresenta o eixo sólido, flexível mas não elástico, córtex com pigmento alaranjado (canariona) e ocorre nas altas montanhas da Ásia central e na Macarronésia (Krog 1976); Ambos *Lethariella* e *Chlorea* apresentam atranorina cortical ao invés do ácido úsnico (Krog 1976). *Neuropogon* é conhecido para regiões

Antárticas e Árticas, em altas altitudes da América do Sul e para a Australásia (Articus 2004). Esta delimitação supra-específica do gênero tem sido bastante discutida (Obermayer 2001, Ohmura 2001, 2002; Articus 2004; Wirtz *et al.* 2006; Lumbsch & Wirtz 2011).

O conhecimento dos metabólitos secundários se revela de uma ajuda extraordinária na procura de caracteres morfológicos e anatômicos diagnósticos para a delimitação de espécies (Clerc 1991). Reconhecer estes compostos é uma etapa importante na identificação das espécies uma vez que muitas delas são bastante variáveis morfológicamente (Halonen *et al.* 1999). Dados químicos, contudo, possuem valor diagnóstico ao nível específico somente se correlacionados com um ou mais caracteres morfológicos ou anatômicos, logo é frequente a aceitação de quimiotipos na taxonomia moderna de *Usnea* (Clerc 1998). A ocorrência de diversos quimiotipos nas regiões geográficas ocupadas por uma mesma espécie é relativamente frequente. Assim, na Argentina os principais quimiotipos de *Usnea amblyoclada* (Müll. Arg.) Zahlbr. contêm ácido salazínico e norestíctico (Rodríguez *et al.* 2011), enquanto o ácido galbínico é o principal composto encontrado nos espécimes da América do Norte (Clerc & Herrera-Campos 1997).

As formas intermediárias, espécimes com uma mistura de caracteres de duas espécies morfológica, anatômica e quimicamente diferenciadas constituem casos difíceis, às vezes são consideradas como possíveis híbridos. Além disso, a ocorrência de espécies crípticas, duas ou mais linhagens independentes que apresentam morfologias similares, tem sido frequentemente relatada em fungos liquenizados (*e.g.* Kroken & Taylor 2001; Molina *et al.* 2011). Nestes casos, estudos moleculares podem auxiliar na compreensão e colocar em evidência a diversidade de espécies de fungos liquenizados.

2. Justificativa

O presente trabalho possui grande importância para o conhecimento de *Usnea* no sul do Brasil. Este será o primeiro trabalho sobre espécies brasileiras baseado em conceitos taxonômicos modernos e utilizando caracteres moleculares.

Na América do Sul há duas teses recentes: Rodríguez (2011) sobre as espécies presentes na Argentina e Truong (2012) abordando as espécies que ocorrem em regiões neotropicais. No Brasil, contudo, não há especialistas no grupo, sendo urgente a necessidade de se conhecer as espécies que aqui ocorrem e a formação de um especialista no gênero neste país.

A ausência de descrições e ilustrações mais detalhadas bem como de chaves de identificação dificulta muito a identificação e a comparação dos exemplares. As descrições

antigas existentes não trazem informações acerca das espessuras relativas do córtex, medula e eixo (CMA), sobre a pigmentação da base do talo bem como a morfologia e ontogenia dos sorais. Além disso, muitas espécies mencionadas para o sul do Brasil no final do século XIX e início do século XX não foram tratadas em estudos posteriores.

Uma abordagem molecular para a circunscrição de espécies sul brasileiras de *Usnea* poderá auxiliar na compreensão de quais caracteres morfológicos, anatômicos e/ou químicos são úteis na delimitação das espécies e também para evidenciar possíveis espécies crípticas.

3. Objetivos

3.1. Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho é ampliar o conhecimento de *Usnea* na Região Sul do Brasil, por meio de uma abordagem baseada em caracteres morfológicos, anatômicos, químicos e moleculares.

3.2. Objetivos específicos

Caracterizar morfológica, anatômica e quimicamente as espécies estudadas;

Confrontar os resultados moleculares com o conceito de espécie empregado;

Propor novas circunscrições para os táxons problemáticos com base em estudos morfológicos, químicos e moleculares;

Elucidar as possíveis variações morfológicas e/ou anatômicas encontradas;

Evidenciar a possibilidade de ocorrência de espécies crípticas;

Proporcionar meios para a identificação das mesmas através de chaves, ilustrações e descrições;

Formar um profissional com experiência em taxonomia de fungos liquenizados para suprir a carência de especialistas.

