UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Instituto de Biociências

Amanda da Silva Medeiros

**DIVERSIDADE DE MACROALGAS DA BAÍA DO ALMIRANTADO, ILHA
REI GEORGE, PENÍNSULA ANTÁRTICA, BASEADA EM “DNA
BARCODING” E OUTROS MARCADORES MOLECULARES**

MACROALGAE DIVERSITY OF ADMIRALTY BAY, KING GEORGE ISLAND, ANTARCTIC PENINSULA
BASED ON DNA BARCODING AND OTHER MOLECULAR MARKERS

São Paulo

2013

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Instituto de Biociências

Amanda da Silva Medeiros

**DIVERSIDADE DE MACROALGAS DA BAÍA DO ALMIRANTADO, ILHA
REI GEORGE, PENÍNSULA ANTÁRTICA, BASEADA EM “DNA
BARCODING” E OUTROS MARCADORES MOLECULARES**

MACROALGAE DIVERSITY OF ADMIRALTY BAY, KING GEORGE ISLAND, ANTARCTIC PENINSULA
BASED ON DNA BARCODING AND OTHER MOLECULAR MARKERS

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências da Universidade de São Paulo,
para a obtenção de Título de Mestre em
Ciências, na Área de Botânica.

Orientadora: Profa. Dra. Mariana Cabral de
Oliveira.

São Paulo

2013

Medeiros, Amanda da Silva

1. Diversidade de Macroalgas da Baía do Almirantado, Ilha Rei George, Península Antártica, Baseada em “DNA Barcode” e outros Marcadores Moleculares; Amanda da Silva Medeiros – São Paulo: A.S.M., 2013. p. 115.

Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Botânica, 2013.

1. “DNA barcoding”, 2. UPA, 3. *cox1*, 4. *tufA*, 5. Macroalgas, 6. Antártica.

I. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Botânica, 2013.

MEDEIROS, A. S. Diversidade De Macroalgas Da Baía Do Almirantado, Ilha Rei George, Península Antártica, Baseada Em “DNA Barcoding” E Outros Marcadores Moleculares. Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para a obtenção de Título de Mestre em Ciências, na Área de Botânica.

São Paulo, de setembro de 2013.

Comissão Julgadora:

Prof^a. Dr^a.

Prof^a. Dr^a.

Prof^a. Dr^a. Mariana Cabral de Oliveira
Universidade de São Paulo

*À Edna Vichiatti,
exemplo de força e muita
coragem, pelo carinho e apoio
incondicional.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora Dr^a Mariana Cabral de Oliveira, por aceitar-me como sua orientanda, pela paciência e pelos ensinamentos dados ao longo desses anos.

À minha família: meu pai, Inácio Medeiros, pelo amor, apoio e ajuda em tudo que precisei; meus irmãos, Andréa e André, meus heróis; minha cunhada Cleidemar Oliveira, pelo apoio desde sempre; meu cunhado Marco Antônio; meus lindos sobrinhos Gustavo, Yasmin e Arthur. As coisas ficam mais leves com a força de vocês!

À família Vichiatti: Edna Vichiatti, Murilo Vichiatti e Danielle Vichiatti, por ter me recebido com muito carinho.

Ao professor Eurico Cabral de Oliveira, pela colaboração indispensável para o desenvolvimento deste projeto.

Aos professores Eurico Cabral de Oliveira, Nair Yokoya, Franciane Pelizzari, Therezinha Absher e Mutue T. Fujii, pelas amostras coletadas, sem as quais esse projeto não seria possível e pela disposição em ajudar quando foi necessário.

Agradeço em especial à Daniela Milstein, Monica Takahashi e Valéria Cassano, pelos primeiros ensinamentos no LAM, e a Marisa Ferraz pela amizade e colaboração.

Aos colegas do LAM Fábio Nauer, Cintia Iha, Beatriz Torrano, Talita Vieira, Rafaela Perez, Carolina Franco, Carol Azevedo, Natália Guimarães e Emmanuelle Costa pelo convívio agradável. Em especial à Mari Mungoli pela disponibilidade sempre.

Aos técnicos do LAM Rosário Petti, Willian Oliveira e André, o meu muito obrigado pela disponibilidade e boa vontade.

À CAPES, pelo auxílio financeiro concedido através da bolsa de mestrado. Este projeto foi realizado com financiamento FAPESP (2007/51270-7, Biota) e do CNPq (564945-2010-2, BR-BOL).

Ao prof. Pio Colepicolo, pela incrível oportunidade de coletar na Antártica, ao PROANTAR (SECIRM) e CNPq pelo apoio logístico e financeiro.

RESUMO

Baseado em estudos morfológicos, as macroalgas marinhas da Baía do Almirantado (Ilha Rei George, Península Antártica) estão representadas por 55 táxons, sendo 30 Rhodophyta, 16 Phaeophyceae e 9 Chlorophyta. Recentemente foi proposta a utilização de “DNA barcodes” para uma rápida e acurada identificação de espécies de macroalgas. Sendo a região 5' do gene mitocondrial *cox1* utilizado para identificação de algas vermelhas e pardas; o gene plastidial *tufA* utilizado na identificação de algas verdes; e o domínio V do gene 23S rRNA – UPA, universal plastid amplicon, utilizado na identificação de organismos fotossintetizantes. O objetivo desse trabalho foi obter sequências do tipo “DNA barcodes” e de outros marcadores filogenéticos para a formação do primeiro banco de dados moleculares para as macroalgas da Baía do Almirantado, Antártica. Cerca de 100 espécimes de macroalgas foram coletados, em diversos pontos da baía, durante as OPERANTARes XXV e XXIX, que ocorreram durante dezembro de 2006 a junho de 2007 e dezembro de 2010 a janeiro de 2011, respectivamente. No presente trabalho, foi obtido um total de 209 sequências, cobrindo 29 espécies das 55 citadas para o local, sendo que 157 sequências são para marcadores moleculares do tipo “DNA barcode”, das quais 95 sequências são para o marcador do cloroplasto UPA, 39 sequências para o marcador mitocondrial *cox1* e 23 sequências para o *tufA*. As sequências consenso dos “DNA barcodes” foram submetidas à análise de distância para determinar os agrupamentos genéticos. Após a análise dos agrupamentos obtidos para os “DNA barcodes”, foram selecionados espécimes, representando cada táxon, para o sequenciamento dos marcadores filogenéticos *rbcL*, SSU ou ITS totalizando 52 sequências. Neste estudo, foram obtidos dados moleculares para 8 espécies de Chlorophyta, 9 espécies de Phaeophyceae e 14 espécies de Rhodophyta. Entre as espécies de Chlorophyta, *Prasiola* sp. e *Protomonostroma rosulatum* (citada anteriormente como *P. undulatum*), de Phaeophyceae *Chordaria linearis* e as Rhodophyta *Acanthococcus antarcticus*, *Plumariopsis peninsularis* e *Callophyllis* sp. (citada anteriormente como *Callophyllis atosanguinea*) são novas citações para a Baía do Almirantado. Sendo que a espécie *Callophyllis* sp. é possivelmente uma nova espécie. Outras duas espécies previamente citadas, baseado nos resultados moleculares, não ocorrem no local, *Desmarestia chordalis* e *Pyropia woolhousiae*. Com os resultados obtidos neste trabalho o número de espécies que ocorrem na Baía do Almirantado passa a 57 táxons.

Palavras-chave: “DNA barcoding”, UPA, *cox1*, *tufA*, Macroalgas, Antártica

ABSTRACT

Based on morphological studies, the marine macroalgae of Admiralty Bay (King George Island , Antarctic Peninsula) are represented by 55 taxa: 30 Rhodophyta, 16 Phaeophyceae and 9 Chlorophyta. It was recently proposed the use of DNA barcodes for quick and accurate identification of seaweeds. The 5' end region of mitochondrial *cox1* gene is used to identify brown and red algae, the plastid gene *tufA* is used in identifying green algae, and the V domain of the 23S rRNA gene - UPA universal plastid amplicon is used to identify photosynthetic organisms in general. The aim of this study was to obtain sequences of DNA barcodes and other phylogenetic markers for the formation of the first molecular database for macroalgae of Admiralty Bay, Antarctica. About 100 specimens of macroalgae were collected at various points of the bay during the OPERANTARs XXV and XXIX , which occurred during December 2006 to June 2007 and December 2010 and January 2011 respectively. In this study, we obtained a total of 209 sequences, covering 29 of the 55 species cited for the site. Of those 157 sequences are DNA barcodes, of which 95 are for the marker sequences of chloroplast UPA, 39 sequences for the mitochondrial marker *cox1* and 23 sequences for the *tufA*. The consensus sequences of the DNA barcodes were subjected to distance analysis to determine the genetic groupings. After analyzing the clusters obtained for the DNA barcodes, specimens representing each taxon were selected to the sequencing of phylogenetic markers *rbcL*, SSU and/or ITS sequences totaling 52 sequences for those markers. In this study, molecular data were obtained for 8 species of Chlorophyta , 9 species of Phaeophyceae and 14 species of Rhodophyta. Among the Chlorophyta species, *Prasiola* sp. and *Protomonostroma rosulatum* (previously cited as *P. undulatum*), the Phaeophyceae *Chordaria linearis* and the Rhodophyta *Acanthococcus antarcticus*, *Plumariopsis peninsularis* and *Callophyllis* sp. (previously cited as *Callophyllis atrosanguinea*) are new records for the Admiralty Bay. And the species *Callophyllis* sp. is possibly a new species. Other two species previously mentioned, based on molecular results, *Desmarestia chordalis* and *Pyropia woolhousiae* do not occur at the site. With the results obtained in this work the number of species that occur in Admiralty Bay are of 57 taxa.

Key-words: DNA barcoding, UPA, *cox1*, *tufA*, macroalgae, Antarctic

LISTA DE ABREVIATURAS

BLAST:	Basic Local Alignment Search Tool
BOLD:	Barcode of life Database systems
<i>cox1</i> :	gene que codifica para a subunidade I da enzima citocromo c oxidase
DNA:	Ácido desoxirribonucléico
dNTP:	Desoxirribonucleotídeos fosfatados
EACF:	Estação Antártica Comandante Ferraz
Indel:	inserção/deleção
ITS:	“Internal Transcribed Spacer” ou espaçador transcrito interno
PCR:	Reação em cadeia da polimerase
rRNA:	RNA ribossomal
Kb:	kilo base (1 Kb = 1000 nucleotídeos)
LAMPJ:	Laboratório de Algas Marinhas Edison José de Paula
NJ:	Neighbor-Joining
OPERANTAR:	Operação Antártica
pb:	Pares de bases nucleotídicas
<i>rbcl</i> :	gene que codifica para a subunidade grande da Rubisco
SSU rDNA:	gene que codifica para o RNA da subunidade pequena do ribossomo
<i>tufA</i> :	gene plastidial que codifica para o fator de elongação Tu (EF-Tu)
UPA:	“Universal Plastid Amplicon”, domínio V do gene 23S rRNA

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mapas da Ilha Rei George em relação à Península Antártica e localização da Baía do Almirantado na Ilha Rei George	20
Figura 2: Esquema representativo dos marcadores moleculares mais utilizados no estudo das algas	21
Figura 3: Esquema representativo dos marcadores moleculares utilizados como “DNA barcodes” nas algas e tamanho (pb) aproximado das regiões amplificadas	25
Figura 4: Mapa representando a Baía do Almirantado incluindo a ASPA 128 (Área Antártica Especialmente Protegida)	29
Figura 5: Análise de NJ para as sequências do marcador UPA, mostrando o agrupamento de espécies de macroalgas de Rhodophyta, Phaeophyceae e Chlorophyta que ocorrem na Baía do Almirantado	53
Figura 6: Análise de NJ baseada nas sequências do marcador <i>cox1</i> , mostrando o agrupamento de espécies de macroalgas de Rhodophyta e Phaeophyceae que ocorrem na Baía do Almirantado	57
Figura 7: Análise de NJ para as sequências do marcador <i>tufA</i> , mostrando o agrupamento de espécies de macroalgas Chlorophyta que ocorrem na Baía do Almirantado	60
Figura 8: Análise de NJ baseada nas sequências do marcador ITS, mostrando o agrupamento de espécies de Chlorophyta monostromáticas da Baía do Almirantado	64
Figura 9: Análise de Neighbor Joining baseada nas sequências da região espaçadora ITS2, mostrando o agrupamento de espécies de Desmarestiales que ocorrem na Baía do Almirantado	66
Figura 10: Análise de Neighbor Joining baseada nas sequências de <i>rbcL</i> , mostrando o agrupamento de espécies de Rhodophyta que ocorrem na Baía do Almirantado	68
Figura 11: Análise de Neighbor Joining baseada nas sequências de SSU, mostrando o agrupamento de espécies de Rhodophyta e Phaeophyceae que ocorrem na Baía do Almirantado	71
Figura 12: Aspecto geral de <i>Prasiola crispa</i>	75
Figura 13: Aspecto geral de <i>Monostroma hariatii</i>	76
Figura 14: Aspecto geral de <i>Monostroma grevillei</i>	76
Figura 15: Aspecto geral de <i>Acrosiphonia arcta</i>	77
Figura 16: Aspecto geral de <i>Protomonostroma rosulatum</i>	78
Figura 17: Aspecto geral de <i>Urospora penicilliformis</i>	79
Figura 18: Aspecto geral de <i>Ulva bulbosa</i>	80
Figura 19: Aspecto geral de <i>Ascoseira mirabilis</i>	81

Figura 20: Aspecto geral de <i>Desmarestia anceps</i>	83
Figura 21: Aspecto geral de <i>Desmarestia antarctica</i>	83
Figura 22: Aspecto geral de <i>Desmarestia menziesii</i>	83
Figura 23: Aspecto geral de <i>Himantothallus grandifolius</i>	84
Figura 24: Aspecto geral de <i>Phaeurus antarcticus</i>	85
Figura 25: Aspecto geral de <i>Adenocystis utricularis</i>	86
Figura 26: Aspecto geral de <i>Chordaria linearis</i>	87
Figura 27: Aspecto geral de <i>Cystosphaera jacquinotii</i>	88
Figura 28: Aspecto geral de <i>Pyropia endivifolia</i>	89
Figura 29: <i>Wildemania plocamiestris</i> , epifitando <i>Desmarestia</i> sp.	89
Figura 30: Aspecto geral de <i>Georgiella confluens</i>	90
Figura 31: Aspecto geral de <i>Plumariopsis peninsularis</i>	91
Figura 32: Aspecto geral de <i>Myriogramme manginii</i>	92
Figura 33: Àpice visto em lupa da espécie <i>Acanthococcus antartcticus</i>	93
Figura 34: Aspecto geral de <i>Callophyllis</i> sp.	94
Figura 35: Aspecto geral de <i>Gigartina skottsbergii</i>	95
Figura 36: Aspecto geral de <i>Iridaea cordata</i>	96
Figura 37: Aspecto geral de <i>Gymnogongrus antarcticus</i>	97
Figura 38: Aspecto geral de <i>Curdiea racovitzae</i>	98
Figura 39: Aspecto geral de <i>Palmaria decipiens</i>	99
Figura 40: Aspecto geral de <i>Plocamium aff cartilagineum</i>	100

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Nível de endemismo dos táxons de macroalgas da Antártica	16
Tabela 2: Espécies de macroalgas que foram citadas para a Baía do Almirantado baseados em dados morfológicos	18
Tabela 3: Informações de coleta das espécies de Chlorophyta, Phaeophyceae e Rhodophyta, coletadas na Baía do Almirantado - Ilha Rei George, Península Antártica	30
Tabela 4: “Primers” utilizados na amplificação e sequenciamento dos marcadores moleculares do cloroplasto <i>rbcL</i> , UPA, <i>tufA</i> , mitocondrial <i>cox1</i> e nucleares ITS e SSU rDNA	37
Tabela 5: Informações sobre as matrizes geradas para as análises de agrupamento.....	40
Tabela 6: Sequências dos marcadores UPA, <i>cox1</i> , <i>tufA</i> , <i>rbcL</i> , ITS e SSU obtidas do GenBank utilizadas nas análises	41
Tabela 7: Espécimes de Rhodophyta, Phaeophyceae e Chlorophyta analisados, com indicação do número de identificação no BOLD e indicação dos marcadores moleculares obtidos neste estudo.....	46
Tabela 8: Divergência intergenérica/interespecíficas e intraespecífica em % e pares de bases (pb) para os marcadores <i>cox1</i> , UPA e <i>tufA</i> entre as amostras sequenciadas neste estudo	62
Tabela 9: Espécies de macroalgas que foram citadas para a Baía do Almirantado (ver Tabela 2 para referências), indicando as que foram sequenciadas neste trabalho	73

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	14
1.1.	O ambiente antártico	14
1.2.	O conhecimento ficológico na Antártica	15
1.3.	Local de estudo	20
1.4.	Marcadores moleculares	21
1.5.	“DNA barcoding”	22
2.	OBJETIVOS	27
3.	MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1.	Material biológico	28
3.2.	Extração de DNA	35
3.3.	Amplificação por PCR	35
3.4.	Sequenciamento de DNA e montagem da sequência consenso	38
3.5.	Análises de agrupamento	39
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1.	Análises para os marcadores de “DNA Barcoding”	48
4.1.1.	UPA	48
4.1.2.	<i>cox1</i>	54
4.1.3.	<i>tufA</i>	58
4.2.	Divergência intraespecífica e intergenérica para os “DNA barcodes”	60
4.3.	Análises para os marcadores filogenéticos	63
4.3.1.	ITS – Chlorophyta	63
4.3.2.	ITS – Phaeophyceae	65
4.3.3.	<i>rbcL</i> – Rhodophyta	66
4.3.4.	SSU – Phaeophyceae e Rhodophyta	69
4.4.	Guia das espécies para as quais foram obtidos marcadores moleculares	75
4.4.1.	Chlorophyta	75
4.4.2.	Phaeophyceae	81
4.4.3.	Rhodophyta	89
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	102
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	105
	ANEXOS: Alinhamentos das sequências obtidas neste estudo	116

1. INTRODUÇÃO

1.1. O ambiente antártico

Isolada dos demais continentes pela distância e por correntes oceanográficas, principalmente pela Corrente Circumpolar Antártica (BARKER & THOMAS 2003), a Antártica é um ambiente que se caracteriza por extremos de clima, o que torna seus habitats e aspectos biogeográficos bastante particulares. Nos ecossistemas antárticos podem ocorrer grandes variações de temperatura e salinidade, alta incidência de radiação ultravioleta alternada com longos períodos de ausência de luz, mudanças climáticas acentuadas e descontínuas, além dos ciclos de congelamento e degelo, que influenciam a distribuição das massas de água no oceano Austral e geram alterações locais no clima (CLARKE *et al.*, 2005; VINCENT, 2000; WYNN-WILLIAMS, 1996).

As águas do oceano Austral são caracterizadas principalmente por temperaturas baixas e pela ocorrência de longos períodos de cobertura de gelo nas regiões costeiras. A sazonalidade de irradiação, tanto em quantidade quanto em fotoperíodo, bem como a cobertura de gelo, exercem forte efeito sobre as comunidades do supra, meso e infralitoral.

Dentre os parâmetros que mais impactam a biota antártica destaca-se o gelo (HEMPEL, 1987; DREW & HASTINGS, 1992). A alternância de ciclos anuais com e sem gelo impacta de várias maneiras o ambiente físico e consequentemente, afeta drasticamente a biota local como um todo. Seus efeitos são mais óbvios na zona das marés e infralitoral superior devido à ação física do deslocamento de blocos de gelo que remove toda a cobertura de organismos sésseis, algas e animais. A formação de gelo, bem como seu derretimento no verão, alteram significativamente a salinidade e a penetração de luz, expondo os organismos bentônicos a valores extremos desses parâmetros. Mesmo assim, o oceano Antártico é conhecido por conter áreas muito ricas em biomassa de invertebrados bentônicos em comparação com outras regiões do mundo. Desde os primeiros trabalhos realizados na região vêm sendo

demonstradas as elevadas densidades e a relativamente alta diversidade das comunidades bentônicas (CLARKE, 1990).

Os fundos consolidados na Antártica abrigam comunidades de macroalgas que, pela sua diversidade e biomassa, desempenham um papel fundamental nos ecossistemas costeiros contribuindo para a produção primária e servindo de habitat e fonte de alimento para uma variedade de espécies da fauna marinha, em especial peixes (e.g. “rockfish” - *Notothenia coriiceps*), equinodermas (e.g. *Odontaster validus* e *Sterechinus newmayeri*) e anfípodas (e.g. *Gondogenia antartica*) (NEDZAREK & RAKUSA-SUSZCZEWSKI, 2004).

1.2. O conhecimento ficológico na Antártica

Os primeiros estudos documentados de algas na Antártica começaram ainda no século XIX, com base no material coletado pelas expedições de Gaudichaud e Hooker durante o cruzeiro das corvetas Uranie e Physicienne. Os estudos continuaram no século XX, com os trabalhos de Gain (1912), Skottsberg (1907, 1921, 1923) e Kylin (1919 *apud* WIENCKE & CLAYTON, 2002). Desde então, vários artigos tratando da biogeografia e da taxonomia das macroalgas da região antártica e subantártica foram publicados, culminando então no catálogo publicado por Papenfuss (1964) e nos trabalhos de Lamb & Zimmermann (1977) e Ricker (1987). Mais recentemente, Wiencke & Clayton (2002) publicaram uma nova síntese descrevendo e ilustrando as espécies mais comuns na Antártica até o momento.

Devido à distância dos centros de pesquisa e às condições climáticas extremas, a coleta de espécimes marinhos na Antártica é cara e muito difícil. Em consequência, o conhecimento da flora ficológica ainda deixa muito a desejar. Estas dificuldades explicam porque a quase totalidade dos registros de macroalgas da Antártica foram feitos com base em espécimes dragados ou que estavam à deriva, sem, portanto, a segurança do local preciso de ocorrência da espécie. Além disso, é perfeitamente compreensível que as coletas tenham se concentrado nos locais mais acessíveis em torno das bases científicas. Isto permite supor que muitas espécies ainda estão por serem descritas e catalogadas (CLAYTON *et al.*, 1997; WIENCK & CLAYTON, 2002).

É conhecido que a flora ficológica presente na Antártica apresenta baixa riqueza de espécies em comparação com a flora de regiões temperadas e tropicais, principalmente devido às suas condições extremas. Por outro lado, o longo isolamento geográfico e as elevadas pressões seletivas, dadas às condições climáticas, justificam o alto grau de endemismo, que chega a 33% no caso das macroalgas marinhas (CLAYTON, 1994), como mostrado na Tabela 1.

De acordo com Skottsberg (1964 *apud* WIENCKE & CLAYTON, 2002), o continente antártico abrigaria 96 espécies de macroalgas, sendo 16 Chlorophyta, 19 Phaeophyceae e 61 Rhodophyta. Em revisões mais recentes, Wiencke & Clayton, 2002; Wulff *et al.* 2011, o número de espécies varia de 120 a 130.

A falta de informações taxonômicas precisas dificulta estudos consistentes sobre a biodiversidade local, bem como estudos sobre a distribuição geográfica das espécies.

Tabela 1. Nível de endemismo dos táxons de macroalgas da Antártica (WIENCKE & CLAYTON, 2002).

Táxons	Nº de espécies	Nº sp. endêmicas	% de endemismo
Rhodophyta	75	24	32
Phaeophyceae	27	12	44
Chlorophyta	17	3	18
Total	>119	39	33

Dentre as Phaeophyceae, a ordem Desmarestiales é a que apresenta a maior proporção de espécies endêmicas (cinco espécies), seguida por Ceramiales e Gigartinales (Rhodophyta). Também é notável a abundância de Desmarestiales dominando os habitats do sublitoral da Península Antártica e ilhas adjacentes, tais como a Ilha Rei George, incluindo a maior alga marinha antártica, *Himantothallus grandifolius* (A Gepp & ES Gepp) Zinova que pode atingir uma dezena de metros de comprimento (LAMB & ZIMMERMANN, 1977; ZIELINSKI, 1990; WIENCKE & CLAYTON, 2002).

Como resultado do forte efeito da Corrente Circumpolar Antártica sobre a dispersão de propágulos de algas (LÜNING, 1990), muitas espécies têm distribuição

circumpolar, porém algumas também podem ocorrer em ilhas subantárticas e na Terra do Fogo (extremo sul da América do Sul), como as espécies *Iridaea cordata* (Turner) Bory de Saint-Vincent (Rhodophyta), *Geminocarpus geminatus* (Hooker & Harvey) Skottsberg (Phaeophyceae) e *Monostroma hariatii* Gain (Chlorophyta). Espécies como *Ballia callitricha* (C. Agardh) Kützinger (Rhodophyta) e *Adenocystis utricularis* (Bory de Saint-Vincent) Skottsberg (Phaeophyceae) ocorrem também em regiões temperadas como Nova Zelândia e Austrália (WIENCKE & CLAYTON, 2002). Um paralelo semelhante entre a Antártica e a região temperada fria da América do Sul também foi registrado para invertebrados marinhos (CLARKE *et al.*, 2005).

Cerca de 90% das espécies de macroalgas conhecidas até agora se encontram na região oeste da Antártica, incluindo a Península Antártica, Ilhas Shetlands do Sul e Ilhas Orkey do Sul, sendo que a riqueza de espécies diminui drasticamente no sentido leste e em elevadas latitudes (WIENCKE & CLAYTON, 2002; WIENCKE *et al.*, 2007).

Pelo menos 20 espécies de algas da Antártica são consideradas cosmopolitas, como por exemplo a alga vermelha *Plocamium cartilagineum* (Linnaeus) P. S. Dixon, a alga parda *Pylaiella littoralis* (Linnaeus) Kjellman e a alga verde *Ulothrix flacca* (Dillwyn) Thuret (PAPENFUSS, 1964). Segundo Clayton *et al.* (1997), é possível que algumas dessas espécies possam ser invasoras a partir de regiões temperadas.

Poucas algas antárticas têm distribuição bipolar, ou seja, ocorrem também na região do Ártico e Subártico, como a alga verde *Acrosiphonia arcta* (Dillwyn) J. Agardh. Estudos do espaçador interno transcrito (ITS) entre populações de ambos os polos indicaram um alto grau de similaridade, mostrando uma separação recente dessas populações (VAN OPPEN *et al.*, 1993).

No que diz respeito a pesquisas feitas por brasileiros sobre as algas da Antártica, os estudos são ainda muito limitados apesar dos 29 anos de existência da base de pesquisa brasileira na região (PEDRINI, 1992; MONTONE *et al.*, 2001; OLIVEIRA *et al.*, 2009).

A Península Antártica e as Ilhas Shetlands do Sul, segundo Pedrini (1992), possuem 82 espécies de macroalgas, sendo que na Baía do Almirantado, onde se localiza a Estação Antártica Brasileira Comandante Ferraz (EACF), as macroalgas

estão representadas por 55 táxons (ZIELINSKI, 1981; ZIELINSKI, 1990; OLIVEIRA *et al.*, 2009).

As primeiras listagens das macroalgas que ocorrem na Baía do Almirantado (Tab. 2) foram publicadas por Zielinski (1981; 1990). Mais recentemente, Oliveira *et al.* (2009) publicaram um trabalho sobre a flora da referida baía, aumentando substancialmente a lista de espécies conhecidas. Os três estudos foram baseados em análises morfológicas.

Segundo Oliveira *et al.* (2009), as espécies de algas mais conspícuas da Baía do Almirantado em biomassa são, respectivamente: *Palmaria decipiens* (Reinsch) RW Ricker (Rhodophyta), *Desmarestia spp.* (Phaeophyceae) e *Protomonostroma undulatum* (Wittrock) KL Vinogradova (Chlorophyta), sendo que *Palmaria decipiens* representa a alga mais abundante desta região, com 97% de biomassa seca com base em uma amostragem realizada em frente à base brasileira.

Tabela 2: Espécies de macroalgas que foram citadas para a Baía do Almirantado com base em dados morfológicos. + / - indica, respectivamente, a presença ou ausência da espécie no referido trabalho.

Espécies	Referências		
	Zielinski 1981	Zielinski 1990	Oliveira <i>et al.</i> 2009
CHLOROPHYTA			
<i>Acrosiphonia arcta</i> (Dillwyn) Gain	-	-	+
<i>Enteromorpha bulbosa</i> (Suhr) Montagne	-	-	+
<i>Enteromorpha sp.</i>	-	+	-
<i>Monostroma hariotii</i> Gain	+	+	+
<i>Prasiola crispa</i> (Lightfoot) Kützinger	-	+	+
<i>Protomonostroma undulatum</i> (Wittrock) KL Vinogradova	-	-	+
<i>Ulothrix australis</i> Gain	-	-	+
<i>Ulothrix sp.</i>	-	+	-
<i>Urospora penicilliformis</i> (Roth) Areschoug	-	+	+
PHAEOPHYCEAE			
<i>Adenocystis utricularis</i> (Bory de Saint-Vincent) Skottsberg	+	+	+
<i>Ascoseira mirabilis</i> Skottsberg	+	+	+
<i>Cystosphaera jacquinotii</i> (Montagne) Skottsberg	+	+	+
<i>Desmarestia anceps</i> Montagne	-	+	+
<i>Desmarestia antarctica</i> RL Moe & PC Silva	-	-	+
<i>Desmarestia chordalis</i> Hooker & Harvey	-	-	+
<i>Desmarestia ligulata</i> (Lightfoot) Lamouroux	-	+	-

<i>Desmarestia menziesii</i> J Agardh	+	+	+
<i>Desmarestia</i> sp.	+	-	-
<i>Elachista antarctica</i> Skottsberg	-	-	+
<i>Geminocarpus austrogeorgiae</i> Skottsberg	-	+	+
<i>Geminocarpus geminatus</i> (Hooker & Harvey) Skottsberg	-	-	+
<i>Haplogloia moniliformis</i> RW Ricker	-	-	+
<i>Himantothallus grandifolius</i> (A & E Gepp) Zinova	+	+	+
<i>Phaeurus antarcticus</i> Skottsberg	-	+	+
<i>Pylaiella littoralis</i> (Linnaeus) Kjellman	-	+	+
RHODOPHYTA			
<i>Ballia callitricha</i> (C Agardh) Kützing	-	+	+
<i>Callophyllis atrosanguinea</i> (Hooker & Harvey) Hariot	-	-	+
<i>Curdiea racovitzae</i> Hariot in De Wildeman	-	+	+
<i>Delesseria lancifolia</i> (Hooker) J Agardh	-	+	+
<i>Delesseria salicifolia</i> Reinsch	-	+	-
<i>Delisea pulchra</i> (Greville) Montagne	-	-	+
<i>Georgiella confluens</i> (Reinsch) Kylin	-	+	+
<i>Gigartina skottsbergii</i> Setchell & NL Gardner	-	+	+
<i>Gymnogongrus antarcticus</i> Skottsberg	-	-	+
<i>Gymnogongrus turquetii</i> Hariot	-	-	+
<i>Hildenbrandia lecannellieri</i> Hariot	+	-	+
<i>Hymenocladopsis crustigena</i> Moe	-	+	-
<i>Iridaea cordata</i> (Turner) Bory de Saint-Vincent	+	+	+
<i>Leptosarca simplex</i> A Gepp & ES Gepp	+	+	-
<i>Myriogramme manginii</i> (Gain)	-	+	-
<i>Neuroglossum ligulatum</i> (Reinsch) Skottsberg	-	-	+
<i>Notophycus fimbriatus</i> RL Moe	-	-	+
<i>Pachymenia orbicularis</i> (Zanardini) Setchell & NL Gardner	-	-	+
<i>Palmaria decipiens</i> (Reinsch) RW Ricker	-	-	+
<i>Pantoneura plocamioides</i> Kylin	-	+	-
<i>Phycodrys Antarctica</i> (Skottsberg) Skottsberg	+	+	-
<i>Phyllophora ahnfetioides</i> Skottsberg	-	+	-
<i>Piconiella plumosa</i> (Kylin) J De Toni	-	+	+
<i>Plocamium aff. cartilagineum</i> (Linnaeus) PS Dixon	-	+	+
<i>Plocamium aff. secundatum</i> (Kützing) Kützing	-	-	+
<i>Plocamium coccineum</i> Hariot	+	-	-
<i>Porphyra endiviifolia</i> (A Gepp & E Gepp) HG Choi & MS Hwang	-	+	+
<i>Porphyra plocamiestris</i> RW Ricker	-	-	+
<i>Porphyra woolhousiae</i> Harvey	-	-	+
<i>Sarcodia antarctica</i> (Hariot) Moe	-	+	-
TOTAL	12	32	42

1.3. Local de estudo

Localizada na Ilha Rei George (Ilhas Shetlands do Sul, Península Antártica), a Baía do Almirantado é a maior baía da ilha, com uma área de aproximadamente 131 km² (Fig. 1). Além da Estação brasileira Comandante Ferraz, abriga também as estações de pesquisa da Polônia e Peru, além dos refúgios dos EUA e Equador. A baía é rica em pequenas enseadas com região entremarés e infralitoral raso onde predominam substratos rochosos, que podem representar área de recrutamento e concentração de biomassa algal, com um o regime de marés e ventos que propiciam o transporte de propágulos e interação com as águas do Estreito de Bransfield. Nessa região, as algas marinhas cobrem cerca de 30% do fundo, com valor estimado em 74.000 toneladas de biomassa seca (ZIELINSKI, 1990; NEDZAREK & RAKUSA-SUSZCZEWSKI, 2004; RAKUSA-SUSZCZEWSKI, 1980; OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Figura 1: Mapas da Ilha Rei George (marcada em vermelho) em relação à Península Antártica e localização da Baía do Almirantado na Ilha Rei George (DANI *et al.*, 2005).

1.4. Marcadores moleculares

A partir da década de 1980, tem-se utilizado cada vez mais ferramentas moleculares para auxiliar a identificação e a resolução de problemas taxonômicos. Desde então, técnicas moleculares foram adotadas nos estudos das algas e utilizadas em conjunto com estudos morfológicos e de cultura, possibilitando uma distinção mais objetiva de espécies e avanços no entendimento de suas relações filogenéticas (ROBBA *et al.*, 2006).

O rápido desenvolvimento de tecnologias computacionais e de sequenciamento de DNA resultou na maior fonte de dados para a compreensão e para o avanço no entendimento das relações genéticas e evolutivas em estudos de biodiversidade e das interrelações dos diversos grupos de organismos (HAJIBABAEI *et al.*, 2007).

No estudo das algas, diferentes regiões têm sido utilizadas como marcadores moleculares (Fig. 2), principalmente os genes nucleares que codificam os RNAs ribossomais (rRNA) (“small subunit rRNA gene” - SSU rDNA e “large subunit rRNA gene” - LSU rDNA) e os espaçadores dos genes ribossomais (“internal transcribed spacers” - ITS) (TAI *et al.*, 2001; ROSS *et al.*, 2003); o gene do cloroplasto *rbcL* que codifica para a subunidade grande da enzima ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase-oxigenase (Rubisco) (HUGHEY *et al.*, 2001); e a região espaçadora dos genes mitocondriais para a citocromo oxidase subunidades 2 e 3, *cox2-3* (ZUCCARELLO *et al.*, 1999).

Figura 2: Esquema representativo dos marcadores moleculares mais utilizados no estudo das algas. Genes codificadores de proteínas estão indicados como setas e os ribossomais como retângulos. As setas vermelhas indicam a localização dos “primers” utilizados para “Polymerase Chain Reaction” (PCR). ITS- espaçador interno transcrito; SSU - SSU rDNA; 5.8S - 5.8S rDNA; LSU- LSU rDNA.

1.5. “DNA barcoding”

Em 2003, na tentativa de padronizar o marcador molecular utilizado na identificação de espécies, Paul Herbert propôs a utilização da região 5' do gene mitocondrial *cox1*, que codifica para a subunidade I da enzima citocromo c oxidase, como padrão “universal” para identificação das espécies em animais. Essa proposta de se utilizar marcadores moleculares curtos e padronizados para a identificação de espécies ficou conhecida como a técnica de “DNA barcoding”, em analogia ao sistema de código de barras usado em produtos manufaturados (STOECKLE, 2003).

Muitos marcadores moleculares têm sido utilizados na sistemática; entretanto, a técnica de “DNA barcoding” pede um padrão global, que permita a comparação entre todos os seres vivos submetidos à técnica. Diversos marcadores moleculares foram propostos como “DNA barcode” para diferentes filos. Porém, a região 5' do gene mitocondrial *cox1* foi escolhida como o principal marcador para “DNA barcoding” para a maioria dos grupos (HAJIBABAEI *et al.*, 2007) por ser um segmento de DNA relativamente curto (~710 pb) mas que se mostra informativo para identificação de espécies.

A escolha da região 5' do *cox1* foi baseada em duas importantes vantagens relacionadas ao gene: a existência de “primers” universais muito robustos para amplificação de sua região 5' em animais (FOLMER *et al.*, 1994; ZHANG & HEWITT 1997) e a sua distribuição em um amplo espectro filogenético. Além disso, em relação a outros genes codificantes de proteínas, o *cox1* possui uma alta taxa de substituição na terceira base do códon, o que leva a uma taxa de evolução molecular até três vezes maior do que outros genes mitocondriais, como 12S ou 16S rDNA (KNOWLTON & WEIGT, 1998). O gene também é predominantemente de herança haplóide, raramente contém íntrons que podem complicar a amplificação usando a técnica de PCR e apresenta poucos eventos de inserção/deleção (“indels”) (HERBERT *et al.*, 2003; STOECKLE, 2003; SAUNDERS, 2005). No entanto, diferentes marcadores ou protocolos podem ser necessários em certos grupos taxonômicos, mas aparentemente não existem barreiras para a aplicação dessa metodologia em nenhum grupo de ser vivo (HERBERT *et al.*, 2003; DE SALLE *et al.*, 2005; SAUNDERS, 2005).

A técnica de “DNA barcoding” é baseada na amplificação por PCR de um seguimento de DNA relativamente curto (~400-700 pb) que pode ser inteiramente sequenciado com os mesmos dois “primers” usados na PCR (Fig. 3), gerando uma sequência que deverá ser comparada com outras previamente depositadas em um banco de dados. Portanto, a identificação precisa das espécies depende de um banco de dados acurado, que seja confiável para comparação entre as espécies. Um banco especializado em armazenar especificamente sequências do tipo “DNA barcode” que vem sendo utilizado pela maioria dos pesquisadores é o BOLD (Barcode of Life Data System¹), no qual podem ser depositadas informações de coleta (local, coletor, data), fotos dos espécimes, voucher e a instituição onde está depositado, dados taxonômicos, informações moleculares (cromatogramas das sequências) e quais “primers” foram utilizados. Além disso, ainda é possível realizar análises através da comparação das sequências (RATNASINGHAM & HEBERT, 2007).

Saunders (2005), baseando-se no fato de que a técnica “DNA barcoding” proposta por Herbert *et al.* (2003) para os animais foi indicada para resolver problemas como plasticidade fenotípica, espécies crípticas e diferenças morfológicas nos estágios de vida, e no fato de que todos esses problemas também são observados em algas, de uma forma geral, publicou um trabalho usando a região 5’ do *cox1* em Rhodophyta. Nesse trabalho, cobrindo 15 famílias em seis ordens e um total de 250 indivíduos, o autor verificou que esse marcador fornece uma resolução ao grau de espécie entre a maioria dos grupos testados. Embora a região possa ser de difícil amplificação para alguns táxons, outros trabalhos incluindo outras linhagens de algas corroboram o uso do *cox1* como “barcode” nas algas — por exemplo: Rhodophyta (SAUNDERS, 2005; ROBBA *et al.*, 2006; LE GALL & SAUNDERS, 2010; COSTA *et al.*, 2012; MILSTEIN *et al.*, 2011), Phaeophyceae (LANE *et al.*, 2007; MCDEVIT & SAUNDERS, 2009) e algumas diatomáceas (EVANS *et al.*, 2007; MONIZ & KACZMARSKA, 2009).

Entretanto, para plantas vasculares, assim como para as algas verdes, este marcador se mostrou pouco variável (CHASE *et al.*, 2007). A dificuldade de amplificação devido à falta de primers específicos e à presença de vários íntrons

¹ BOLD: <http://www.boldsystems.org/>

nesse gene — por exemplo, cinco em *Chaetosphaeridium* (TURMEL *et al.*, 2002) — inviabilizou o uso desse marcador como “DNA barcode” em algas verdes (SAUNDERS & KUCERA 2010; HALL *et al.*, 2010). Como alternativa, parte do gene *tufA* (~800 pb) foi indicado como melhor marcador para a utilização como “DNA barcode” em algas verdes, exceto para Cladophoraceae (SAUNDERS & KUCERA, 2010).