4. Metas

Com o desenvolvimento desta Tese se espera encontrar pelo menos 50 espécies de *Usnea* para a Região Sul do Brasil.

Através das análises morfo-anatômicas e químicas dos exemplares coletados, bem como dos exemplares de herbários pretende-se chegar a uma proposta de classificação que será confirmada ou não através das análises moleculares.

Algumas espécies cuja localidade tipo é o Brasil, nunca mais foram estudadas e, portanto, após revisão dos holótipos (quando existentes) e também com base em material coletado pretende-se realizar descrições modernas, utilizando caracteres atualmente empregados na circunscrição de *Usnea*.

Espera-se também, com base em caracteres morfológicos, químicos e moleculares, descrever algumas espécies novas para a ciência. Além disso, através dos estudos dos tipos depositados em herbários, é provável que algumas mudanças nomenclaturais sejam propostas, tais como novas combinações, designação de sinônimos novos bem como rejeição de antigos sinônimos e designações de lectótipos quando, por exemplo, for constatada mistura de espécies nos holótipos analisados.

5. Hipóteses

- A ocorrência de quimiotipos corresponde a linhagens geneticamente distintas;
- Espécies com ampla variação morfológica correspondem a complexos de espécies;
- Espécimes morfolologicamente idênticos podem corresponder a linhagens geneticamente distintas;
- Espécies diferenciadas somente por apresentar reprodução sexuada ou assexuada podem ser a mesma espécie.

6. Material e métodos

6.1. Expedições de coleta

Serão realizadas expedições a campo em todos os tipos de formações vegetacionais nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. Os locais de coleta estão definidos conforme a Tabela 1.

6.2. Revisão de herbários e estudos dos tipos

Será solicitado o empréstimo de todos os exemplares de *Usnea* depositados nos herbários da Região Sul do Brasil (*e.g.* HAS, ICN, UPCB, MBM, MPUC, PACA, HUCCS, FLOR). Além destes, serão analisadas coleções da região depositadas em outros herbários (*e.g.* HUPG, SP, RB). Também serão analisados os materiais tipo (*e.g.* LBL, S) para confirmar a identidade das espécies.

Tabela 1: Locais de coleta na Região Sul do Brasil

RIO GRANDE DO SUL	
Áreas de Coleta	Formação Vegetal Predominante
Estação Ecológica do Taim	Restinga
Parque Estadual de Itapuã	Restinga e Floresta Estacional Semidecidual
Parque Estadual do Turvo	Floresta Estacional Decidual
Flona de São Francisco de Paula	Floresta Ombrófila Mista
Parque Nacional Aparados da Serra (RS/SC)	Campos de Cima da Serra
Parque Nacional Serra Geral	Campos de Cima da Serra
Parque Nacional da Lagoa do Peixe	Vegetação litorânea
APA do Ibirapuitã	Pampa
Pico do Monte Negro	Densa Alto-montana
SANTA CATARINA	
Parque Estadual Serra Furada	Floresta Ombrófila Densa Montana
Parque Estadual da Serra do Tabuleiro	Mata Nebular e Campos de Altitude
Parque Nacional São Joaquim	Floresta Ombrófila Mista e Campos de Cima da Serra
RPPN Rio das Furnas	Floresta Ombrófila Densa e Mista
Serra do Quiriri e arredores (Monte Crista)	Montana e Altomontana
Castelo dos Bugres	Floresta Ombrófila Densa
Ilha de Santa Catarina	Floresta Ombrófila Densa
PARANÁ	
Apa de Piraquara	Floresta Ombrofila Mista
Apa da Escarpa Devoniana	Floresta Ombrofila Mista e Campos Gerais
Parque Nacional Foz de Iguaçu	Estacional Semidecidual
Flona Irati	Floresta Ombrofila Mista
Flona Piraí do Sul	Floresta Ombrófila Mista e Campos Gerais
Reserva Biológica das Araucárias	Floresta Ombrófila Mista
Parque Estadual Vila Velha	Floresta Ombrófila Mista
Parque Estadual Guartelá	Campos e Cerrados associados
Parque Estadual do Cerrado	Cerrado
Parque Estadual Pico Paraná	Densa Montana e Altomontana
Parque Estadual da Serra da Baitaca (Morro Anhangava)	Densa Montana e Altomontana
Parque Estadual Pico Marumbi	Densa Montana e Altomontana
Morro Caratuva	Densa Montana e Altomontana
Morro Anhangava	Densa Montana e Altomontana
Morro dos Perdidos	Densa Montana e Altomontana
Ponta Grossa	Campos Gerais
Tibagi	Campos rupestres
Ecoplan de General Carneiro	Floresta Ombrófila Mista