O gene *tufA* no genoma do cloroplasto codifica o fator de elongação Tu (EF-Tu), essencial na síntese de proteínas plastidiais, e vem sendo utilizado em diversos estudos filogenéticos e de identificação de espécies de algas verdes (FAMA *et al.*, 2002; O’ KELLY *et al.*, 2004; ZUCCARELLO *et al.*, 2009). No estudo realizado por Saunders & Kucera (2010), este marcador, dentre os marcadores testados, foi o que apresentou maior universalidade, melhor qualidade de sequências e maior precisão na separação das espécies, apresentando maiores valores de divergências intra e interespecíficas.

Além do *cox1* e *tufA*, uma região (Domínio V) de aproximadamente 400 pb, parte do gene 23S do cloroplasto, que codifica o RNA da subunidade grande do ribossomo (23S RNAr), também conhecida como “universal plastid amplicon – UPA” (PRESTING, 2006; SHERWOOD & PRESTING, 2007; SHERWOOD *et al.*, 2010), tem sido testada como “DNA barcode” de organismos fotossintetizantes.

Ao contrário do *cox1*, que pode possuir variação de nucleotídeos na região dos “primers”, sendo necessários “primers” específicos para a maioria das linhagens (KUCERA & SAUNDERS, 2008; SAUNDERS, 2008), a região do UPA é flanqueada por sequências conservadas que podem ser usadas como “primers” universais (PRESTING, 2006), permitindo a amplificação de um grande número de espécies de diferentes linhagens fotossintetizantes, utilizando um único par de “primers” (SHERWOOD & PRESTING, 2007).

Sherwood & Presting (2007) usaram o UPA para diferentes linhagens, incluindo 62 algas vermelhas, 19 algas verdes, 14 algas pardas, 8 cianobactérias, e mostraram que essa região apresentou níveis de divergências adequados para a separação das espécies. Entretanto, esta região gênica não tem sido amplamente utilizada e investigações recentes sugeriram que é menos variável do que outros marcadores; assim, mais estudos são necessários para sua validação como “DNA barcode” (SHERWOOD *et al.*, 2008; CLARKSTON & SAUNDERS, 2010).

O sistema de “DNA barcoding” permite a identificação de espécies de forma consistente e rápida, independentemente da fase do histórico de vida, fornecendo um amplo conjunto de dados, com grande aplicação e utilidade em levantamentos de biodiversidade e em conservação, permitindo reconhecer espécies crípticas ou a variação intraespecífica correlacionada à distribuição geográfica, bem como entender os mecanismos envolvidos nos processos de especiação. O “DNA barcoding” procura entender as espécies, focando na sua delimitação ao invés de focar em suas relações filogenéticas (HAJIBABAEI *et al.*, 2007).

O uso do sistema de “DNA barcoding” não leva, necessariamente, ao fim da taxonomia tradicional; ao contrário, intenciona disponibilizar a informação molecular para ser usada mais amplamente pela taxonomia. Isso levará à alteração do número e distribuição das espécies que são reconhecidas nas linhagens das algas. No entanto, não é uma ferramenta que deve ser usada sozinha, e sim em conjunto com observações morfológicas e anatômicas, assim como com outros marcadores moleculares para obtenção de informações filogenéticas (SAUNDERS, 2005).

Figura 3: Esquema representativo dos marcadores moleculares utilizados como “DNA barcodes” nas algas e tamanho (pb) aproximado das regiões amplificadas. Genes codificadores de proteínas estão indicados como setas e os ribossomais como retângulos. As setas vermelhas indicam a localização dos “primers” utilizados para PCR.

O uso de dados obtidos a partir das análises da sequência de “DNA barcodes” representa um método confiável e prático para auxiliar na identificação das espécies e para o conhecimento da biodiversidade. O aumento no número de novas espécies descritas a partir do início da utilização do sistema de “DNA barcoding” para explorar a diversidade das espécies de algas (SAUNDERS, 2005) mostra que se trata de uma ferramenta valiosa, confirmando seu potencial em levantamentos florísticos (SAUNDERS, 2008; LE GALL & SAUNDERS, 2010; CLARKSTON & SAUNDERS,

2010; SAUNDERS & MCDONALD, 2010), o que pode ser muito útil especialmente na região antártica, onde o acesso para coletar espécimes é dificultado.

As macroalgas bentônicas são componentes conspícuos das comunidades litorâneas da Antártica e representam uma fração importante da produtividade primária nos ecossistemas costeiros, os quais estão sofrendo possíveis alterações decorrentes de mudanças no clima global (aquecimento, aumento dos níveis de UVB, aumento do nível do mar etc.). Os produtores primários estão entre os primeiros a serem impactados devido à sua susceptibilidade às alterações ambientais. Em geral, o crescimento das macroalgas endêmicas da Antártica está restrito a temperaturas em torno de 0 a 5 °C, valores mais baixos do que os relatados para as espécies de clima temperado frio (WIENCKE & DIECK, 1990).

Os impactos gerados pelo aquecimento global já são evidentes, especialmente na região da península Antártica que, segundo Steig *et al.* (2009), vem sofrendo o maior aquecimento dos últimos 50 anos. Isto certamente causará mudanças na biodiversidade local devido à chegada de espécies invasoras migrando de latitudes mais baixas (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

O registro recente de *Petalonia fascia* (OF Muller) Kuntze, *Enteromorpha intestinalis* (Linnaeus) Nees e *Enteromorpha compressa* (Linnaeus) Nees em regiões antárticas, dada a natureza cosmopolita dessas espécies, sugere a possibilidade de introdução através de navios ou outros vetores, visto que hoje em dia as Ilhas Shetlands do Sul são visitadas regularmente por embarcações de pesquisa e turísticas (CLAYTON *et al.*, 1997; FRENOT *et al.*, 2005).

Uma vez que uma sequência de código de barras de DNA é validada para uma espécie, um simples acesso ao banco de dados, por exemplo o BOLD, é suficiente para confirmar a identidade de determinado espécime. Assim, o sistema “DNA barcoding” permitirá, uma vez construído um banco confiável (em qualidade de sequências e de identificação taxonômica), levantamentos periódicos da biodiversidade local de forma rápida, prática e bastante confiável (SAVOLAINEN *et al.*, 2005), permitindo o gerenciamento desse ecossistema de modo a conservar sua biodiversidade.

2. OBJETIVOS

Este trabalho tem com objetivo investigar a diversidade de macroalgas da Baía do Almirantado, Ilhas Rei George, Península Antártica, com base em marcadores moleculares do tipo “DNA barcode” e em outros marcadores, a fim de suprir inicialmente o banco de dados BOLD para as macroalgas da Antártica. Para tanto, as seguintes etapas foram executadas:

- Obtenção de “DNA barcodes” para espécimes de macroalgas da Baía do Almirantado, previamente identificadas morfológicamente em Oliveira *et al.* 2009. Para isto, o *cox1* foi utilizado para Rhodophyta e Phaeophyceae, o *tufA* para Chlorophyta, e o UPA para os três grupos de algas.
- Sequenciamento de outros marcadores moleculares (ITS, *rbcL* ou SSU rDNA) para as espécies de macroalgas.
- Identificação por meio de dados moleculares e confirmação das citações das espécies que ocorrem na Baía do Almirantado.
- Inserção dos dados no banco de dados BOLD.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material biológico

Os espécimes de macroalgas foram coletados em diversos pontos da Baía do Almirantado (Fig. 4), situada no Arquipélago das Ilhas Rei George, Península Antártica, durante as OPERANTARes XXV e XXIX, que ocorreram entre dezembro de 2006 e junho de 2007 e dezembro de 2010 a janeiro de 2011. Os coletores foram: Eurico Cabral de Oliveira, Theresinha M. Absher, Franciane Pelizzari, Nair S. Yokoya e Mutue T. Fujii. Os espécimes coletados estão listados na Tabela 3. Inicialmente, os espécimes identificados por E.C. Oliveira (OLIVEIRA *et al.*, 2009), foram triados e separados para análises morfológicas e moleculares. As amostras destinadas às análises moleculares foram preservadas em sílica gel e armazenadas no Laboratório de Algas Marinhas Édison José de Paula (LAMPJ) e no Instituto de Botânica. As exsiccatas estão depositadas ou no acervo do herbário SPF do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, ou no acervo do herbário SP “Maria Eneyda P. Kaufmann Fidalgo” do Instituto de Botânica de São Paulo.²

² Index Herbariorum: <http://207.156.243.8/emu/ih/index.php>

Figura 4: Mapa representando a Baía do Almirantado incluindo a ASPA 128 (Área Antártica Especialmente Protegida). Os números indicam os locais onde foram coletadas amostras para Oliveira *et al.* (2009) e para o Instituto de Bôtanica. Retirado de Oliveira *et al.*, (2009).

Tabela 3. Informações de coleta das espécies de Chlorophyta, Phaeophyceae e Rhodophyta da Baía do Almirantado - Ilha Rei George, Península Antártica.

Espécies	Voucher	Nº de Campo	Local da coleta	Data	Coletor	GPS Latitude/Longitude
CHLOROPHYTA						
PRASIOALES						
PRASIOACEAE						
<i>Prasiola crista</i> (Lightfoot) Kützinger	SPF56448	ECO54	Copacabana	17 fev. 2007	E.C. Oliveira	S 62° 10' 42.5" W 58° 26' 37.9"
<i>Prasiola crista</i>	SP428304	IBT951	Est. Arctowski	08 fev. 2011	M.T. Fujii	
<i>Prasiola</i> sp.	SP428305	IBT949	Punta Ullmann	07 fev. 2011	M.T. Fujii	S 62° 4' 55.6" W 58° 21' 10.3"
ULOTRICHALES						
GOMONTIACEAE						
<i>Monostroma hariotii</i> * Gain	***	FP01	Ilha Deception	13 dez. 2006	F. Pellizzari	S 62° 59' 24.5" W 60°33' 30"
<i>Monostroma hariotii</i>	SPF56317	FP02	Pta Stenhouse	13 jan. 2007	F. Pellizzari	S 62° 4' 16.31" W 58° 22'37.86"
<i>Monostroma hariotii</i>	***	FP03	Punta Plaza	13 dez. 2006	F. Pellizzari	S 62° 05' 28.5" W 58° 24' 23.0"
<i>Monostroma hariotii</i> **	SPF57301	FP31	Ilha Elefant	21 dez. 2010	F. Pellizzari	S 61° 7' 58.2" W 54° 45' 38.1"
<i>Monostroma hariotii</i> **	SPF57299	FP33	Ilha Elefant	21 dez. 2010	F. Pellizzari	S 61° 7' 58.2" W 54° 45' 38.1"
<i>Monostroma hariotii</i> **	SPF57298	FP34	Ilha Elefant	21 dez. 2010	F. Pellizzari	S 61° 7' 58.2" W 54° 45' 38.1"
<i>Monostroma hariotii</i> *	SPF57300	FP37	Ilha Deception	14 jan. 2011	F. Pellizzari	S 62° 59' 24.5" W 60°33' 30"
<i>Monostroma hariotii</i>	SP401729	NY14	Dufael	03 dez. 2010	N. S.Yokoya e A.Martins	S 62° 9' 54.0" W 58° 33' 24.5"
<i>Monostroma hariotii</i>	SP401754	NY15	Botany Point	18 dez. 2010	N. S.Yokoya e A.Martins	S 62° 5' 58.5" W 58° 19' 44.4"
<i>Monostroma hariotii</i>	SP401717	NY16	Punta Plaza	10 dez. 2010	N. S.Yokoya e A.Martins	S 62° 05' 28.5" W 58° 24' 23.0"
<i>Monostroma grevillei</i> * (Thuret) Wittrock	SPF57296	FP36	Ilha Deception	12 jan. 2011	F. Pellizzari	S 62° 59' 24.5" W 60°33' 30"
<i>Monostroma grevillei</i> *	SPF57297	FP38	Ilha Deception	12 jan. 2011	F. Pellizzari	S 62° 59' 24.5" W 60°33' 30"
<i>Monostroma grevillei</i> *	SPF57293	FP39	Ilha Deception	14 jan. 2011	F. Pellizzari	S 62° 59' 24.5" W 60°33' 30"
ULOTRICHACEAE						
<i>Acrosiphonia arcta</i> (Dillwyn) Gain	SP401755	NY32	Punta Plaza	22 dez. 2010	N. S.Yokoya e A.Martins	S 62° 05' 28.5" W 58° 24' 23.0"
<i>Protomonostroma rosulatum</i> ¹ Vinogradova	SPF57295	FP35	Est. Com. Ferraz	20 dez. 2010	F. Pellizzari	S 62° 5' 13.74" W 58° 23' 29.9"
<i>Protomonostroma rosulatum</i>	***	SP43	Refugio2	02 mai. 2007	T.M. Absher	S 62° 4' 19.7" W 58° 25' 9.69"
<i>Protomonostroma rosulatum</i>	SPF56316	SP50	Refugio2	02 mai. 2007	T.M. Absher	
<i>Protomonostroma rosulatum</i>	SPF56315	ECO01	Est. Com. Ferraz	14 fev. 2007	E.C. Oliveira	S 62° 5' 13.74" W 58° 23' 29.9"
<i>Protomonostroma rosulatum</i>	SPF56314	ECO02	Punta Plaza	15 fev. 2007	E.C. Oliveira	S 62° 05' 28.5" W 58° 24' 23.0"
<i>Urospora penicilliformis</i> (Roth) Areschoug	SP428306	IBT945	Est. Com. Ferraz	20 dez. 2010	M.T. Fujii	S 62° 5' 13.74" W 58° 23' 29.9"

* coletada na Ilha Decepcion

** coletada na Ilha Elefante

*** voucher não localizado

¹ como *Protomonostroma undulatum* em Oliveira *et al.* (2009)

Tabela 3. Continuação.

ULVALES						
ULVACEAE						
<i>Ulva bulbosa</i> (Suhr) Montagne	SPF56365	ECO48	Ipanema	09 fev. 2007	E.C. Oliveira	S 62° 4' 42.4" W 58° 25' 27.5"
<i>Ulva bulbosa</i> **	SP428308	IBT944	Ilha Elefante	20 dez. 2010	D. Pupo	
PHAEOPHYCEAE						
ASCOSEIRALES						
ASCOSEIRACEAE						
<i>Ascoseira mirabilis</i> Skottsberg	SPF57336	FP05	Punta Plaza	16 dez. 2006	F. Pellizzari	S 62° 05' 28.5" W 58° 24' 23.0"
<i>Ascoseira mirabilis</i>	SPF56321	ECO27	Est. Arctowski	03 fev. 2007	E.C. Oliveira	S 62° 9' 30.8" W 58° 28' 17.8"
<i>Ascoseira mirabilis</i>	SPF56320	SP29	Ipanema	07 abr. 2007	T.M. Absher	S 62° 4' 42.4" W 58° 25' 27.5"
<i>Ascoseira mirabilis</i>	SP401744	NY01	Est. Arctowski	15 dez. 2010	N. S.Yokoya e A.Martins	S 62° 9' 30.8" W 58° 28' 17.8"
DESMARESTIALES						
DESMARESTIACEAE						
<i>Desmarestia anceps</i> Montagne	SP427364	NY03	Est. Arctowski	15 dez. 2010	N. S.Yokoya e A.Martins	S 62° 9' 30.8" W 58° 28' 17.8"
<i>Desmarestia antarctica</i> RL Mo& and PC Silva	SPF56339	ECO08	Ens. Martel	25 jan. 2007	E.C. Oliveira	S 62° 5' 1.73" W 58° 21' 46.6"
<i>Desmarestia antarctica</i>	SPF56343	SP48	Refúgio 2	02 mai. 2007	T.M. Absher	S 62° 4' 19.7" W 58° 25' 9.69"
<i>Desmarestia antarctica</i>	SPF56345	SP60	Emerald Point	14 mai. 2007	T.M. Absher	S 62° 9' 41.9" W 58° 36' 36.5"
<i>Desmarestia antarctica</i>	SPF56342	SP54	Refúgio 2	10 mai. 2007	T.M. Absher	S 62° 4' 19.7" W 58° 25' 9.69"
<i>Desmarestia antarctica</i>	SP427365	NY04	Est. Arctowski	15 dez. 2010	N. S.Yokoya e A.Martins	S 62° 9' 30.8" W 58° 28' 17.8"
<i>Desmarestia antarctica</i>	SP401743	NY09	Est. Com. Ferraz	28 dez. 2010	N. S.Yokoya e A.Martins	S 62° 5' 13.74" W 58° 23' 29.9"
<i>Desmarestia antarctica</i>	SP427368	NY08	Punta Plaza	10 dez. 2010	N. S.Yokoya e A.Martins	S 62° 05' 28.5" W 58° 24' 23.0"
<i>Desmarestia menziesii</i> J Agardh	SPF56357	ECO86	Ens Ezcurra	27 fev. 2007	E.C. Oliveira	S 62° 9' 41.6" W 58° 33' 14.4"
<i>Desmarestia menziesii</i>	SPF56356	ECO87	Ens Ezcurra	28 fev. 2007	E.C. Oliveira	S 62° 9' 41.6" W 58° 33' 14.4"
<i>Desmarestia menziesii</i>	SPF56354	ECO09	Ens. Martel	26 jan. 2007	E.C. Oliveira	S 62° 5' 1.73" W 58° 21' 46.6"
<i>Desmarestia menziesii</i>	***	NY28	Hérve Cove	23 dez. 2010	N. S.Yokoya e A.Martins	S 62° 10' 62.6" W 58° 32' 09.2"
<i>Desmarestia menziesii</i>	SPF57327	FP11	Est. Arctowski	08 jan. 2007	F. Pellizzari	S 62° 9' 30.8" W 58° 28' 17.8"
<i>Desmarestia menziesii</i>	SP428307	IBT946	Punta Plaza	24 jan. 2011	M.T. Fujii	S 62° 05' 28.5" W 58° 24' 23.0"
<i>Desmarestia menziesii</i>	SP427367	NY07	Punta Plaza	10 dez. 2010	N. S.Yokoya e A.Martins	S 62° 05' 28.5" W 58° 24' 23.0"
<i>Desmarestia menziesii</i>	SPF57331	SP11a	Refúgio 1	31 mar. 2007	T.M. Absher	S 62° 5' 18.8" W 58° 23' 46.9"
<i>Desmarestia menziesii</i>	SPF57332	SP12	Refúgio 1	31 mar. 2007	T.M. Absher	S 62° 5' 18.8" W 58° 23' 46.9"
<i>Desmarestia menziesii</i>	SPF57328	SP18a	Refúgio 1	31 mar. 2007	T.M. Absher	S 62° 5' 18.8" W 58° 23' 46.9"
<i>Desmarestia menziesii</i>	SPF57329	SP23	Refúgio 1	31 mar. 2007	T.M. Absher	S 62° 5' 18.8" W 58° 23' 46.9"
<i>Desmarestia menziesii</i>	SPF57333	SP37	Ipanema	07 abr. 2007	T.M. Absher	S 62° 4' 42.4" W 58° 25' 27.5"
<i>Desmarestia menziesii</i>	SPF57334	SP69	Emerald Point	14 mai. 2007	T.M. Absher	S 62° 9' 41.9" W 58° 36' 36.5"

** coletada na Ilha Elefante

*** voucher não localizado

Tabela 3. Continuação.