6.3. Análises morfológicas e anatômicas

Os espécimes serão analisados baseados em um protocolo de descrição morfoanatômica a ser confeccionado. Para realização dos cortes anatômicos e análise química serão consultados os curadores de cada herbário para que o procedimento seja autorizado. Em laboratório, será feita análise morfológica sob microscópio estereoscópico (20–40×) onde

serão realizadas observações morfológicas detalhadas das estruturas referidas no protocolo como, por exemplo, medidas das espessuras do córtex, medula e eixo central (CMA) de acordo com Clerc (1984, 1987). Para as análises anatômicas do talo e de estruturas reprodutivas do micobionte serão feitos cortes à mão livre, os quais serão analisados sob microscópio óptico (100–1000×) e realizadas medições das microestruturas de importância taxonômica como ascósporos e conídios.

6.4. Análises químicas

Para a identificação de metabólitos secundários de importância taxonômica serão realizados testes de coloração de córtex e medula segundo Taylor (1967, 1968); observação do talo sob lâmpada UV (Taylor 1967, 1968) e cromatografia em camada delgada (Culberson & Ammann 1979), utilizando tabelas e dados de Culberson & Ammann (1979) e de Elix & Ernst-Russell (1993) para a identificação das substâncias.

6.5. Análises moleculares

Serão efetuadas análises moleculares para todas as espécies (2 ou 3 exemplares/espécie) para fins de circunscrição de táxons. A extração de DNA será feita a partir de 5-10 mg do talo do líquen através do método CTAB modificado de acordo com Cubero *et al.* (1999).

A amplificação (PCR) será efetuada para as regiões internas transcritas (ITS1 e ITS2), para a grande subunidade ribossomal (LSU) do rDNA, e para duas regiões codificadoras pertencentes aos genes RPB1 e MCM7. Serão utilizados *primers* específicos para ascomycetes liquenizados (Döring 2000; Piercey-Normore & DePriest 2001; White *et al.* 1990), seguindo os protocolos de Robertson & Piercey-Normore (2007). Após a amplificação, os fragmentos de DNA serão purificados e sequenciados em um sequenciador automático (Ohmura *et al.* 2006).

As sequências obtidas serão testadas no GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) utilizando a ferramenta BLAST. Esta ferramenta irá comparar a sequência testada com outras depositadas na base de dados e indicar aquelas com maior similaridade. Serão excluídas das análises as sequências que apresentarem resultados duvidosos. Sequências de outras espécies previamente depositadas no GenBank serão selecionadas para inclusão nas análises.

Após a seleção das sequências a serem analisadas, estas serão alinhadas utilizando o algoritmo Clustal X (Larkin *et al.* 2007). Os alinhamentos serão lidos no programa BIOEDIT

(Hall 1999) para conferência visual e correção manual de possíveis erros e/ou inconsistências nas sequências.

Serão construídas árvores que melhor representem as relações filogenéticas entre os táxons estudados empregando os critérios de máxima parcimônia e inferência Bayesiana nos programas PAUP*4.0b10 (Swofford 2003) e MrBayes 3.0b4 (Ronquist & Huelsenbeck 2003), respectivamente. O modelo de evolução que melhor se ajustará aos resultados obtidos será determinado com o programa MODELTEST (Posada & Crandall 1998).

Ao final deste trabalho, as sequências obtidas e utilizadas nas análises serão depositadas no GenBank, e as árvores geradas no banco TreeBASE (<http://www.treebase.org>).

7. Equipe

Este projeto será desenvolvido pela doutoranda Alice Gerlach, juntamente com a orientadora Dra. Rosa Mara Borges da Silveira, co-orientador Dr. Phillippe Clerc e em colaboração com a Dra. Camille Truong.