<i>Desmarestia menziesii</i>	SPF57330	SP36	Refúgio 1	31 mar. 2007	T.M. Absher	S 62° 5' 18.8" W 58° 23' 46.9"
<i>Himantothallus grandifolius</i> (A Gepp & ES Gepp) Zinova	SP427363	NY02	Est. Arctowski	15 dez. 2010	N. S.Yokoya e A.Martins	S 62° 9' 30.8" W 58° 28' 17.8"
<i>Himantothallus grandifolius</i>	SPF57335	FP15	Est. Arctowski	08 jan. 2007	F. Pellizzari	S 62° 9' 30.8" W 58° 28' 17.8"
<i>Himantothallus grandifolius</i>	SP427369	NY12	Punta Plaza	04 jan. 2011	Cleoni e Simões	S 62° 05' 28.5" W 58° 24' 23.0"
					** coletada na Ilha Elefante	
<i>Phaeurus antarcticus</i> Skottsberg	SPF56416	SP72r	Denais Stack	31 mai. 2007	T.M. Absher	S 62° 7' 31.1" W 58° 29' 7.5"
<i>Phaeurus antarcticus</i>	SPF56416	SP74a	Denais Stack	31 mai. 2007	T.M. Absher	S 62° 7' 31.1" W 58° 29' 7.5"
<i>Phaeurus antarcticus</i>	SP427366	NY06	Est. Arctowski	15 dez. 2010	N. S.Yokoya e A.Martins	S 62° 9' 30.8" W 58° 28' 17.8"
					*** voucher não localizado	
ECTOCARPALES						
ADENOCYSTACEAE						
<i>Adenocystis utricularis</i> (Bory de Saint-Vincent) Skottsberg	SP401714	NY10	Hérve Cove	23 dez. 2010	N. S.Yokoya e A.Martins	S 62° 10' 62.6" W 58° 32' 09.2"
<i>Adenocystis utricularis</i>	SP401723	NY11	Est. Arctowski	23 dez. 2010	N. S.Yokoya e A.Martins	S 62° 9' 30.8" W 58° 28' 17.8"
CHORDARIACEAE						
<i>Chordaria linearis</i> (JD Hooker & Harvey) AD Cotton	SPF57692	SP10	Ipanema	07 abr. 2007	T.M. Absher	S 62° 4' 42.4" W 58° 25' 27.5"
<i>Chordaria linearis</i>	SPF57326	SP32	Ipanema	07 abr. 2007	T.M. Absher	S 62° 4' 42.4" W 58° 25' 27.5"
FUCALES						
SEIROCOCCACEAE						
<i>Cystosphaera jacquiniotii</i> (Montagne) Skottsberg	SPF56332	ECO06	Ens. Martel	29 fev. 2007	E.C. Oliveira	S 62° 5' 1.73" W 58° 21' 46.6"
<i>Cystosphaera jacquiniotii</i>	SP401739	NY05	Hérve Cove	23 dez. 2010	N. S.Yokoya e A.Martins	S 62° 10' 62.6" W 58° 32' 09.2"
RHODOPHYTA						
BANGIALES						
BANGIACEAE						
<i>Pyropia endiviifolia</i> ² (A Gepp & E Gepp) HG Choi & MS Hwang	SPF56434	ECO55	Plaza Point	14 fev. 2007	E.C. Oliveira	S 62° 05' 28.5" W 58° 24' 23.0"
<i>Pyropia endiviifolia</i>	SPF56433	ECO68	Copacabana	17 fev. 2007	E.C. Oliveira	S 62° 10' 42.5" W 58° 26' 37.9"
<i>Pyropia endiviifolia</i>	SP401706	NY23	Chabrier Rock	30 dez. 2010	E. Costa	S 62° 11' 18.2" W 58° 17' 49.5"
<i>Wildemania plocamiestris</i> ³ RW Ricker	SPF56436	ECO73	Ens. Martel	20 fev. 2007	E.C. Oliveira	S 62° 5' 1.73" W 58° 21' 46.6"
<i>Wildemania plocamiestris</i> ⁴	SPF57319	SP9b	Punta Ullman	23 mar. 2007	T.M. Absher	S 62° 4' 55.6" W 58° 21' 10.3"
<i>Wildemania plocamiestris</i>	***	ECO23	Botany Point	23 mar. 2007	E.C. Oliveira	S 62° 5' 58.5" W 58° 19' 44.4"
<i>Wildemania plocamiestris</i>	SPF56431	ECO44	Punta Ullman	23 mar. 2007	E.C. Oliveira	S 62° 4' 55.6" W 58° 21' 10.3"

*** voucher não localizado

² como *Porphyra endiviifolia* em Oliveira *et al.* (2009)³ como *Porphyra woolhouseae* em Oliveira *et al.* (2009)⁴ como *Porphyra plocamiestris* em Oliveira *et al.* (2009)

Tabela 3. Continuação.

CORALLINALES						
<i>Corallinales</i>	SPF56449	ECO85	Demay Point	18 fev. 2007	E.C. Oliveira	S 62° 12' 48.4" W 58° 25' 9.3"
CERAMIALES						
WRANGELIACEAE						
<i>Georgiella confluens</i> (Reinsch) Kylin	SP401752	NY26	Est. Arctowski	15 dez. 2010	N. S.Yokoya e A.Martins	S 62° 9' 30.8" W 58° 28' 17.8"
<i>Plumariopsis peninsularis</i> RL Moe & PC Silva	SPF57323	FP13	Ens. Mackellar	11 jan. 2007	F. Pellizzari	S 62° 4' 46.0" W 58° 28' 17.5"
DELESSERIAEAE						
<i>Myriogramme manginii</i> (Gain) Skottsberg	SPF57321	SP77	Denais Stack	31 mai. 2007	T.M. Absher	S 62° 7' 31.1" W 58° 29' 7.5"
<i>Myriogramme manginii</i>	SPF57693	SP78	Denais Stack	30 mai. 2007	T.M. Absher	S 62° 7' 31.1" W 58° 29' 7.5"
<i>Myriogramme manginii</i>	SP428310	IBT936	Demay Point	07 fev. 2011	E.Costa	S 62° 12' 48.4" W 58° 25' 9.3"
GIGARTINALES						
CYSTOCLONIAEAE						
<i>Acanthococcus antarcticus</i> JD Hooker & Harvey	SP428309	IBT935	Est. Com. Ferraz	04 fev. 2011	M.T. Fujii	S 62° 5' 13.74" W 58° 23' 29.9"
KALLYMENIAEAE						
<i>Callophyllis</i> sp. ⁵	SPF57325	ECO81	Demay Point	23 fev. 2007	E.C. Oliveira	S 62° 2' 48.4" W 58° 25' 9.3"
GIGARTICAEAE						
<i>Gigartina skottsbergii</i> Setchell & NL Gardner	SPF57324	ECO88	Ens. Ezcurra	27 fev. 2007	E.C. Oliveira	S 62° 9' 41.6" W 58° 33' 14.4"
<i>Gigartina skottsbergii</i>	SP401750	NY25	Est. Arctowski	15 dez. 2010	N. S.Yokoya e A.Martins	S 62° 9' 30.8" W 58° 28' 17.8"
<i>Iridaea cordata</i> (Turner) Bory de Saint-Vincent	SPF56380	SP7C	Punta Ullman	29 mar. 2007	T.M. Absher	S 62° 4' 55.6" W 58° 21' 10.3"
<i>Iridaea cordata</i>	SPF56388	ECO41	Botany Point	04 fev. 2007	E.C. Oliveira	S 62° 5' 58.5" W 58° 19' 44.4"
<i>Iridaea cordata</i>	SP401719	NY20	Est. Arctowski	15 dez. 2010	N. S.Yokoya e A.Martins	S 62° 9' 30.8" W 58° 28' 17.8"
<i>Iridaea cordata</i>	SP401751	NY24	Punta Plaza	10 dez. 2010	N. S.Yokoya e A.Martins	S 62° 05' 28.5" W 58° 24' 23.0"
<i>Iridaea cordata</i>	SP401728	NY19	Punta Plaza	10 dez. 2010	N. S.Yokoya e A.Martins	S 62° 05' 28.5" W 58° 24' 23.0"
<i>Iridaea cordata</i>	SPF57320	SP64	Emerald Point	14 mai. 2007	T.M. Absher	S 62° 9' 41.9" W 58° 36' 36.5"

⁵ como *Callophyllis atrosanguinea* em Oliveira *et al.* (2009)

Tabela 3. Continuação.

PHYLLOPHORACEAE						
<i>Gymnogongrus antarcticus</i> Skottsberg	SPF56442	ECO46	P. Hennequin	08 fev. 2007	E.C. Oliveira	S 62° 7' 23.5" W 58° 24' 10.9"
GRACILARIALES						
GRACILARIACEAE						
<i>Curdiea racovitzae</i> Hariot	SP401724	NY17	Punta Plaza	22 dez. 2010	N. S.Yokoya e A.Martins	S 62° 05' 28.5" W 58° 24' 23.0"
<i>Curdiea racovitzae</i>	SPF56330	ECO47	Copacabana	08 fev. 2007	E.C. Oliveira	S 62° 10' 42.5" W 58° 26' 37.9"
<i>Curdiea racovitzae</i>	SPF56331	ECO34	Est. Arctowski	03 fev. 2007	E.C. Oliveira	S 62° 9' 30.8" W 58° 28' 17.8"
<i>Curdiea racovitzae</i>	SPF56324	ECO17	Ens. Martel	03 fev. 2007	E.C. Oliveira	S 62° 5' 1.73" W 58° 21' 46.6"
PALMARIALES						
PALMARIACEAE						
<i>Palmaria decipiens</i> (Reinsch) RW Ricker	SP401738	NY21	Punta Plaza	10 dez. 2010	N. S.Yokoya e A.Martins	S 62° 05' 28.5" W 58° 24' 23.0"
<i>Palmaria decipiens</i>	SPF56408	SP16b	Refúgio 1	31 mar. 2007	T.M. Absher	S 62° 5' 18.8" W 58° 23' 46.9"
<i>Palmaria decipiens</i>	***	SP52a	Refúgio 2	02 mai. 2007	T.M. Absher	S 62° 4' 19.7" W 58° 25' 9.69"
<i>Palmaria decipiens</i>	***	SP61	Emerald Point	14 mai. 2007	T.M. Absher	S 62° 9' 41.9" W 58° 36' 36.5"
<i>Palmaria decipiens</i>	SPF56412	ECO40	Botany Point	05 fev. 2007	E.C. Oliveira	S 62° 5' 58.5" W 58° 19' 44.4"
<i>Palmaria decipiens</i> **	SP428311	IBT943	Ilha Elefante	21 dez.2010	D. Pupo	
PLOCAMIALES						
PLOCAMIACEAE						
<i>Plocamium aff. cartilagineum</i> (Linnaeus) PS Dixon	SP401726	NY22	Punta Plaza	04 jan. 2011	Cleoni e Simões	S 62° 05' 28.5" W 58° 24' 23.0"
<i>Plocamium aff. cartilagineum</i>	SPF56423	ECO89	Ens. Ezcurra	27 fev. 2007	E.C. Oliveira	S 62° 9' 41.6" W 58° 33' 14.4"
<i>Plocamium aff. cartilagineum</i>	SPF57322	FP12	Ens. Mackellar	09 jan. 2007	F. Pellizzari	S 62° 4' 46.0" W 58° 28' 17.5"

** coletada na Ilha Elefante

*** voucher não localizado

3.2. Extração de DNA

Para a extração do DNA total, cerca de 20-40 mg do material algal desidratado em sílica gel foi macerado em nitrogênio líquido até a formação de um pó fino para a lise de tecidos e células. A extração de DNA foi feita com o “kit” de extração NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel – Düren, Alemanha), de acordo com o protocolo do fornecedor. Após a extração, o DNA total foi submetido à eletroforese em gel de agarose 0,7%, em tampão tris-borato-EDTA, corado com GelRed diluído em água na proporção 1:500 (“GelRed Nucleic Acid Gel Stain” – Biotium, Hayward, CA, EUA), para averiguação da presença, qualidade e quantidade de DNA extraído (SAMBROOK *et al.*, 1989), e quantificado com o uso do aparelho NanoDrop 2000 – Spectrophotometer (Wilmington, DE, EUA).

3.3. Amplificação por PCR (reação em cadeia da polimerase)

O DNA extraído foi utilizado para a amplificação da sequência alvo usando-se “primers” específicos para os diferentes marcadores moleculares (Tab. 4) através da técnica de PCR (SAMBROOK *et al.*, 1989).

Os “primers” (IDT- Iowa, EUA) descritos para o marcador *cox1* foram obtidos de Saunders (2005), Lane *et al.* (2007) e Le Gall & Saunders (2010). Os primers do marcador UPA estão descritos em Sherwood & Presting (2007). Os primers para o marcador *tufA*, descritos em Fama *et al.* (2002). Os primers para o marcador *rbcl*, em Freshwater & Rueness (1994). Os do marcador ITS, em Milstein & Oliveira (2005) e Bellorin *et al.* (2002). E os do marcador SSU, descritos em Sogin (1990), Milstein & Oliveira (2005) e Bird *et al.* (1992).

As PCRs foram realizadas utilizando-se o kit da Promega (Madison, WI, EUA), nas seguintes condições de amplificação para um volume final de 50 µL: 1× PCR buffer, 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM de cada dNTP, 0.2 µM de cada primer (F e R), aproximadamente 5 ng de DNA total e 1.25 U de *Taq* DNA polymerase (Promega Corp., Madison, WI, EUA). Os termocicladores utilizados para a realização da reação

de PCR foram: Techne TC-512 e Techne TC-4000 (Bibby Scientific Ltd., Staffordshire, UK). Os ciclos da PCR variaram de acordo com a região a ser amplificada, conforme segue:

- *tufA* – Saunders & Kucera (2010)

94 °C por 4 min, seguido por 38 ciclos de 94 °C por 1 min, 45 °C por 30 s, 72 °C por 1 min, seguido por um passo de extensão final a 72 °C por 7 min.

- SSU - Milstein & Oliveira (2005)

94 °C por 4 min, seguido por 35 ciclos de 94 °C por 1 min, 50 °C por 30 s, 72 °C por 1 min, seguido por um passo de extensão final a 72 °C por 7 min.

- *cox1* - Saunders (2005) e Lane *et al.* (2007)

94 °C por 4 min, seguido por 38 ciclos de 94 °C por 1 min, 50 °C por 30 s, 72 °C por 1 min, seguido por um passo de extensão final a 72 °C por 7 min.

- ITS - Milstein & Oliveira (2005)

94 °C por 4 min, seguido por 35 ciclos a 94 °C por 30 s, 55 °C por 1 min, 72 °C por 2 min, extensão final a 72 °C por 7 min.

- UPA - Sherwood & Presting (2007)

94 °C por 2 min, seguido por 35 ciclos de 94 °C por 20 s, 55 °C por 30 s, 72 °C por 30 s, seguido por um passo de extensão final a 72 °C por 10 min.

- *rbcL* - Freshwater & Rueness (1994)

94 °C por 4 min, seguido por 38 ciclos a 94 °C por 30 s, 45 °C por 1 min, 72 °C por 45 s, extensão final a 72 °C por 5 min.

Para garantir a pureza dos reagentes nas PCR, foram feitos controles negativos com todos os reagentes menos o DNA.

Após a PCR, os produtos foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 0,7%, com marcador de tamanho (1 Kb DNA Ladder – Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) para verificar os tamanhos dos fragmentos amplificados, corados com corante GelRed na concentração 1:500. Os produtos de PCR foram purificados utilizando-se a coluna GTX™ PCR DNA and Gel Band Purification Kit (GE Healthcare, Burckinghamshire, UK), de acordo com o protocolo do fornecedor, e quantificados com o uso do aparelho NanoDrop 2000 – Spectrophotometer (Wilmington, DE, EUA), e diretamente sequenciados.

Tabela 4. “Primers” utilizados na amplificação e sequenciamento dos marcadores moleculares do cloroplasto *rbcL*, UPA, *tufA*, mitocondrial *cox1* e nucleares ITS e SSU rDNA. Sendo r = A ou G; y = C ou T; w = A ou T.

Marcador (pb)	“Primers”	Sequências 5’— 3’	Referências
<i>cox1</i> (~710)	GazF1	TCAACACAAATCATAAGATATTGG	Saunders (2005)
	GazR1	ACTTCTGGATGTCCAAAAA _y CA	
	GWSFn	TCAACAAATCA _y AAAGATAT _y GG	Le Gall & Saunders (2010)
	GWSRn	GGrTGTCrAArAA _y ACrAA	
	GAZF2	CCAACCATAAAGATATwGGTAC	Lane <i>et al.</i> (2007)
	GAZR2	GGATGACCAAAARAACCAAAA	
UPA (~400)	p23SrV_f1	GGACAGAAAGACCCTATGAA	Sherwood & Presting (2007)
	p23SrV_r1	TCAGCCTGTTATCCCTAGAG	
<i>tufA</i> (~800)	<i>tufA</i> F	TGAAACAGAAmAwCGTCATTATGC	Fama <i>et al.</i> (2002)
	<i>tufA</i> R	CCTTCnCGAATmGCrAAwCGC	
<i>rbcL</i> (~1500)	<i>rbcL</i> F start	ATGTCTCAATCCGATG	Freshwater & Rueness (1994)
	R492*	CGACCAAATTTATCCATACG	
	F492*	CGTATGGATAAATTTGGTCC	
	R753*	GCTCTTTCATCAATATCTTCC	
	F753*	GGAAGATATGTATGAAAGAGC	
	F993*	GGTACTGTTGTAGGTAAATTwGAAGG	
	R1150a*	GCATTTGrCCrCArTGAATACC	
	RrbcS-start	GTTCTTGTGTTAATCTCA	
ITS (~600)	18S3’F	TAGGTGAACCTGCGGAAGGAT	Milstein & Oliveira (2005)
	5.8SF*	GATACAACTCTTAGCG	
	5.8SR*	CGCTAAGAGTTGTATC	

	28S5'R	ATATGCTTAArTTCAGCGGGT	Bellorin <i>et al.</i> (2002)
SSU (~1800)	18S5'	CAACCTGGTTGATCCTGCCAGT	Sogin (1990)
	530F*	GAGGGCAAGTCTGGTG	Milstein & Oliveira (2005)
	536R*	GAATTACCGCGGCTGCTG	Bird <i>et al.</i> (1992)
	300F*	CCGGAGAGGGAGCCTGAG	
	300R*	TCAGGCTCCCTCTCCGG	
	1055F*	GGTGGTGCATGGCCG	Bird <i>et al.</i> (1992)
	1055R*	CGGCCATGCACCACC	
	18S3'	GATCCTTCTGCAGGTTACCTACGGAA	Sogin (1990)

* "Primers" internos utilizados para o sequenciamento.

3.4. Sequenciamento de DNA e montagem da sequência consenso

O sequenciamento foi feito com aproximadamente 40 ng de produto de PCR purificado, 3,2 pmol de "primer" e o "kit" de sequenciamento "BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction" (Applied Biosystems, Foster City, EUA), conforme instruções do fornecedor, utilizando os mesmos "primers" da PCR. Para o sequenciamento do *rbcL*, ITS e SSU também foram usados os "primers" internos listados na Tabela 4. O "kit" de sequenciamento é composto por: dNTP, dideoxynucleosídeos (ddNTP) com marcadores fluorescentes, tampão, cloreto de magnésio e a enzima *Taq* polimerase. As reações de amplificação foram feitas nos termocicladores: Techne TC-512 ou Techne TC-4000 (Bibby Scientific Ltd., Staffordshire, UK), com 40 ciclos a 96 °C por 10 s, 54 °C por 20 s e 60 °C por 4 min. Os produtos da PCR contendo os ddNTPs marcados foram precipitados em isopropanol 75% e lavados em etanol 70%, para a remoção de resíduos não incorporados que podem afetar a qualidade das sequências. As amostras foram sequenciadas no sequenciador automático ABI PRISM™ 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, EUA).

As sequências consenso para cada marcador foram montadas usando o programa BioEdit (HALL, 1999), a partir das sequências obtidas nas direções direta e reversa. Nucleotídeos divergentes ocorrendo na mesma posição foram verificados nos cromatogramas das sequências. As sequências consenso obtidas foram

comparadas com as sequências disponíveis no GenBank³ com o uso do programa BLAST (ALTSCHUL *et al.*, 1997).

Após a obtenção dos marcadores moleculares, as amostras de DNA foram catalogadas, precipitadas em etanol e estocadas a -80°C , formando um banco que ficará disponível para outros estudos (CHASE *et al.*, 2005).

3.5. Análises de agrupamento

As matrizes de alinhamento (Tab. 5) foram construídas usando as sequências consenso obtidas nesse trabalho, assim como outras sequências obtidas no banco de dados (Tab. 6). As sequências foram alinhadas utilizando-se o Clustal-W no programa BioEdit. Para todas as matrizes de alinhamento foram removidas as regiões dos “primers” das pontas 5’ e 3’.

Para as sequências dos “DNA barcodes” foram utilizadas análises de agrupamento (Tab. 5). As árvores de agrupamento foram construídas usando o método de Neighbour-Joining – NJ – (SAITOU & NEI 1987) para UPA (Rhodophyta, Phaeophyceae e Chlorophyta), *cox1* (Rhodophyta e Phaeophyceae), *tufA* (Chlorophyta) utilizando o modelo Kimura 2-Parâmetros (KIMURA, 1980), no programa MEGA4 (TAMURA *et al.*, 2007) com 2.000 réplicas de Bootstrap para obter o suporte dos agrupamentos (FELSENSTEIN, 1985). Sequências adicionais de UPA, *cox1* e *tufA* foram obtidas do GenBank. Nas árvores não enraizadas foram plotados apenas os valores de Bootstrap maiores que 60%.