8. Cronograma

Ano	2013									2014											
Atividades/ Meses→	A	M	J	J	A	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Revisão bibliográfica																					
Revisão de herbários																					
Análises morfo-anatômicas e químicas																					
Coleta de material																					
Produção de artigos																					
Obtenção de créditos PPG																					

Ano	2015 (CJB/Suíça)												2016												2017		
Atividades↓/ Meses→	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	J	F	M
Revisão bibliográfica																											
Análises de Tipos																											
Análises moleculares																											
Produção de artigos																											
Redação da tese																											
Qualificação																											
Defesa da Tese																											

9. Viabilidade do projeto

As análises morfológicas e anatômicas serão realizadas em microscópios estereoscópicos e ópticos já existentes no laboratório de Micologia do Depto. de Botânica da UFRGS. Para os testes de coloração serão utilizados reagentes comuns às práticas botânicas, portanto, de fácil manuseio e aquisição. As análises de cromatografia em camada delgada serão realizadas no laboratório de Liquenologia (Universidade Federal do Paraná) que disponibilizará todos os equipamentos e reagentes necessários. Todas as análises moleculares serão efetuadas no Conservatório e Jardim Botânico de Genebra (CJB).

10. Orçamento e Financiamento

Material de consumo	Quantidade	Valor Unitário	Total
Análises moleculares*	100 amostras	R\$ 120,00 por amostra	R\$ 12.000,00
Excursões de coleta	15 diárias	R\$ 184,88**	R\$ 2.773,20
TOTAL			R\$ 14.773,20

* este item incluiu os valores aproximados para os seguintes materiais de consumo ou prestação de serviços para sequenciar 100 amostras: reagentes químicos, solventes, primers, sequenciamento, etc.

** valor diário aproximado para gastos com combustível e, eventualmente, aluguel de veículo.

Este projeto contará parcialmente com recursos do projeto: “Estudos taxonômicos de Agaricomycetes (Basidiomycota, Fungi) na Região Sul do Brasil” aprovado pelo edital MCT/CNPq/MEC/CAPES Nº 52/2010 – PROTAX. Também será utilizado recurso da bolsa de produtividade em pesquisa do CNPq (1D) obtida pela orientadora. Para as despesas de coleta será utilizada a taxa de bancada da bolsa do CNPq obtida pela doutoranda.

Além destes recursos já disponíveis, o projeto será submetido a outros editais de agências de fomento (CNPq, CAPES, FAPERGS), durante o curso de doutorado da aluna.

8. Referências Bibliográficas

- Articus, K. 2004: *Neuropogon* and the phylogeny of *Usnea* s.l. (Parmeliaceae, lichenized Ascomycetes). **Taxon** **53**(4): 925-934.
- Calvelo, S., Stocker-Wörgötter, E., Liberatore, S., Elix, J.A. 2005: *Protousnea* (Parmeliaceae, Ascomycota), a genus endemic to southern South America. **Bryologist** **108**(1): 1-15.
- Clerc, P. 1984. Contribution a` la révision de la systématique des usnées (Ascomycotina, *Usnea*) d'Europe. I. *Usnea florida* (L.) Wigg. emend. Clerc. Cryptogamie, **Bryologie et Lichénologie** **5**: 333–360.
- Clerc, P.. 1987. Systematics of the *Usnea* fragilesceus aggregate, and its distribution in Scandinavia. **Nordic Journal of Botany** **7**: 479–495.
- Clerc, P. 1991. *Usnea madeirensis* Mot. (Ascomycète Lichénisé): une espèce méconnue de L'Europe et de L'Amérique du Nord. **Candollea** **46** (2): 427-438.
- Clerc, P. 1998. Species concepts in the genus *Usnea* (Lichenized Ascomycetes). **Lichenologist** **30**: 321–340.
- Clerc, P. & Herrera Campos, M. A. 1997. Saxicolous species of *Usnea* subgenus *Usnea* (Lichenized Ascomycetes) in North America. **Bryologist** **100**: 281–301.
- Cubero, O.F., Crespo, A., Fatehi, J. & Bridge, P.D. 1999. DNA extraction and PCR amplification method suitable for fresh, herbarium-stored, lichenized, and other fungi. **Plant Systematics and Evolution** **216**: 243–249.
- Culberson, C.F. & Ammann, K. 1979. Standard method zur Dünnschichtchromatographie von Flechtensubstanzen. **Herzogia** **5**: 1-24.
- Döring, H., Clerc, P., Grube, M. & Wedin, M. 2000. Mycobiont-specific PCR Primers for the amplification of nuclear ITS and LSU rDNA from lichenized Ascomycetes. **The Lichenologist** **32**: 200-204.
- Eliasaro, S. 2006. **Checklist of lichens and lichenicolous fungi of Paraná (Brazil)**. Disponível em: <http://www.checklists.de>. Acesso em Agosto de 2012.
- Elix, J. & Ernst-Russell, K.D. 1993. **A catalogue of standardized thin layer chromatographic data and biosynthetic relationships for lichen substances**. Australian National University Canberra.
- Gumboski, E.L. & Eliasaro, S. 2011. Checklist of lichenized fungi of Santa Catarina State (Brazil). **Mycotaxon** **115**: 535.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series** **41**: 95-98.
- Halonen, P.; Clerc, P.; Goward, T.; Brodo, I.M. & Wulff, K. 1998. Synopsis of the Genus *Usnea* (Lichenized Ascomycetes) in British Columbia, Canada. **Bryologist** **101**(1): 36-60.
- Halonen, P., Myllys, L., Ahti, T., & Petrova O. V. 1999. The lichen genus *Usnea* in East Fennoscandia III. The shrubby species. **Ann. Bot. Fennici** **36**: 235-256.