Para os marcadores filogenéticos foram realizadas análises de agrupamento utilizando o método de Neighbour-Joining – NJ – (SAITOU & NEI, 1987) para os marcadores: ITS (Chlorophyta) e ITS (Phaeophyceae), *rbcL* (Rhodophyta) e SSU (Phaeophyceae e Rhodophyta) utilizando o modelo Distância p (Tab. 5), no programa MEGA4 (TAMURA *et al.*, 2007) com 2.000 réplicas de Bootstrap para obter o suporte dos agrupamentos (FELSENSTEIN, 1985). Sequências adicionais de ITS, *rbcL* e SSU foram obtidas do GenBank. Nas árvores não enraizadas foram plotados apenas os valores de Bootstrap maiores que 70%.

³ GenBank :<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

Tabela 5. Informações sobre as matrizes geradas para as análises de agrupamento.

Marcador	Tamanho matriz final (pb)	neighbour-joining (modelo)	Nº de sequências analisadas	Sequências obtidas neste trab.	Sequências GenBank
UPA	354	Kimura 2-Parâmetros	100	95	5
<i>cox1</i>	620	Kimura 2-Parâmetros	47	39	8
<i>tufA</i>	795	Kimura 2-Parâmetros	31	23	8
ITS-Phaeo	328	Distância p	21	8	13
ITS-Chloro	524	Distância p	27	17	10
<i>rcbL</i>	1204	Distância p	44	15	29
SSU	1783	Distância p	29	12	17

Tabela 6. Sequências dos marcadores UPA, *cox1*, *tufA*, *rbcL*, ITS e SSU obtidas do GenBank utilizadas nas análises.

Espécie	Acesso GenBank	Localidade	Referência
UPA			
<i>Acrosiphonia</i> sp.	HQ603320	Canadá	Saunders & Kucera (2010)
<i>Prasiola stipitata</i> Suhr ex Jessen	EF426573	*	Sherwood & Presting (2007)
<i>Protomonostroma undulatum</i> (Wittrock) KL Vinogradova	HQ603331	Canadá	Saunders & Kucera (2010)
<i>Ulva</i> sp.	EF426568	*	Sherwood & Presting (2007)
<i>Urospora</i> sp. 2 <i>penicilliformis</i>	HQ603371	Canadá	Saunders & Kucera (2010)
<i>cox1</i>			
<i>Ascoseira mirailis</i> Skottsberg	EU681391	Antártica	Silberfeld <i>et al.</i> (2010)
<i>Desmarestia menziesii</i> J Agardh	GQ368260	Terre Adélie, Antártica	Silberfeld <i>et al.</i> (2010)
<i>Himantothallus grandifolius</i> (A Gepp & ES Gepp) Zinova	GQ368262	Terre Adélie, Antártica	Silberfeld <i>et al.</i> (2010)
<i>P. palmata</i> (Linnaeus) Weber & Mohr	GU224114	Canadá	Clayden & Saunders (2010)
<i>Palmaria mollis</i> (Setchell & NL Gardner) van der Meer & CJ Bird	GU224108	Canadá	Clayden & Saunders (2010)
<i>Plocamium cartilagineum</i> (Linnaeus) PS Dixon	JF271583	Espanha	Cremades <i>et al.</i> (2011)
<i>Plocamium maggsiae</i> GW Saunders & KV Lehmkuhl	JF271602	Reino Unido	Cremades <i>et al.</i> (2011)
<i>Wildemanian amplissima</i> (Kjellman) Foslie	HQ544924	Canadá	Kucera & Saunders (2012)
<i>tufA</i>			
<i>Monostroma</i> sp1 <i>grevillei</i>	HQ610257	Canadá	Saunders & Kucera (2010)
<i>Prasiola stipitata</i> Suhr ex Jessen	HQ610268	Canadá	Saunders & Kucera (2010)
<i>Protomonostroma undulatum</i> (Wittrock) KL Vinogradova	HQ610275	Canadá	Saunders & Kucera (2010)
<i>Ulva californica</i> Wille	AY454401	Canadá	Saunders & Kucera (2010)
<i>Ulva prolifera</i> OF Müller	HQ610403	Canadá	Saunders & Kucera (2010)
<i>Urospora</i> sp1 <i>penicilliformis</i>	HQ610439	Canadá	Saunders & Kucera (2010)

* Informação não localizada ou inexistente

Tabela 6. Continuação

<i>Acrosiphonia arcta</i> (Dillwyn) Gain	HQ610214	Canadá	Saunders & Kucera (2010)
<i>Acrosiphonia</i> sp.	HQ610236	Canadá	Saunders & Kucera (2010)
rcbL			
<i>Ahnfeltiopsis humilis</i> (Lindaeur) JA Lewis & Womersley	U22306	Antártica	Fredericq & Ramirez (1996)
<i>Callithamnion baileyi</i> Harvey	EU195050	*	Não publicado
<i>Callophyllis atosanguinea</i> (JD Hooker & Harvey) Hariot	HQ910504	Punta Dungeness, Chile,	Arakaki <i>et al.</i> (2011)
<i>Callophyllis atosanguinea</i> (JD Hooker & Harvey) Hariot	HQ910503	Punta Arenas, Chile	Arakaki <i>et al.</i> (2011)
<i>Callophyllis lingulata</i> Kylin	HQ910510	Ilha Rei George, P. Antártica	Arakaki <i>et al.</i> (2011)
<i>Callophyllis macrostiolata</i> Arakaki, Alveal & Ramírez	HQ910501	Chile	Arakaki <i>et al.</i> (2011)
<i>Callophyllis macrostiolata</i> Arakaki, Alveal & Ramírez	HQ910502	Concepción, Chile	Arakaki <i>et al.</i> (2011)
<i>Callophyllis variegata</i> (Bory de Saint-Vincent) Kützinger	HM587184	Nova Zelândia	D'Archino <i>et al.</i> (2011)
<i>Curdiea racovitzae</i> Hariot	AY049426	Antártica	Gurgel & Fredericq (2004)
<i>Cystoclonium purpureum</i> (Hudson) Batters	KC130217	*	Barbara <i>et al.</i> (2013)
<i>Euptilota fergusonii</i> AD Cotton	DQ022828	África do Sul	Hommersand <i>et al.</i> (2005)
<i>Falklandiella harveyi</i> (JD Hooker) Kylin	DQ022813	Ilha Falkland	Hommersand <i>et al.</i> (2005)
<i>Georgiella confluens</i> (Reinsch) Kylin	DQ022814	Ilha Rei George, P. Antártica	Hommersand <i>et al.</i> (2005)
<i>Gigartina skottsbergii</i> Setchell e NL Gardner	AF146206	Ilha Rei George, P. Antártica	Hommersand <i>et al.</i> (2005)
<i>Gymnogongrus antarcticus</i> Skottsberg	U22334	Antártica	Fredericq & Ramirez (1996)
<i>Gymnogongrus turquetii</i> Hariot	U22510	Antártica	Fredericq & Ramirez (1996)
<i>Iridaea cordata</i> (Turner) Bory de Saint-Vincent	GQ323780	Balleny Islands-NZ	Não publicado
<i>Iridaea cordata</i> (Turner) Bory de Saint-Vincent	AF146207	Chile	Hommersand <i>et al.</i> (1999)
<i>Myriogramme manginii</i> (Gain) Skottsberg	AF257392	Antártica	Lin <i>et al.</i> (2001)
<i>Palmaria decipiens</i> (Reinsch) RW Ricker	AJ431701	Ilha Rei George, P. Antártica	Não publicado
<i>Palmaria marginicrassa</i> IK Lee	AB275867	Hokkaido, Japão	Não publicado
<i>Palmaria palmata</i> (Linnaeus) Weber & Mohr	U28421	*	Não publicado
<i>Plocamium cartilagineum</i> (Linnaeus) PS Dixon	U26817	Chile	Fredericq & Ramirez (1996)

* Informação não localizada ou inexistente

Tabela 6. continuação

<i>Plocamium cartilagineum</i> (Linnaeus) PS Dixon	U26818	Antártica	Fredericq & Ramirez (1996)
<i>Ptilocladia pulchra</i> Sonder	DQ022811	Australia	Hommersand <i>et al.</i> (2005)
<i>Wildemanian amplissima</i> (Kjellman) Foslie	JN029015	*	Kucera & Saunders (2012)
<i>Porphyra</i> sp.	GU165842	Ilha Falkland	Broom <i>et al.</i> (2010)
<i>Porphyridium aerugineum</i> Geitler	AY119775	*	Yoon <i>et al.</i> (2002)
<i>Sarcothalia scutellata</i> (Hering) Leister	U03088	*	Hommersand <i>et al.</i> (1994)
ITS			
<i>Arthrocladia villosa</i> (Hudson) Duby	Z84459	USA	Peters <i>et al.</i> (1997)
<i>D. chordalis</i> JD Hooker & Harvey	HE866860	*	Não publicado
<i>D. chordalis</i> JD Hooker & Harvey	HE866859	*	Não publicado
<i>D. chordalis</i> JD Hooker & Harvey	AJ229148	Cabo de Hornos	Peters <i>et al.</i> (2000)
<i>Desmarestia anceps</i> Montagne	Z84453	*	Peters <i>et al.</i> (1997)
<i>Desmarestia anceps</i> Montagne	HE866857	*	Não publicado
<i>Desmarestia antarctica</i> RL Moe & PC Silva	HE866858	*	Não publicado
<i>Desmarestia antarctica</i> RL Moe & PC Silva	Z84451	*	Peters <i>et al.</i> (1997)
<i>Desmarestia menziesii</i> J Agardh	AJ243781	Ilha Rei George, P. Antártica	Peters <i>et al.</i> (2000)
<i>Desmarestia menziesii</i> J Agardh	HE866887	*	Não publicado
<i>Himantothallus grandifolius</i> (A Gepp & ES Gepp) Zinova	Z84455	*	Peters <i>et al.</i> (1997)
<i>Himantothallus grandifolius</i> (A Gepp & ES Gepp) Zinova	HE866891	*	Não publicado
<i>Monostroma angicava</i> Kjellman	AF415173	China	Não publicado
<i>Monostroma angicava</i> Kjellman	JQ964324	Japão	Não publicado
<i>Monostroma arcticum</i> Wittrock	AF415171	China	Não publicado
<i>Monostroma grevillei</i> (Thuret) Wittrock	JN093107	China	Não publicado
<i>Monostroma grevillei</i> (Thuret) Wittrock	HQ902006	China	Não publicado
<i>Monostroma grevillei</i> (Thuret) Wittrock	GQ920624	China	Não publicado
<i>Monostroma grevillei</i> (Thuret) Wittrock	GU062560	Japão	Não publicado
<i>Monostroma grevillei</i> (Thuret) Wittrock	AJ000205	Reino Unido	Não publicado

* Informação não localizada ou inexistente

Tabela 6. Continuação

<i>Monostroma nitidum</i> Wittrock	AY026917	Australia	Não publicado
<i>Phaeurus antarcticus</i> Skottsberg	Z84457	*	Peters <i>et al.</i> (1997)
<i>Protomonostroma undulatum</i> (Wittrock) KL Vinogradova	DQ821517	USA	Hanic & Lindstrom (2008)
SSU			
<i>Chondrus ocellatus</i> Holmes	DQ316985	China: Badaguan, Qingdao	Zimin <i>et al.</i> (2007)
<i>Cystoseira hakodatensis</i> (Yendo) Fensholt	AB011425	*	Não publicado
<i>Desmarestia anceps</i> Montagne	HE866895	*	Não publicado
<i>Desmarestia antarctica</i> RL Moe & PC Silva	HE866896	*	Não publicado
<i>Desmarestia menziesii</i> J Agardh	HE866926	*	Não publicado
<i>Ectocarpus siliculosus</i> (Dillwyn) Lyngbye	L43062	*	Tan & Druehl (1996)
<i>Himantothallus grandifolius</i> (A Gepp & ES Gepp) Zinova	HE866931	*	Não publicado
<i>Phaeurus antarcticus</i> Skottsberg	HE866932	*	Não publicado
<i>Gymnogongrus</i> sp.	AY437690	*	Saunders <i>et al.</i> (2004)
<i>Palmaria palmata</i> (Linnaeus) Weber & Mohr	Z14142	Nova Scotia - Canadá	Bird <i>et al.</i> (1992)
<i>Plocamium cartilagineum</i> (Linnaeus) PS Dixon	U09619	*	Saunders & Kraft (1994)
<i>Plocamium maggsiae</i> GW Saunders & KV Lehmkuhl	AY437708	*	Saunders <i>et al.</i> (2004)
<i>Plocamium pacificum</i> Kylin	DQ343665	*	Withall & Saunders (2006)
<i>Porphyra amplissima</i> (Kjellman) Foslie	L36048	Canadá	Oliveira <i>et al.</i> (1995)
<i>Porphyra</i> cf. <i>plocamiestrus</i> RW Ricker	AF175555	*	Muller <i>et al.</i> (2001)
<i>Porphyra</i> sp.	AY292637	Falkland Islands	Wyn <i>et al.</i> (2004)
<i>Sorella repens</i> (Kjellman) Foslie	AF488406	*	Choi <i>et al.</i> (2002)

* Informação não localizada ou inexistente

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O acervo de macroalgas da Antártica, armazenado em sílica gel e mantido no laboratório de Algas Marinhas Edson José de Paula (LAM), reúne cerca de 100 espécimes, dos quais 66 foram analisados, juntamente com 34 espécimes provenientes do Núcleo de Pesquisas em Ficologia do Instituto de Botânica, totalizando 100 amostras analisadas (Tab. 3). Esses espécimes foram selecionados por possuírem vouchers depositados nos herbários (SPF ou SP) e por terem sido previamente identificados através de estudos morfológicos. Para o acervo mantido no LAM, os estudos morfológicos foram realizados previamente por Oliveira *et al.* (2009). Para o acervo do Instituto de Botânica, os estudos morfológicos foram feitos pelos respectivos coletores (Tab. 3).

Quanto ao banco de amostras em sílica gel mantido no LAM, não foi possível analisar todos os espécimes, devido à falta de exemplares para introdução no herbário, o que inviabiliza a validação dos “DNA barcode”, uma vez que toda sequência deve estar ligada a um voucher (SAVOLAINEN *et al.*, 2005) para depósito no BOLD.

Foi obtido um total de 209 sequências (Tab. 7), sendo que 157 sequências são para marcadores moleculares do tipo “DNA barcode”, das quais 95 sequências são para o marcador do cloroplasto UPA (Anexo I), 39 sequências para o marcador mitocondrial *cox1* (Anexo II) e 23 sequências para o *tufA* (Anexo III). Após as análises de agrupamento por Neighbor Joining (NJ) obtidas para as sequências de UPA, *cox1* e *tufA*, foram selecionados espécimes, representando cada táxon, para o sequenciamento dos marcadores ITS (Anexo IV - Chlorophyta, Anexo V - Phaeophyceae), *rbcL* (Anexo VI) ou SSU rDNA (Anexo VII) totalizando 52 sequências para marcadores filogenéticos, uma vez que estes marcadores possuem um maior número de sequências disponíveis para a comparação no GenBank. O resultado da comparação entre as sequências (*rbcL*, SSU rDNA ou ITS) obtidas com as sequências do banco de dados corroboraram a identificação morfológica da maioria dos táxons.

Tabela 7. Espécimes de Rhodophyta, Phaeophyceae e Chlorophyta analisados, com indicação do número de identificação no BOLD e indicação dos marcadores moleculares obtidos neste estudo. O “x” indica sequência obtida no referido marcador.

TÁXONS CHLOROPHYTA	Marcadores					
	"PROCESS ID" NO BOLD	Nº de Campo	“barcode”		filogenéticos	
			UPA	tufA	ITS	
<i>Acrosiphonia arcta</i>	CHANT017-13	NY32	x	x		
<i>Monostroma grevillei</i>	CHANT014-13	FP36	x	x	x	
<i>Monostroma grevillei</i>	CHANT015-13	FP38	x	x	x	
<i>Monostroma grevillei</i>	CHANT016-13	FP39	x	x	x	
<i>Monostroma hariatii</i>	CHANT004-13	FP01	x	x	x	
<i>Monostroma hariatii</i>	CHANT005-13	FP02	x	x	x	
<i>Monostroma hariatii</i>	CHANT006-13	FP03	x	x	x	
<i>Monostroma hariatii</i>	CHANT007-13	FP31	x	x	x	
<i>Monostroma hariatii</i>	CHANT008-13	FP33	x	x	x	
<i>Monostroma hariatii</i>	CHANT009-13	FP34	x	x	x	
<i>Monostroma hariatii</i>	CHANT010-13	FP37		x	x	
<i>Monostroma hariatii</i>	CHANT011-13	NY14	x	x	x	
<i>Monostroma hariatii</i>	CHANT013-13	NY16	x	x	x	
<i>Monostroma hariatii</i>	CHANT012-13	NY15	x			
<i>Prasiola crispa</i>	CHANT002-13	IBT951	x	x		
<i>Prasiola crispa</i>	CHANT001-13	ECO54	x	x		
<i>Prasiola</i> sp.	CHANT003-13	IBT949	x	x		
<i>Protomonostroma rosulatum</i>	CHANT018-13	FP35		x	x	
<i>Protomonostroma rosulatum</i>	CHANT019-13	SP43	x	x	x	
<i>Protomonostroma rosulatum</i>	CHANT020-13	SP50			x	
<i>Protomonostroma rosulatum</i>	CHANT021-13	ECO01	x	x	x	
<i>Protomonostroma rosulatum</i>	CHANT022-13	ECO02	x	x	x	
<i>Ulva bulbosa</i>	CHANT024-13	ECO48	x	x		
<i>Ulva bulbosa</i>	CHANT025-13	IBT944	x	x		
<i>Urospora penicilliformis</i>	CHANT023-13	IBT945	x	x		
PHAEOPHYCEAE			UPA	cox1	ITS	SSU
<i>Adenocystis utricularis</i>	RHANT069-13	NY10	x			x
<i>Adenocystis utricularis</i>	RHANT070-13	NY11	x	x		
<i>Ascoseira mirabilis</i>	RHANT037-13	FP05	x			
<i>Ascoseira mirabilis</i>	RHANT038-13	ECO27	x			
<i>Ascoseira mirabilis</i>	RHANT039-13	SP29	x			x
<i>Ascoseira mirabilis</i>	RHANT040-13	NY01	x	x		
<i>Chordaria linearis</i>	RHANT071-13	SP10	x	x		
<i>Chordaria linearis</i>	RHANT072-13	SP32	x			
<i>Cystosphaera jacquinotii</i>	RHANT073-13	ECO06	x			x
<i>Cystosphaera jacquinotii</i>	RHANT074-13	NY05	x	x		
<i>Desmarestia anceps</i>	RHANT041-13	NY03	x	x	x	
<i>Desmarestia antarctica</i>	RHANT042-13	ECO08	x	x		x