- Krog, H. 1976. *Lethariella* and *Protousnea*, two new lichen genera in Parmeliaceae. **Now. J. Bot.** **23**: 83-106.
- Kroken, S. & Taylor, J. W. 2001. A gene genealogical approach to recognize phylogentic species boundaries in the lichenized fungus *Letharia*. **Mycologia** **93**: 38–53.
- Larkin, M.A., Blackshields, G., Brown, N.P., Chenna, R., McGettigan, P.A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I.M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J.D., Gibson, T.J., Higgins, D.G. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. **Bioinformatics** **23**: 2947-2948.
- Lumbsch, H.T. & Wirtz, N. 2011. Phylogenetic relationships of the neuropogonoid core group in the genus *Usnea* (Ascomycota: Parmeliaceae). **The Lichenologist** **43**(6): 553-559
- Marcelli, M.P. 1998. Hystory and current knowledge of brazilian lichenology. In: Marcelli, M. P. & Seaward, M. R. D. (eds.). **Lichenology in Latin America: Hystory, current knowledge and applications**, p. 25-45. CETESB, São Paulo.
- Marcelli, M.P. 2008. **Checklist of lichens and lichenicolous fungi of Brazil**. Versão 1: maio 2008. http://www.biologie.uni-hamburg.de/checklists/lichens/south-america/brazil_1.htm (acesso em 27. de Agosto de 2012).
- McCune, B. 2000. *Usnea* in the Pacific Northwest. In: McCune, B. & Geiser, L (eds.). **Macrolichens of the Pacific Northwest**. The First Comprehensive Guide to Northwest Macrolichens. OSU Press. United States of América, p.134.
- Molina, M.C., Del-Prado, R., Divakar, P.K., Sánchez-Mata, S. & Crespo, A. 2011. Another example of cryptic diversity in lichen-forming fungi: The new species *Parmelia mayi* (Ascomycota: Parmeliaceae). **Organisms Diversity and Evolution** **11**(5): 331-342.
- Motyka, J. 1936–38. *Lichenum Generis Usnea Studium Monographicum, Pars Systematica*. Leopoldi (privately printed).
- Obermayer, W. 2001. On the identity of *Lethariella sinensis* Wei & Jiang, with new reports of Tibetan *Lethariella* species. **Bibliotheca Lichenologica** **78**: 321–326.
- Ohmura, Y. 2001. Taxonomic study of the genus *Usnea* (lichenized Ascomycetes) in Japan and Taiwan. **Journal of the Hattori Botanical Laboratory** **90**: 1–96.
- Ohmura, Y. 2002. Phylogenetic evaluation of infrageneric groups of the genus *Usnea* based on ITS regions in rDNA. **J. Hattori Bot. Lab.** **91**: 231–243.
- Ohmura, Y., Kawachi, M., Kasai, F. & Watanabe, M.M. 2006. Genetic combinations of symbionts in a vegetatively reproducing lichen, *Parmotrema tinctorum*, based on ITS rDNA sequences. **Bryologist** **109**: 43–59.
- Osorio, H.S. 1977. Contribution to the lichen flora of Brazil III. Lichens from western Paraná. **Acta Biologica Paranaense** **6**: 3-7.
- Osorio, H.S. & Fleig, M. 1989. Contribution to the lichen flora of Brazil. XXII. Lichens from Canela, Rio Grande do Sul State. **Comunicaciones Botanicas de Historia Natural del Museo de Historia Natural de Montevideo** **5** (88): 1-4.
- Piercey-Normore, M.D. & DePriest, P.T. 2001. Algal switching among lichen symbioses. **American Journal of Botany** **88**: 1490–1498.