<i>Desmarestia antarctica</i>	RHANT043-13	SP48	x			
<i>Desmarestia antarctica</i>	RHANT044-13	SP60	x			
<i>Desmarestia antarctica</i>	RHANT045-13	SP54	x			
<i>Desmarestia antarctica</i>	RHANT046-13	NY04	x			
<i>Desmarestia antarctica</i>	RHANT047-13	NY09	x	x		
<i>Desmarestia antarctica</i>	RHANT048-13	NY08	x	x	x	
<i>Desmarestia menziesii</i>	RHANT049-13	ECO86	x			
<i>Desmarestia menziesii</i>	RHANT050-13	ECO87	x	x	x	
<i>Desmarestia menziesii</i>	RHANT051-13	ECO09	x	x	x	
<i>Desmarestia menziesii</i>	RHANT052-13	NY28	x		x	
<i>Desmarestia menziesii</i>	RHANT053-13	FP11	x			
<i>Desmarestia menziesii</i>	RHANT054-13	IBT946	x			
<i>Desmarestia menziesii</i>	RHANT055-13	NY07	x	x		
<i>Desmarestia menziesii</i>	RHANT056-13	SP11a	x	x		
<i>Desmarestia menziesii</i>	RHANT057-13	SP12	x	x		
<i>Desmarestia menziesii</i>	RHANT058-13	SP18a	x	x		
<i>Desmarestia menziesii</i>	RHANT059-13	SP23	x	x		
<i>Desmarestia menziesii</i>	RHANT060-13	SP37	x	x	x	
<i>Desmarestia menziesii</i>	RHANT061-13	SP69	x			
<i>Desmarestia menziesii</i>	RHANT062-13	SP36	x			
<i>Himantothallus grandifolius</i>	RHANT063-13	NY02	x	x		
<i>Himantothallus grandifolius</i>	RHANT064-13	FP15	x			
<i>Himantothallus grandifolius</i>	RHANT065-13	NY12	x	x	x	
<i>Phaeurus antarcticus</i>	RHANT066-13	SP72r	x			
<i>Phaeurus antarcticus</i>	RHANT067-13	SP74a	x			
<i>Phaeurus antarcticus</i>	RHANT068-13	NY06	x	x	x	
RHODOPHYTA			UPA	cox1	rbcL	SSU
<i>Acanthococcus antarcticus</i>	RHANT036-13	IBT935	x		x	
<i>Callophyllis</i> sp.	RHANT015-12	ECO81	x		x	
<i>Corallinales</i>	RHANT008-12	ECO85	x			
<i>Curdiea racovitzae</i>	RHANT030-12	ECO34	x			
<i>Curdiea racovitzae</i>	RHANT031-12	ECO17	x			
<i>Curdiea racovitzae</i>	RHANT028-12	NY17	x		x	
<i>Curdiea racovitzae</i>	RHANT029-12	ECO47	x			
<i>Georgiella confluens</i>	RHANT009-12	NY26	x	x	x	
<i>Gigartina skottsbergii</i>	RHANT016-12	ECO88	x	x	x	x
<i>Gigartina skottsbergii</i>	RHANT017-12	NY25	x	x		
<i>Gymnogongrus antarcticus</i>	RHANT024-12	ECO46	x	x	x	x
<i>Iridaea cordata</i>	RHANT023-12	SP64	x	x		
<i>Iridaea cordata</i>	RHANT018-12	SP7C	x	x		
<i>Iridaea cordata</i>	RHANT019-12	ECO41	x	x	x	x
<i>Iridaea cordata</i>	RHANT020-12	NY20	x	x		
<i>Iridaea cordata</i>	RHANT021-12	NY24	x	x	x	
<i>Iridaea cordata</i>	RHANT022-12	NY19	x			
<i>Myriogramme manginii</i>	RHANT032-12	SP77	x	x	x	x

<i>Myriogramme manginii</i>	RHANT033-12	SP78	x			
<i>Myriogramme manginii</i>	RHANT034-12	IBT936	x	x	x	
<i>Palmaria decipiens</i>	RHANT010-12	SP16b	x		x	x
<i>Palmaria decipiens</i>	RHANT011-12	SP52a	x			
<i>Palmaria decipiens</i>	RHANT012-12	SP61	x			
<i>Palmaria decipiens</i>	RHANT013-12	ECO40	x	x		
<i>Palmaria decipiens</i>	RHANT014-12	IBT943	x	x		
<i>Palmaria decipiens</i>	RHANT009-12	NY21	x			
<i>Plocamium aff. cartilagineum</i>	RHANT025-12	NY22	x	x		
<i>Plocamium aff. cartilagineum</i>	RHANT026-12	ECO89	x	x	x	x
<i>Plocamium aff. cartilagineum</i>	RHANT027-12	FP12	x			
<i>Plumariopsis peninsularis</i>	RHANT035-13	FP13	x		x	
<i>Pyropia endiviifolia</i>	RHANT001-12	ECO55	x	x		
<i>Pyropia endiviifolia</i>	RHANT002-12	ECO68	x	x	x	x
<i>Pyropia endiviifolia</i>	RHANT003-12	NY23	x			
<i>Wildemanian plocamiestris</i>	RHANT004-12	ECO73	x	x	x	
<i>Wildemanian plocamiestris</i>	RHANT005-12	SP9b	x			
<i>Wildemanian plocamiestris</i>	RHANT006-12	ECO23		x		x
<i>Wildemanian plocamiestris</i>	RHANT007-12	ECO44		x		
Total		100	157	52		

4.1. Análises para os marcadores “DNA barcoding”

4.1.1 UPA

Dos 100 espécimes analisados foram obtidas sequências de UPA para 95 espécimes, cobrindo 15 ordens, incluindo nove famílias de Rhodophyta, quatro famílias de Phaeophyceae e cinco famílias de Chlorophyta, totalizando 27 espécies das 42 citadas para a Baía do Almirantado no trabalho de Oliveira *et al.* (2009). Para cinco espécimes, as sequências apresentaram-se contaminadas ou de baixa qualidade. É possível que contaminantes epífitas ou endófitos presentes nessas amostras tenham sido amplificados preferencialmente, ou em conjunto com o organismo alvo, devido à alta universalidade dos primers. Para este marcador, não foi observada divergência intraespecífica em nenhum dos grupos estudados.

As análises geradas para o marcador UPA utilizaram uma porção de 354 nucleotídeos, alinhando 100 sequências de espécies de Rhodophyta, Phaeophyceae

e Chlorophyta que ocorrem na Baía do Almirantado e sequências disponíveis do GenBank. A árvore, segundo a análise de NJ (Fig. 5), mostrou a formação de dois agrupamentos monofiléticos para Phaeophyceae e Chlorophyta e um agrupamento parafilético para as espécies de Rhodophyta. O clado que inclui Rhodophyta e Phaeophyceae mostra a formação de um subclado de Phaeophyceae dentro de Rhodophyta, uma vez que o cloroplasto de algas pardas foi originado a partir de endossimbiose secundária com uma alga vermelha (OLIVEIRA & BHATTACHARYA, 2000).

Nove espécies de Phaeophyceae, distribuídas em cinco famílias, formaram um agrupamento monofilético com alto suporte nas análises de Bootstrap.

As espécies de Desmarestiaceae se agruparam com suporte moderado de Bootstrap: *Desmarestia menziesii* representada por 13 espécimes, *Phaeurus antarcticus* representada por três espécimes, *Himantothallus grandifolius* representada por três espécimes, *Desmarestia antarctica* representada por sete espécimes e *Desmarestia anceps* representada por um espécime. A divergência intergenérica variou de 1,2% entre *H. grandifolius* e *D. antarctica* a 2,9% entre *P. antarcticus* e *D. anceps*.

Adenocystis utricularis (Adenocystaceae), representada por dois espécimes, e *Chordaria linearis* (Chordariaceae), também representada por dois espécimes, formaram um agrupamento com suporte moderado de Bootstrap - ambas são Ectocarpales. A divergência intergenérica foi de 1,8% entre *Adenocystis utricularis* e *Chordaria linearis*.

Ascoseira mirabilis (Ascoseiraceae), representada por quatro espécimes, e *Cystosphaera jacquinotii* (Seirococcaceae), representada por dois espécimes, formaram em cada família um agrupamento com alto suporte de Bootstrap.

Quatorze espécies de Rhodophyta, distribuídas em dez famílias, sendo uma espécie de Corallinales, formaram um agrupamento parafilético; no entanto, o suporte nas análises de Bootstrap foi muito baixo. Todos os espécimes da mesma espécie agruparam-se com alto suporte de Bootstrap.

Um único espécime (ECO85) da ordem Corallinales foi analisado neste estudo, para o qual foi obtida somente uma sequência de UPA, não sendo possível identificar o espécime a nível específico. Este formou um agrupamento com a

espécie *Curdiea racovitzae* (Gracilariaceae), que está representada por três espécimes.

Myriogramme manginii (Delesseriaceae), representada por três espécimes, formou um agrupamento com as espécies *Georgiella confluens* e *Plumariopsis peninsularis* (Wrangeliaceae), ambas representadas por um único espécime. O clado inclui as espécies de Ceramiales; no entanto não apresentou suporte nas análises de Bootstrap.

As espécies de Gigartinales formaram um agrupamento com baixo suporte de Bootstrap, onde as espécies *Acanthococcus antarcticus* (Cystocloniaceae), *Callophyllis* sp. (Kallymeniaceae) e *Gymnogongrus antarcticus* (Phyllophoraceae) estão representadas por um único espécime. As espécies de Gigartinaceae *Gigartina skottsbergii*, representada por dois espécimes, e *Iridaea cordata*, representada por seis espécimes, formaram um agrupamento com suporte moderado de Bootstrap.

Bangiaceae e Palmariaceae formaram um agrupamento, mas sem suporte de Bootstrap; no entanto, os espécimes da mesma espécie formaram um agrupamento com alto suporte de Bootstrap. Dentro de Bangiaceae a espécie *Pyropia endivifolia*, representada por três espécimes, agrupou com a espécie *Wildemaniania plocamiestris*, representada por dois espécimes. A divergência entre *Pyropia endivifolia* e *Wildemaniania plocamiestris* foi de 1,8% que corresponde a 6 pb.

No agrupamento monofilético com alto suporte de Bootstrap formado por Chlorophyta, estão representadas 13 espécies de algas verdes distribuídas em quatro famílias.

As espécies de Prasiolaceae se agruparam com alto suporte nas análises de Bootstrap, em que *Prasiola crispa* está representada por três espécimes da Baía do Almirantado, sendo dois espécimes de *Prasiola crispa* e um espécime de *Prasiola* sp. A divergência interespecífica entre *Prasiola crispa* e *Prasiola* sp. foi de 0,9%, o que corresponde a 3 pb.

As espécies de Ulvaceae formaram um agrupamento com alto suporte de Bootstrap, em que a espécie *Ulva bulbosa* está representada por dois espécimes da Baía do Almirantado e um espécime de *Ulva* sp. (EF426568) proveniente do Hawai. Estas apresentaram uma divergência de 0,3% (1 pb).

Urospora peniciliformis, *Protomonostroma rosulatum* e *Protomonostroma undulatum* (HQ603371) formaram um agrupamento com suporte moderado de Bootstrap com a espécie *Acrosiphonia arcta*, todas Ulotrichaceae. A espécie *Urospora peniciliformis* está representada por um espécime da Baía do Almirantado e um espécime proveniente do Canadá; com divergência intrerespecífica de 0,9% (3 pb). *Acrosiphonia arcta*, representada por um espécime da Baía do Almirantado, e um espécime *Acrosiphonia* sp. (HQ603320), do Canadá, apresentaram uma divergência interespecífica de 1,2% (4 pb).

Para a espécie *Protomonostroma rosulatum*, foram sequenciados três espécimes que apresentaram uma divergência interespecífica com *Protomonostroma undulatum* (HQ610227), do Canadá, de 1,2%, diferença que corresponde a 4 pb (entretanto, 2 desses pares de base estão como N, ou seja, não determinados na sequência depositada no GenBank).

A região do marcador UPA utilizada possui cerca de 410 pb (incluindo os primers); no entanto, para a *Protomonostroma rosulatum* a sequência de UPA apresentou aproximadamente 760 pb. A partir da comparação entre as sequências de *Protomonostroma rosulatum* obtidas neste trabalho e as sequências de *Protomonostroma undulatum* (HQ610227) do banco de dados, podemos verificar a presença de um íntron do grupo I com aproximadamente 360 pb na sequência de *Protomonostroma rosulatum*.

As espécies de Gomontiaceae formaram um agrupamento com alto suporte de Bootstrap, em que *Monostroma hariotti* está representada por nove espécimes e, *Monostroma grevillei*, representada por três espécimes. A divergência interespecífica entre *Monostroma hariotti* e *Monostroma grevillei* foi de 0,6% (2 pb).

O marcador UPA, dentre os marcadores do tipo “DNA barcode” propostos, é o único que permite uma análise em conjunto de Rhodophyta, Chlorophyta e Phaeophyceae, visto que pode ser usado em diferentes linhagens de organismos fotossintetizantes e apresentar divergência suficiente para separar as espécies nessas linhagens (SHERWOOD & PRESTING, 2007).

A grande vantagem do UPA é a sua universalidade. Com um único par de primers podem ser obtidas sequências de uma ampla gama taxonômica, incluindo algas verdes, vermelhas, pardas, diatomáceas, e cianobactérias (SHERWOOD & PRESTING, 2007). Porém, a presença de íntrons no gene, como já descrito em

Saunders & Kucera (2010) para alguns gêneros dentro da linhagem das algas verdes e como verificado neste trabalho, pode dificultar a amplificação e diminuir a viabilidade de uso deste marcador como “DNA barcode”. Além disso, o UPA é um marcador mais conservado do que o *cox1*, o que pode levar a subestimar a diversidade de espécies proximamente relacionadas (SHERWOOD *et al.*, 2008). Muitas vezes, a variação entre as espécies é de apenas um ou dois nucleotídeos. Entretanto, o UPA foi utilizado com sucesso na separação das espécies de Rhodophyta, Chlorophyta e Phaeophyceae analisadas nesse trabalho, o que foi corroborado com o uso de outros marcadores.

Figura 5. Análise de Neighbor Joining para as sequências do marcador UPA, mostrando o agrupamento de espécies de macroalgas de Rhodophyta, Phaeophyceae e Chlorophyta que ocorrem na Baía do Almirantado. Nos ramos estão plotados somente os valores de Bootstrap maiores do que 60. As amostras obtidas neste trabalho estão indicadas pelo número de campo em negrito, cujas informações estão na Tabela 3. As sequências retiradas do GenBank estão representadas pelo número de acesso seguidas da localidade, cujas informações estão na Tabela 6. (Localidade: CA – Canadá)

4.1.2 *cox1*

A região 5' do gene *cox1* foi sequenciada para somente 39 amostras das 100 amostras estudadas, cobrindo, no total, seis ordens e sete famílias de Rhodophyta e Phaeophyceae; sendo 19 espécimes de Phaeophyceae, correspondendo a nove espécies das 14 espécies citadas, e 20 espécimes de Rhodophyta, correspondendo a nove espécies das 21 citadas para o local no trabalho de Oliveira *et al.* (2009). O baixo número de sequências obtidas se deu pela dificuldade de amplificação desse marcador devido à ausência de “primers” universais. Embora “primers” alternativos tenham sido testados, não foi obtido sucesso para a maioria das amostras. Dificuldades associadas à amplificação e à falta de variabilidade intraespecífica levaram à não utilização do marcador *cox1* como “DNA barcode” em algas verdes (SAUNDERS & KUCERA 2010; HALL *et al.*, 2010).

As análises geradas para o marcador *cox1* utilizaram uma porção de 620 nucleotídeos da região 5' do gene, alinhando 47 sequências referentes a espécies de Rhodophyta e Phaeophyceae que ocorrem na Baía do Almirantado e sequências disponíveis do GenBank. A árvore da análise de NJ mostrou a formação de dois clados monofiléticos, Rhodophyta e Phaeophyceae.

No clado formado por Rhodophyta estão distribuídas 14 espécies em sete famílias, nas quais houve a formação de agrupamentos internos, a maioria com alto suporte das análises de Bootstrap.

As espécies de Gigartinaceae se agruparam com suporte moderado de Bootstrap, estando as espécies *Iridaea cordata* representada por cinco espécimes e *Gigartina skottsbergii* representada por dois espécimes. A divergência interespecífica foi de 10,7% entre *Gigartina skottsbergii* e *Iridaea cordata*. Por sua vez, a espécie *Gymnogongrus antarcticus* (Phyllophoraceae), está representada por um espécime. A divergência interespecífica foi de 14,9% entre *Gigartina skottsbergii* e *Gymnogongrus antarcticus* e de 14,7% entre *Gymnogongrus antarcticus* e *Iridaea cordata*. Não foi observada divergência intraespecífica.

Dois espécimes de *Plocamium aff. cartilagineum* (Plocamiaceae) da Baía do Almirantado se agruparam com *P. maggsie* (JF271602) e outro *P. cartilagineum* (JF271583) da Espanha. A divergência entre *Plocamium aff. cartilagineum* da Antártica e *Plocamium cartilagineum* da Espanha foi de 5,7% e, entre *Plocamium aff.*

cartilagineum (Antártica) e *P. maggsie*, de 4,9%. Não foi observada divergência intraespecífica para os dois espécimes da Antártica.

Um único espécime de *Georgiella confluens* (Wrangeliaceae) da Baía do Almirantado foi sequenciado neste trabalho. Enquanto que para a espécie *Myriogramme manginii* (Deleceriaceae) dois espécimes foram sequenciados, estes se agruparam e não apresentaram variação intraespecífica.

As espécies de Palmariaceae agruparam com alto suporte de Bootstrap, estando *Palmaria decipiens* representada por dois espécimes da Baía do Almirantado, agrupando-se com *P. palmata* (GU224114) e *P. mollis* (GU224108), ambas do Canadá. A divergência interespecífica entre *P. decipiens* e *P. mollis* foi de 4,7% e, entre *P. decipiens* e *P. palmata*, de 11%. Houve uma divergência intraespecífica entre os espécimes da Baía do Almirantado de 0,9%, que corresponde a 5 pb.

As espécies de Bangiaceae se agruparam com alto suporte de Bootstrap, estando *Pyropia endivifolia* representada por dois espécimes; *Wildemanian plocamiestris*, por três espécimes; e um espécime de *Wildemanian amplissima* (HQ544924), do Canadá. A divergência interespecífica entre *W. amplissima* e *W. plocamiestris* foi de 1,8% e entre *P. endivifolia* e *W. plocamiestris* foi de 15,7%. *W. plocamiestris* apresentou uma divergência intraespecífica de 0,2%.

No clado formado por Phaeophyceae estão distribuídas oito espécies em cinco famílias, com a formação de agrupamentos internos, a maioria com alto suporte das análises de Bootstrap.

Ascoseira mirabilis (Ascoseiraceae), representada por um espécime, agrupou com um espécime de *Ascoseira mirabilis* (EU681391) da Antártica com alto suporte de Bootstrap. Estes não apresentaram divergência intraespecífica.

Adenocystis utricularis (Adenocystaceae) e *Chordaria linearis* (Chordariaceae), ambas representadas por um espécime, agruparam com suporte moderado de Bootstrap.

Embora com um baixo suporte de Bootstrap, as espécies de Desmarestiales formaram um agrupamento parafilético com a inclusão no agrupamento de *Cystosphaera jacquinotii* (Seirococcaceae), que está representada por um único espécime, agrupada com *Phaeurus antarcticus*.

As espécies de Desmarestiaceae *Desmarestia anceps*, representada por um espécime, formou um agrupamento com *Himantothallus grandifolius* e *Desmarestia antarctica*. *Himantothallus grandifolius*, representado por dois espécimes, agrupou com um espécime de *Himantothallus grandifolius* (GQ368262), também da Antártica (Terre Adélie). E *Desmarestia menziesii*, representada por oito espécimes, agrupou com um espécime de *Desmarestia menziesii* (GQ368260), também da Antártica (Terre Adélie), tendo sido observada uma divergência intraespecífica de 0,4%.

Para Desmarestiaceae, a divergência intergenérica variou de 7,0%, entre *H. grandifolius* e *D. anceps*, a 15,2% entre *H. grandifolius* e *D. menziesii*.

Figura 6. Análise de Neighbor Joining baseada nas sequências do marcador *cox1*, mostrando o agrupamento de espécies de macroalgas de Rhodophyta e Phaeophyceae que ocorrem na Baía do Almirantado. Nos ramos estão plotados somente os valores de Bootstrap maiores do que 60. As amostras obtidas neste trabalho estão indicadas pelo número de campo cujas informações estão na Tabela 3. As sequências retiradas do GenBank estão representadas pelo número de acesso seguidas da localidade, cujas informações estão na Tabela 6. (Localidades: AT – Antártica, CA – Canadá, ES – Espanha, RU - Reino Unido)

O mesmo padrão de agrupamento do UPA foi obtido com o *cox1* (Fig. 6), embora a amplificação e sequenciamento desse marcador tenha se mostrado mais

difícil para alguns grupos de algas, posto que foi necessária a utilização de diferentes conjuntos de “primers” (Tab. 4). Ainda assim, não foi possível sequenciar todos os espécimes para este marcador, especialmente para as espécies que estavam há mais tempo em sílica gel (coletas de 2006/2007).

As sequências do *cox1* foram mais variáveis em nível intergenérico do que as do UPA. Essa maior variação entre as sequências do *cox1* é esperada, uma vez que o genoma mitocondrial apresenta taxas maiores de mutação no DNA do que o genoma do cloroplasto (AVISE, 1994).

4.1.3 *tufA*

Dos 100 espécimes analisados, 25 espécimes são de Chlorophyta dos quais foram obtidas sequências para 23 espécimes, cobrindo quatro ordens, incluindo cinco famílias de Chlorophyta. Estas correspondem a seis espécies das sete espécies citadas para a Baía do Almirantado no trabalho de Oliveira *et al.* (2009). Para dois espécimes as sequências estavam contaminadas.

Desses 23 espécimes analisados, três espécimes correspondem a *Monostroma grevillei*; entretanto, estes espécimes não foram coletados na Baía do Almirantado, mas sim na Ilha Deception, distante cerca de 90 km. Ainda, um espécime (*Prasiola* sp.) da Baía do Almirantado não agrupou com nenhuma das espécies conhecidas para o local, indicando a ocorrência de uma segunda espécie de *Prasiola*. Assim, foram obtidas sequências de *tufA* para oito espécies de Chlorophyta.

As análises geradas para o marcador *tufA* utilizaram uma porção de 795 nucleotídeos, alinhando sequências referentes a espécies de Chlorophyta que ocorrem na Antártica e sequências disponíveis no GenBank. A árvore gerada pela análise de NJ mostra o agrupamento dessas espécies (Fig. 7).

Monostroma hariotti (Gomontiaceae), representada por nove espécimes (alguns coletados na Ilha Deception), e *Monostroma grevillei*, representada por três espécimes, se agruparam com alto valor de Bootstrap. A divergência intraespecífica de *Monostroma hariotti* foi de 0,3% (2 pb). A divergência interespecífica entre *Monostroma hariotti* e *Monostroma grevillei* foi de 7,6% (54 pb).

Acrosiphonia arcta (Ulotrichaceae), representada por um espécime da Baía do Almirantado, se agrupou com dois espécimes do GenBank, sendo um *Acrosiphonia arcta* e outro *Acrosiphonia* sp. Há uma divergência intraespecífica de 1,7% (13 pb) entre *Acrosiphonia arcta* (Antártica) e *Acrosiphonia arcta* (HQ610214) do Canadá, e divergência interespecífica de 5,5% (45 pb), entre *Acrosiphonia arcta* (Antártica) e *Acrosiphonia* sp, também do Canadá.

Urospora peniciliformis (Ulotrichaceae) está representada por um espécime da Baía do Almirantado e um espécime do GenBank proveniente do Canadá identificada como *Urospora* sp2 *peniciliformis*. Estas apresentaram uma divergência intraespecífica de 0,3% (2 pb). Para *Protomonostroma rosulatum* foram sequenciados quatro espécimes, com uma divergência interespecífica com *Protomonostroma undulatum* (HQ610227) do Canadá de 3,8%, (30 pb).

Ulva bulbosa (Ulvaceae) está representada por dois espécimes da Baía do Almirantado e agrupou com outros dois espécimes do gênero *Ulva* do GenBank. A divergência interespecífica que variou de 1,9 a 2,9% (15 a 23 pb), respectivamente.

Prasiola crispa (Prasiolaceae) está representada por dois espécimes da Baía do Almirantado. Estes dois espécimes se agruparam com um espécime do GenBank (*Prasiola stipitata*) e com a espécie *Prasiola* sp., também da Baía do Almirantado. A divergência interespecífica entre *Prasiola crispa* e *Prasiola* sp. foi de 5,7% (45 pb).

O agrupamento das espécies de Chlorophyta, formado a partir das sequências do marcador *tufA*, apresentou topologia semelhante ao agrupamento formado pelas sequências do marcador UPA, embora o marcador *tufA* tenha apresentado valores de divergências intergenérica e intraespecíficas maiores.

Figura 7. Análise de Neighbor Joining para as sequências do marcador *tufA*, mostrando o agrupamento de espécies de Chlorophyta que ocorrem na Baía do Almirantado. Nos ramos estão plotados somente os valores de Bootstrap superiores a 70. As amostras estão indicadas pelo número de campo em negrito cujas informações estão na Tabela 3, e as sequências retiradas do GenBank estão representadas pelo n^o de acesso (Tabela 6) seguida da localidade. (Localidade: CA – Canadá)

4.2. Divergência intraespecífica e intergenérica para os “DNA barcodes”

Comparando todas as amostras utilizadas nas análises, as divergências intergenéricas/interespecíficas e intraespecíficas foram calculadas (Tab. 8).

Para o marcador UPA, que inclui Rhodophyta, Phaeophyceae e Chlorophyta numa matriz de 354 pb, a divergência intergenérica/interespecífica observada variou

de 0,6 a 15,8%, que corresponde de 2 a 59 pares de base, sem divergência intraespecífica nos espécimes analisados.

As divergências intergenéricas/interespecíficas calculadas a partir da matriz com 620 pb para o marcador *cox1* foram de 1,8 a 24,6% que corresponde de 11 a 152 pb (enquanto que a divergência intraespecífica variou de 0 a 4 pb (0-0,7%), incluindo Rhodophyta e Phaeophyceae.

No trabalho de Saunders (2005), a divergência interespecífica mínima proposta para a separação das espécies de Rhodophyta (Florideophyceae) utilizando o *cox1* foi de 4,5%. Em Bangiophyceae as divergências interespecíficas mínimas encontradas no trabalho de Robba *et al.* (2006) e Milstein *et al.* (2011) foram de 6,8% e 9,1%, respectivamente. Porém, a divergência mínima calculada neste estudo foi mais baixa para as espécies de Bangiophyceae (*Wildemanina*), sendo de 1,8% (11 pb), enquanto que em Florideophyceae a divergência mínima encontrada foi de 4,7% para o gênero *Palmaria*.

Para o marcador *tufA*, incluindo espécimes de Chlorophyta, numa matriz de 795 pb, a divergência intergenérica/interespecífica variou de 3,8 a 30,5% (30–249 pb) e a divergência intraespecífica variou de 0 a 1,7% (0–13 pb), número maior que o encontrado no trabalho de Saunders & Kucera (2010), que encontraram valores de divergência intergenérica entre 0,91 e 14,6% e divergência intraespecífica variando de 0,13 a 0,39%.

Para o gênero *Acrosiphonia* a divergência intraespecífica apresentada por Saunders & Kucera (2010) foi de 0-0,13% e a divergência interespecífica foi de 1,95-11,24%. Neste trabalho a divergência entre as espécies de *Acrosiphonia* do Canadá e Antártica foi de 1,7%. Todos os outros valores encontram-se próximos ao encontrados por Saunders & Kucera (2010).

Como esperado para o marcador UPA, os valores de divergências intraespecífica e intergenéricas/interespecíficas apresentaram-se baixos, o que, segundo Sherwood *et al.* (2010) pode subestimar a diversidade e apresentar dificuldades na separação das espécies proximamente relacionadas.

Tabela 8. Divergência intergenérica/interespecíficas e intraespecífica em % e pares de bases (pb) para os marcadores *cox1*, UPA e *tufA* entre as amostras sequenciadas neste estudo.

	Divergência Intergenérica/interespecífica			Divergência Intraespecífica		
	UPA	<i>cox1</i>	<i>tufA</i>	UPA	<i>cox1</i>	<i>tufA</i>
Chlorophyta	0,6 - 15,8 % 2 - 54 pb	—	3,8 - 30,5 % 30 - 242 pb	0	—	0 - 1,7 % 0 - 13 pb
Rhodophyta	1,8 - 16,8 % 4 - 59 pb	1,8 - 24,8 % 11 - 152 pb	—	0	0 - 0,9 % 0 - 6 pb	—
Phaeophyceae	1,5 - 8,6 % 5 - 30 pb	7,0 - 23,6 % 43 - 146 pb	—	0	0 - 0,4 % 0 - 2 pb	—

A região 5' do gene *cox1* tem sido usada como principal marcador barcode em animais, algas vermelhas e pardas por oferecer resolução adequada em nível de espécie (HERBERT *et al.*, 2003; SAUNDERS, 2005; LANE *et al.*, 2007). No entanto, esse marcador, conforme demonstrado por Costa *et al.* (2012), requer uma quantidade 2,5 vezes maior de reagentes para obtenção de sequências em relação ao UPA. Além disso, diferentes pares de primers podem ser necessários para amplificação nas diferentes linhagens, uma vez que existe variação nas regiões dos primers (MILSTEIN *et al.*, 2011). Neste trabalho, houve uma maior facilidade para amplificação do UPA, dado o maior número de sequências obtidas em relação ao marcador *cox1*, 95/39, respectivamente. Embora o marcador *cox1* tenha apresentado valores de divergências mais adequados, é necessária a obtenção de mais sequências de *cox1* para as espécies antárticas a fim de estabelecer os limites de divergências para essas espécies.

Dificuldades no uso do *cox1* como “DNA barcode” em algas verdes, levaram ao uso do marcador *tufA* como principal “DNA barcode” em Chlorophyta (SAUNDERS & KUCERA 2010). Neste trabalho as sequências para este marcador foram de fácil obtenção visto que para todos os 25 espécimes amplificações foram obtidas. Entretanto, para duas espécies apareceram contaminantes. Os valores de divergências encontrados foram similares ao observados por Saunders & Kucera (2010).

4.3. Análises para os marcadores filogenéticos

Como o uso de “DNA barcodes” é ainda recente e existem poucas sequências disponíveis no BOLD ou GenBank, para confirmar a identificação feita com base morfológica, foram geradas também sequências a partir de marcadores normalmente utilizados para análises filogenéticas e que possuem um número significativo de sequências nos bancos de dados com o propósito de permitir uma comparação mais ampla. Por isso, para cada grupo foram utilizados os marcadores mais comumente usados e disponíveis nos bancos de dados.

4.3.1 ITS - Chlorophyta

A ordem Ulotrichales inclui algas com única camada de células, que atualmente são atribuídos aos gêneros *Monostroma*, *Gayralia* ou *Protomonostroma*, formando o complexo *Monostroma* (LELIAERT *et al.*, 2012; PELLIZZARI *et al.*, 2013).

As algas monostromáticas da Baía do Almirantado identificadas por Oliveira *et al.*, (2009), *Monostroma hariatii* e *Protomonostroma undulatum*, foram analisadas juntamente com três espécimes de *Monostroma grevillei* coletados na Ilha Deception. Para estes foram sequenciadas as regiões espaçadoras ITS1, ITS2 e a região gênica 5.8S (ITS), totalizando 17 espécimes sequenciados dos 18 que representam algas monostromáticas deste estudo.

As análises geradas para o ITS utilizaram uma porção de 525 nucleotídeos, alinhando 27 sequências referentes a espécies de algas monostromáticas que ocorrem na Antártica e sequências disponíveis do GenBank. A árvore, segundo a análise de NJ (Fig. 8), apresentou uma topologia semelhante às análises obtidas com as sequências de UPA e *tufA*, mostrando a formação de dois agrupamentos distintos com alto suporte de Bootstrap, sendo um agrupamento com as espécies de Gomontiaceae e outro com as espécies de Ulotrichaceae.

As espécies de Ulotrichaceae formaram um agrupamento com alto suporte Bootstrap, onde *Protomonostroma rosulatum*, representada por cinco espécimes,

agrupou com a espécie *Protomonostroma undulatum* (DQ821517 – USA). A divergência para o ITS entre *Protomonostroma rosulatum* e *Protomonostroma undulatum* foi de 1,4 % (7 pb).

As espécies de *Monostroma* formaram um agrupamento com alto suporte de Bootstrap, sendo que os nove espécimes de *M. hariotii* analisados formaram um agrupamento com alto suporte de Bootstrap e os espécimes de *M. grevillei* formaram um agrupamento com *M. nitidum* (AY026917) e *M. arcticum* (AF415171). *Monostroma grevillei* (Ilha Deception) diverge em 0,2 % (1 pb) em relação a *Monostroma grevillei* (HQ902006) da China.

Figura 8. Análise de Neighbor Joining baseada nas sequências do marcador ITS, mostrando o agrupamento de espécies de Chlorophyta monostromáticas da Baía do Almirantado. Nos ramos estão plotados somente os valores de Bootstrap maiores do que 70. As amostras obtidas neste trabalho estão indicadas pelo número de campo em negrito cujas informações estão na Tabela 3. As sequências retiradas do GenBank estão representadas pelo n° de acesso cujas informações estão na Tabela 6. (Localidades: AU – Austrália, CHI – China, JA – Japão, RU - Reino Unido, USA - Estados Unidos).

4.3.2 ITS - Phaeophyceae

A ordem desmarestiales no continente antártico é representada por cinco espécies: *Desmarestia anceps*, *D. antarctica*, *D. menziesii*, *Himantothallus grandifolius* e *Phaeurus antarcticus* (LAMB & ZIMMERMAN, 1977). Para cada espécie foi sequenciada a região espaçadora ITS2, totalizando oito espécimes sequenciados, entre as cinco espécies.

Foram geradas análises a partir de uma porção de 332 nucleotídeos do ITS2, alinhando 27 sequências referentes a espécies de Desmarestiales e uma sequência de *Arthrocladia villosa* (Z84459). A árvore segundo a análise de NJ (Fig. 9) mostrou a formação de um agrupamento principal com suporte moderado que inclui as espécies de *Desmarestia* e *Himantothallus grandifolius*.

Himantothallus grandifolius (um único espécime), apresentou 100% de identidade com as sequências de *Himantothallus grandifolius* (Z84455 e HE866892) e agrupou com a espécie *D. anceps* divergindo em 8,2 % (27 pb).

D. antarctica apresentou uma divergência intraespecífica de 0,8 % (2 pb) de *D. antarctica* (HE866858 e Z84451).

D. menziesii (quatro espécimes) apresentou 100% de identidade com as sequências de *D. menziesii* (AJ243781 e HE866887). Estas formaram um agrupamento com *D. chordalis* (HE866860, HE866859 e AJ229148). *Desmarestia menziesii* diverge em 2,6% (7 pb) de *D. chordalis*.

O material de *Phaeurus antarcticus* que analisamos agrupou com *Phaeurus antarcticus* (Z844577) apresentando uma divergência de 4,7% (12 pb).

Figura 9. Análise de Neighbor Joining baseada nas sequências da região espaçadora ITS2, mostrando o agrupamento de espécies de Desmarestiales que ocorrem na Baía do Almirantado. Nos ramos estão plotados os valores de Bootstrap maiores que 70. As amostras obtidas neste trabalho estão indicadas pelo número de campo em negrito cujas informações estão na Tabela 3. As sequências retiradas do GenBank estão representadas pelo n° de acesso. (Localidades: AT – Antártica, CAH - Cabo de Hornos, USA - Estados Unidos)

4.3.3 *rbcL* – Rhodophyta

Em Oliveira *et al.* (2009) foram citadas para Baía do Almirantado 21 espécies de Rhodophyta. Neste trabalho foram obtidas sequências de *rbcL* para 13 espécies, que estão distribuídas em 10 famílias de Rhodophyta. As análises geradas para o marcador *rbcL* utilizaram uma porção de 1200 nucleotídeos, alinhando sequências referentes a espécies de Rhodophyta que ocorrem na Baía do Almirantado e outras sequências selecionadas disponíveis do GenBank. A árvore gerada pela análise de NJ mostra o agrupamento dessas espécies (Fig. 10).

As espécies de Rhodophyta distribuídas em dez famílias formam um agrupamento monofilético, onde houve a formação de agrupamentos internos, a maioria com alto suporte das análises de Bootstrap.

As espécies de Gigartinaceae se agruparam com alto suporte de Bootstrap. *Iridaea cordata*, representada por dois espécimes, agrupou com duas espécies de *Iridaea cordata*, sendo uma da Nova Zelândia (GQ323780) e uma do Chile (AF146207). Por sua vez, a espécie *Gigartina skottsbergii* representada por um espécime, agrupou com *G. skottsbergii* (AF146296) da Ilha Rei George, Antártica.

As espécies de Phyllophoraceae se agruparam com alto suporte de Bootstrap. *Gymnogongrus antarcticus*, representada por um espécime, agrupou com *G. antarcticus* (U22334) da Antártica, que agruparam com *Ahnfeltiopsis humilis* (U22306) e *Gymnogongrus turquetii* (U22510).

A espécie *Acanthococcus antartcticus* (Cystocloniaceae) se agrupou com alto suporte de Bootstrap com *Cystoclonium purpureum* (KC130217).

Um espécime de *Plocamium aff. cartilagineum* (Plocamiaceae) se agrupou com alto suporte de Bootstrap com *Plocamium cartilagineum* (U26818) da Antártica e com *Plocamium cartilagineum* (U26817) do Chile.

As espécies de Delesseriaceae se agruparam com alto suporte de Bootstrap. *Myriogramme manginii*, representada por dois espécimes, agrupou com *Myriogramme manginii* (AF257392) da Antártica.

A espécie *Curdiea racovitzae* (Gracilariaceae) se agrupou com alto suporte de Bootstrap com *Curdiea racovitzae* (AY049426) também da Antártica.

Um único espécime de *Georgiella confluens* (Wrangeliaceae) se agrupou com alto suporte de Bootstrap com *Georgiella confluens* (DQ022813) também da Antártica, que por sua vez agruparam com a espécie *Falklandiella harveyi* também da família Wrangeliaceae.

As espécies de Kallymeniaceae se agruparam com alto suporte de Bootstrap. *Callophyllis* sp. (ECO81), representada por um espécime, agrupou com a espécie *C. variegata* (HM587184) da Nova Zelândia.

As espécies de Palmariaceae agruparam com alto suporte de Bootstrap. *Palmaria decipiens*, representada por um espécime, agrupou com *P. palmata* (U28421), *Palmaria marginicrassa* (AB275867) do Japão e *P. decipiens* (AJ431701) da Ilha Rei George, Antártica.

As espécies de Bangiaceae se agruparam com alto suporte de Bootstrap. *Pyropia endivifolia*, representada por um espécime, agrupou com *Porphyra* sp. (GU165842- Falklands) e a espécie *Wildemania plocamiestris* agrupou com a espécie *Wildemania amplíssima* (JN29015).

Figura 10. Análise de Neighbor Joining baseada nas sequências de *rbcl*, mostrando o agrupamento de espécies de Rhodophyta que ocorrem na Baía do Almirantado. Nos ramos estão plotados os valores de Bootstrap. As amostras obtidas neste trabalho estão indicadas pelo número de campo em negrito cujas informações estão na Tabela 3. As sequências retiradas do GenBank estão representadas pelo n° de acesso seguidas da localidade, cujas informações estão na Tabela 6. (Localidades: AS - África do Sul, AT – Antártica, AU – Austrália, CH – Chile, FK - Ilha Falkland, JA – Japão, NZ – Nova Zelândia).

4.3.4 SSU – Phaeophyceae e Rhodophyta

Em Oliveira *et al.* (2009) foram citadas para Baía do Almirantado 21 espécies de Rhodophyta e 14 espécies de Phaeophyceae. Neste trabalho foram obtidas sequências de SSU para 12 espécies incluindo Rhodophyta e Phaeophyceae, distribuídas em dez famílias.

As análises geradas para o marcador SSU utilizaram uma porção de 1700 pb alinhando 29 sequências referentes a espécies de Rhodophyta e Phaeophyceae que ocorrem na Baía do Almirantado e outras sequências selecionadas disponíveis do GenBank. A árvore gerada pela análise de Neighbor-Joining (NJ) mostrou a formação de dois clados monofiléticos, Rhodophyta e Phaeophyceae (Fig. 11).

As espécies de Gigartinaceae se agruparam com alto suporte de Bootstrap. *Iridaea cordata*, representada por um espécime, agrupou com *Chondrus ocellatus* (DQ316985) e a espécie *Gigartina skottsbergii* (ECO88). Estes agruparam com as espécies *Gymnogongrus antarticus* (ECO46) e *Gymnogongrus* sp. (AY437690), Phyllophoraceae, também Gigartinales.

As espécies de Plocamiaceae se agruparam com alto suporte de Bootstrap. O espécime de *Plocamium aff. cartilagineum* (ECO89) da Antártica se agrupou com suporte moderado de Bootstrap com *Plocamium cartilagineum* (U09619), *Plocamium pacificum* (DQ343665) e *Plocamium maggsiae* (AY437708).

A espécie *Myriogramme manginii* (Delesseriaceae) se agrupou com alto suporte de Bootstrap com *Sorella repens* (AF488406).

A espécie *Palmaria decipiens* (Palmaraceae) se agrupou com alto suporte de Bootstrap com *Palmaria palmata* (Z14142) do Canadá

As espécies de Bangiaceae se agruparam com alto suporte de Bootstrap. *Pyropia endivifolia* representada por um espécime, agrupou com *Porphyra* sp. (AY292637) e a espécie *Wildemanian plocamiestris* agrupou com a espécie *Porphyra cf. plocamiestris* (AF175555) e *Porphyra amplissima* (L36048).

No clado formado por Phaeophyceae estão representadas quatro espécies das 14 espécies de Phaeophyceae que ocorrem na Baía do Almirantado sendo

Cystosphaera jacquinotii, *Adenocystis utricularis*, *Ascoseira mirabilis* e *Desmarestia antarctica*.

A espécie *Adenocystis utricularis* (Adenocystaceae) agrupou com *Ectocarpus siliculosus* (L43062) e *Ascoseira mirabilis* (Ascoseiraceae).