- Posada, D., Crandall, K.A. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. **Bioinformatics** **14**: 817-818.
- Rizzini, C.T. 1952: Species Organenses generis lichenum *Usneae*. (Omnes acidum usnicum praebentes). **Rev. Brasileira de Biol.** **12(4)**: 337-348.
- Robertson, J. & Piercey-Normore, M.D. 2007. Gene flow in symbionts of *Cladonia arbuscula*. **Lichenologist** **39**: 69–82.
- Rodriguez, J.M. 2011. **El género *Usnea* (Ascomycetes liquenizados) em Argentina: estudio sistemático y biogeográfico**. Tese (Doctorado en Ciencias Exactas, Físicas y Naturales). Universidad Nacional de Córdoba.
- Rodriguez, J.M. & Estrabou, C. 2008. *Usnea amblyoclada* “barba de piedra” (Ascomycetes liquenizados) em Argentina. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botanica** **43**: 221–225.
- Rodriguez J.M., Estrabou, C., Truong, C. & Clerc, P. 2011. The saxicolous species of the genus *Usnea* subgenus *Usnea* (Parmeliaceae) in Argentina and Uruguay. **The Bryologist** **114(3)**: 504–525.
- Ronquist, F. & Huelsenbeck, J.P. 2003. Mr Bayes3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics** **19**: 1572-1574.
- Spielmann, A.A. 2006. Checklist of lichens and lichenicolous fungi of Rio Grande do Sul (Brazil). **Caderno de Pesquisa Série Biologia** **18(2)**: 7-125.
- Stevens, G. N. 2004. Usneaceae. Pages 78–98 & 107–115. In P. M. McCarthy & K. Mallett (eds.), Flora of Australia. Volume 56A, Lichens 4. ABRS/CSIRO Australia, Melbourne, Australia.
- Swinscow, T.D.V. & Krog, H. 1988. Macrolichens of East Africa. London: British Museum (Natural History).
- Swofford, D.L. 2003. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4. Sunderland, Sinauer Associates.
- Taylor, C.J. 1967. **The Lichens of Ohio**. Part I. Foliose Lichens. Biological Notes No. 3, The Ohio Biological Survey, The Ohio State University, Columbus, Ohio. 147 pp.
- Taylor, C.J. 1968. Lichens of Ohio. Part 2. Fruticose and Cladoniform Lichens. Biological Notes No. 4, The Ohio Biological Survey, Ohio State University, Columbus. 153-227 + A1-A22 pp.
- Truong, C. 2012. **Systematics of the lichen genus *Usnea* Adans. (Parmeliaceae, lichenized Ascomycotina) in tropical America**. Tese (Doutorado). Université de Genève.
- Truong, C., Bungartz, F. & Clerc, P. 2011. The lichen genus *Usnea* (Parmeliaceae) in the tropical Andes and the Galapagos: species with a red-orange cortical or subcortical pigmentation. **The Bryologist**, **114(3)**: 477-503.
- Truong, C. & Clerc, P. 2012. The lichen genus *Usnea* (Parmeliaceae) in tropical South America: species with a pigmented medulla, reacting C+ yellow. **The Lichenologist** **44(5)**: 625-637.
- White, T. J., Bruns, T. D., Lee, S. & Taylor, J. 1990. **Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal DNA genes for phylogenies**. In: PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications (M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, & T. J. White, eds): 315–322. San Diego: Academic Press.
- Wirtz, N., Printzen, C., Sancho, L., Lumbsch, H.T. 2006: The phylogeny and classification of *Neuropogon* and *Usnea* (Parmeliaceae, Ascomycota) revisited. **Taxon** **55(2)**: 367-376.