As espécies de Desmarestiaceae formaram um agrupamento monofilético, onde a espécie *Desmarestia antarctica* agrupou com 100% de identidade com *Desmarestia antarctica* (HE866896).

Figura 11. Análise de Neighbor Joining baseada nas sequências de SSU, mostrando o agrupamento de espécies de Rhodophyta e Phaeophyceae que ocorrem na Baía do Almirantado. Nos ramos estão plotados os valores de Bootstrap. As amostras obtidas neste trabalho estão indicadas pelo número de campo em negrito cujas informações estão na Tabela 3. As sequências retiradas do GenBank estão representadas pelo n° de acesso seguidas da localidade, cujas informações estão na Tabela 6. (Localidades: CA – Canadá, CHI – China, FK - Ilha Falkland).

Neste estudo foram obtidas sequências do tipo “DNA barcode” de: UPA para 31 espécies (8 Chlorophyta, 9 Phaeophyceae e 14 Rhodophyta), sequências de *cox1* para 19 espécies (9 Phaeophyceae e 10 Rhodophyta) e sequências de *tufA* para oito espécies (8 Chlorophyta) sendo que sete ocorrem na Baía do Almirantado (Tab. 9) e uma ocorre na Ilha Deception.

Para os outros marcadores moleculares foram obtidas sequências para 33 espécies, sendo sequências de ITS para 8 espécies (3 Chlorophyta e 5 Phaeophyceae) sequências de *rbcL* para 13 espécies de Rhodophyta e sequências de SSU para 12 espécies (4 Phaeophyceae e 8 Rhodophyta).

A maioria das sequências do tipo “DNA barcode” obtidas neste estudo são as primeiras sequências obtidas para as espécies de ocorrência na Baía do Almirantado, incluindo o continente antártico (Tab. 9). Para o marcador UPA, todas as sequências obtidas são inéditas. Para o marcador *cox1*, apenas três espécies possuíam sequências depositadas no banco de dados: *Ascoseira mirabilis*, *Desmarestia menziesii* e *Himantothallus grandifolius* - todas da Antártica. E, para o marcador *tufA*, apenas *Acrosiphonia arcta*, *Urospora penicilliformis* e *Monostroma grevillei* possuíam sequências disponíveis, mas apenas para espécimes do Canadá.

Para os 55 táxons previamente citados para a Baía do Almirantado foram confirmadas, através de dados moleculares, 29 espécies para a Baía do Almirantado, sendo que também foi obtida sequência para uma espécie da ordem corallinales que não foi identificada a nível específico e uma espécie (*Monostroma grevillei*) que foi coletada na Ilha Deception, totalizando 31 espécies estudadas. Para as espécies estudadas, seis espécies são novas ocorrências para a Baía do Almirantado, sendo elas *Prasiola* sp., *Protomonostroma rosulatum* (citada anteriormente como *P. undulatum*), *Chordaria linearis*, *Acanthococcus antarcticus*, *Callophyllis* sp. (citada anteriormente como *Callophyllis atosanguinea*) e *Plumariopsis peninsularis*, sendo que *Callophyllis* sp. é uma possível nova espécie para a ciência.

Através dos dados moleculares obtidos podemos verificar a não ocorrência na Baía do Almirantado das espécies *Desmarestia chordalis* e *Pyropia woolhousiae* citadas anteriormente (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Para 27 táxons que ocorrem na Baía do Almirantado não foi possível obter sequências devido à indisponibilidade de material para biologia molecular dessas espécies.

Com os resultados obtidos neste trabalho, o número de espécies que ocorrem na Baía do Almirantado passa a 57 táxons, visto o registro das novas ocorrências, mais uma espécie da ordem corallinales.

Tabela 9. Espécies de macroalgas que foram citadas para a Baía do Almirantado (ver Tabela 2 para referências), indicando as que foram sequenciadas neste trabalho. Os números indicam a quantidade de sequências obtidas para cada espécie no referido marcador. **NO** – Nova ocorrência para espécie (negrito) cuja a primeira citação para a Baía do Almirantado é este trabalho. Sequências em destaque de fundo cinza são inéditas. **NC** - para as espécies que não ocorrem na Baía do Almirantado. **NE** – Possível nova espécie. **NS** – para espécie que não foram sequenciadas neste estudo.

Espécies	Marcadores Moleculares					
	UPA	tufA	cox1	SSU	ITS	rbcL
CHLOROPHYTA						
<i>Acrosiphonia arcta</i>	1	1				
<i>Enteromorpha bulbosa</i>	2	2				
<i>Enteromorpha</i> sp. NS						
<i>Monostroma hariotii</i>	9	9			9	
<i>Monostroma grevillei</i> *	3	3			3	
<i>Prasiola crispa</i>	2	2				
<i>Prasiola</i> sp. NO	1	1				
<i>Protomonostroma rosulatum</i>¹ NO	3	4			5	
<i>Ulothrix australis</i> NS						
<i>Ulothrix</i> sp. NS						
<i>Urospora penicilliformis</i>	1	1				
PHAEOPHYCEAE						
<i>Adenocystis utricularis</i>	2		1	1		
<i>Ascoseira mirabilis</i>	4		1	1		
<i>Chordaria linearis</i> NO	2		1			
<i>Cystosphaera jacquinotii</i>	2		1	1		
<i>Desmarestia anceps</i>	1		1		1	
<i>Desmarestia antarctica</i>	7		3	1	1	
<i>Desmarestia chordalis</i> NC						
<i>Desmarestia ligulata</i> NS						
<i>Desmarestia menziesi</i>	14		8		4	
<i>Desmarestia</i> sp. NS						
<i>Elachista antarctica</i> NS						
<i>Geminocarpus austrogeorgiae</i> NS						
<i>Geminocarpus geminatus</i> NS						
<i>Haplogloia moniliformis</i> NS						
<i>Himantothallus grandifolius</i>	3		2		1	
<i>Phaeurus antarcticus</i>	3		1		1	

<i>Pylaiella littoralis</i> NS						
RHODOPHYTA						
<i>Acanthococcus antarcticus</i> NO	1					1
<i>Ballia callitricha</i> NS						
<i>Callophyllis</i> sp.² NE - NO	1					1
<i>Corallinales</i>	1					
<i>Curdiea racovitzae</i>	4					1
<i>Delesseria lancifolia</i> NS						
<i>Delesseria salicifolia</i> NS						
<i>Delisea pulchra</i> NS						
<i>Georgiella confluens</i>	1		1			1
<i>Gigartina skottsbergii</i>	2		2	1		1
<i>Gymnogongrus antarcticus</i>	1		1	1		1
<i>Gymnogongrus turquetii</i> NS						
<i>Hildenbrandia lecanellieri</i> NS						
<i>Hymenocladopsis crustigena</i> NS						
<i>Iridaea cordata</i>	6		5	1		2
<i>Leptosarca simplex</i> NS						
<i>Myriogramme manginii</i>	3		2	1		1
<i>Neuroglossum ligulatum</i> NS						
<i>Notophycus fimbriatus</i> NS						
<i>Pachymenia orbicularis</i> NS						
<i>Palmaria decipiens</i>	6		2	1		1
<i>Pantoneura plocamioides</i> NS						
<i>Phycodrys Antarctica</i> NS						
<i>Phyllophora ahnfetioides</i> NS						
<i>Piconiella plumosa</i> NS						
<i>Plocamium aff. cartilagineum</i>	3		2	1		1
<i>Plocamium aff. secundatum</i> NS						
<i>Plocamium coccineum</i> NS						
<i>Plumariopsis peninsularis</i> NO	1					1
<i>Pyropia endiviifolia</i> ³	3		2	1		1
<i>Wildemania plocamiestris</i> ³	1		2	1		
<i>Pyropia woolhousiae</i> ³ NC	1		1			1
<i>Sarcodia antarctica</i> NS						
Nº de seqüências geradas por marcador	UPA	tufA	cox1	SSU	ITS	rbcL
	95	23	39	12	25	14
Nº de espécies sequenciadas	31	8	19	12	8	13

* Coletada na Ilha Deception

¹ Como *P. undulatum* em Oliveira *et al.* (2009)

² Como *Callophyllis atosanguinea* em Oliveira *et al.* (2009)

³ Como *Porphyra* em Oliveira *et al.* (2009)

4.4. Guia das espécies para as quais foram obtidos marcadores moleculares

4.4.1 CHLOROPHYTA

PRASIOLALES

PRASIOLACEAE

Prasiola crista (Lightfoot) Kützinger (Fig. 12)

Prasiola sp.

Figura 12. Aspecto geral de *Prasiola crista* (Foto: E.C. Oliveira).

O gênero *Prasiola* está entre as macroalgas antárticas que habitam o supralitoral e ambientes terrestres. Estas representam os mais importantes produtores primários nestes ambientes. A espécie mais comumente relatada é *Prasiola crista* (KOVÁČIK & PEREIRA, 2001; WIENCKE & CLAYTON, 2002). Foi citada para a Baía do Almirantado nos trabalhos de Zielinski (1990) e Oliveira *et al.* (2009).

Neste trabalho foram analisados três espécimes (Tab. 3) para os quais foram obtidas sequências inéditas de DNA “barcode” (UPA e *tufA*). As análises para essas sequências indicaram duas espécies do gênero ocorrendo na Baía do Almirantado, sendo dois espécimes identificados como *Prasiola crista* e um como *Prasiola* sp.

ULOTRICHALES

GOMONTIACEAE

Monostroma hariatii Gain (Fig. 13)

Monostroma grevillei (Thuret) Wittrock (Fig. 14)

Figura 13. Aspecto geral de *Monostroma hariatii* (Foto: A.S. Medeiros).

Figura 14. Aspecto geral de *Monostroma grevillei* (Foto: A.S. Medeiros).

O gênero *Monostroma* é cosmopolita, com cerca de 65 espécies descritas, sendo que atualmente apenas 27 são reconhecidas taxonomicamente (GUIRY & GUIRY, 2013). Para a região Antártica, foram citadas as espécies *Monostroma*

hariotii e *Monostroma grevillei*, ambas ocorrendo tanto na Antártica como nas regiões sub antárticas e América do Sul (PAPENFUSS, 1964; WIENCKE & CLAYTON, 2002; BORASO DE ZAIXSO, 2004).

Para a região da Baía do Almirantado, a espécie *M. hariotii* foi citada nos trabalhos de Zielinski (1981; 1990) e Oliveira *et al.* (2009). Neste trabalho, foram analisados espécimes das duas espécies citadas para a Antártica, no entanto a espécie *M. grevillei* foi coletada apenas na Ilha Deception.

Foram analisados 13 espécimes para o gênero (Tab. 3), para os quais foram obtidas sequências inéditas de DNA “barcode” (UPA e *tufA*) e sequências inéditas do marcador molecular ITS para a espécie *M. hariotii*. Na análise para a sequência do marcador ITS (Fig. 8) a espécie *Monostroma grevillei* (Ilha Deception) diverge em 0,2 % (1pb) em relação a *Monostroma grevillei* (HQ902006 – Canadá).

ULOTRICHACEAE

Acrosiphonia arcta (Dillwyn) Gain (Fig. 15)

Figura 15. Aspecto geral de *Acrosiphonia arcta*, exsicata - SPF 56318 (Foto: E.C. Oliveira).

Ocorrendo tanto na região do Ártico como na região Antártica, *Acrosiphonia arcta* é uma espécie com distribuição bipolar, que corre principalmente nas zonas de mediolitoral das Ilhas Deception e Rei George, bem como na Península Antártica

(WIENCKE & CLAYTON, 2002). Citada para a Baía do Almirantado no trabalho de Oliveira *et al.* (2009).

Análises do espaçador interno transcrito (ITS) dão suporte para a hipótese de bipolaridade, mostrando alta identidade entre os espécimes dos dois hemisférios, sugerindo uma recente disjunção dessa espécie (VAN OPPEN *et al.*, 1993). No entanto, para o espécime analisado não foi possível obter sequência para o marcador ITS, somente para marcadores de DNA “barcode” (UPA e *tufA*), sendo que a sequência para o UPA é inédita.

O espécime analisado neste trabalho mostrou 1,7% de divergência com a espécie *Acrosiphonia arcta* do Canadá para o marcador *tufA* (Fig. 7). Essa divergência não sobrepõe os valores de divergência interespecífica encontrada no trabalho de Saunders & Kucera (2010), que encontraram para o gênero a divergência interespecífica a partir 1,95%, o que corrobora os resultados de VAN OPPEN *et al.* (1993) de uma recente separação dessas espécies. Para o marcador UPA não foi possível a comparação porque não existe sequência no banco de dados para a espécie do Canadá.

Protomonostroma rosulatum (Fig. 16)

Figura 16. Aspecto geral de *Protomonostroma rosulatum* (Foto: A.S. Medeiros).

Protomonostroma undulatum é amplamente distribuída no Norte do Atlântico e Pacífico, bem como na Argentina (BORASO DE ZAIXSO *et al.*, 2003; QUARTINO

et al., 2005; GUIRY & GUIRY, 2013) e foi citada para a Baía do Almirantado no trabalho de Oliveira *et al.* (2009).

Por outro lado, Vinogradova (1984) descreveu para a Antártica (Ilha do Rei George) uma nova espécie denominada de *P. rosulatum* Vinogradova. Mais recentemente, Bernardi (2013) citou para a Baía do Almirantado *Protomonostroma* sp.

Neste trabalho foram analisados cinco espécimes (Tab. 3) para os quais foram obtidas sequências inéditas de “DNA barcode” (UPA e *tufA*) e sequências do marcador molecular ITS. A análise para as sequências do marcador ITS (Fig. 8) mostrou que os espécimes analisados divergem em 1,4% da espécie *P. undulatum* (DQ821517 - USA), indicando que são espécies distintas, o que foi corroborado pelos outros marcadores. Depois de uma reanálise da morfologia, verificamos que os espécimes analisados se tratam da espécie *Protomonostroma rosulatum*, cuja localidade tipo é a Ilha do Rei George, onde também se localiza a Baía do Almirantado. Assim consideramos que a espécie de ocorrência na Baía do Almirantado seja *P. rosulatum* e não *P. undulatum* como citado em Oliveira *et al.* (2009).

Urospora penicilliformis (Roth) Areschoug (Fig. 17)

Figura 17. Aspecto geral de *Urospora penicilliformis* (Foto: A.S. Medeiros).

Urospora penicilliformis é uma espécie com distribuição bipolar, que ocorre na região de supralitoral frequentemente junto com *Pyropia endivifolia* (WIENCKE & CLAYTON, 2002 – como *Porphyra endivifolia*). A espécie foi citada para a Baía do Almirantado nos trabalhos de Zielinski (1990) e Oliveira *et al.* (2009).

Para a espécie, foi analisado um espécime (Tab. 3) para o qual foram obtidas sequências de “DNA barcode” (UPA e *tufA*) sendo que a sequência para o UPA é inédita.

No trabalho de Saunders & Kucera (2010) foram analisados dois espécimes: *Urospora* sp1 *penicilliformis* e *Urospora* sp2 *penicilliformis*. No entanto apenas foi obtida sequência de UPA para o espécime *Urospora* sp2 *penicilliformis* (HQ603371). Este, quando comparado com o espécime analisado neste estudo, apresentou uma divergência de 0,9% que corresponde a 3 pb. Para o espécime *Urospora* sp1 *penicilliformis* (HQ610439) foi obtida sequência somente para o marcador *tufA*. Este, quando comparado com o espécime analisado neste estudo, apresentou uma divergência de 0,3 % que corresponde a 2 pb.

Dados esses resultados e considerando que o UPA é um marcador muito mais conservado do que o *tufA*, o material de *Urospora penicilliformis* da Antártica corresponderia possivelmente a *Urospora* sp.1 *penicilliformis* do Canadá corroborando a distribuição bipolar dessa espécie.

ULVALES

ULVACEAE

Ulva bulbosa (Suhr) Montagne (Fig. 18)

Figura 18. Aspecto geral de *Ulva bulbosa* (Foto tirada de material fresco por A.S. Medeiros).

Ulva bulbosa pode ser epilítica ou epifítica nas zonas de supralitoral, crescendo em baixas salinidades (WIENCKE & CLAYTON, 2002). Amplamente distribuída na Antártica e Ilhas Sub Antárticas, bem como na Nova Zelândia e regiões da América do Sul (LAMB & ZIMMERMANN, 1977; WIENCKE & CLAYTON, 2002), foi citada para a Baía do Almirantado no trabalho de Oliveira *et al.* (2009).

Neste trabalho, foram analisados dois espécimes (Tab. 3) para os quais foram obtidas sequências inéditas de DNA “barcode” (UPA e *tufA*). A comparação das sequências obtidas com sequências do banco de dados confirmou o gênero *Ulva*, uma vez que não havia sequências da espécie no banco de dados, portanto, a confirmação dessa espécie dependeu identificação morfológica feita previamente em Oliveira *et al.* (2009).

4.4.2 PHAEOPHYCEAE

ASCOSEIRALES

ASCOSEIRACEAE

Ascoseira mirabilis Skottsberg (Fig. 19)

Figura 19. Aspecto geral de *Ascoseira mirabilis* (Foto: E.C. Oliveira).

Endêmica da região Antártica, a espécie ocorre na Península Antártica, Ilhas Orkney do Sul, Ilhas Shetlands do Sul e Ilha Georgia do Sul. Sendo fortemente adaptada ao frio e à sombra, a espécie é a única representante de Ascoseirales (WIENCKE & CLAYTON, 2002). Foi citada para a Baía do Almirantado nos trabalhos de Zielinski (1981; 1990) e Oliveira *et al.* (2009).

Para a espécie, foram analisados quatro espécimes (Tab. 3), para os quais foram obtidas sequências de DNA “barcode” (UPA e *cox1*) e do SSU rDNA, sendo que as sequências para o UPA e a sequência do marcador molecular SSU são inéditas. A sequência para o marcador *cox1* mostrou 100% de identidade com *Ascoseira mirabilis* (EU681391) também da Antártica, confirmando a identificação da espécie. Para a sequência do marcador SSU, como não existem sequências no banco de dados, a sequência mostrou 4,5% de divergência com a espécie *Adenocystis utricularis* - NY10 (Fig. 11).

DESMARESTIALES

DESMARESTIACEAE

Desmarestia anceps Montagne (Fig. 20)

Desmarestia antarctica RL Moe & PC Silva (Fig. 21)

Desmarestia menziesii J Agardh (Fig. 22)

Desmarestiales inclui macroalgas amplamente distribuídas, tanto em regiões temperadas quanto em regiões polares, onde são mais abundantes. No continente Antártico a ordem é representada por cinco espécies: *Desmarestia anceps*, *D. antarctica*, *D. menziesii*, *Himantothalus grandifolius* e *Phaeurus antarcticus* (LAMB & ZIMMERMAN, 1977). Os gêneros *Himantothallus* e *Phaeurus* são endêmicos da região antártica enquanto que para *Desmarestia* são descritas 40 espécies em todo o mundo (MOE & SILVA, 1977; WIENCKE & CLAYTON, 2002; GUIRY & GUIRY, 2013).

Em Oliveira *et al.* (2009), a espécie *D. chordalis* foi citada como ocorrendo na Baía do Almirantado, e no trabalho de Chung *et al.* (2000), descrita para a Baía Maxwell, também localizada na Ilha do Rei George. No entanto, segundo Ricker

(1987) a espécie *D. chordalis* está restrita à região subantártica (ao norte do paralelo 60° sul), não ocorrendo no continente Antártico propriamente dito.

Figuras 20 - 22. Aspecto geral das espécies de *Desmarestia* sequenciadas neste estudo. 20 - *Desmarestia anceps*. 21 - *Desmarestia antarctica* (Fotos tiradas de material fresco por E.C. Oliveira) e 22 - *Desmarestia menziesii* (Foto tirada da exsicata SPF57333 por A.S. Medeiros).

Dificuldades associadas à grande variabilidade morfológica tem dificultado a identificação precisa dessas espécies. Com exceção de *Desmarestia antarctica*, que tem a morfologia muito característica, as outras apresentam sobreposições morfológicas, que muitas vezes são consideradas como plasticidade fenotípica (RAMÍREZ & PETERS, 1992). Análises moleculares do ITS feitas por Peters *et al.* (2000), indicaram que as espécies *D. menziesii* e *D. chordalis* são proximamente relacionadas.

Uma das limitações da técnica “DNA Barcoding” é separar espécies proximamente relacionadas. Assim, os espécimes de Desmarestiales, especialmente

os espécimes de *D. menziesii*, foram sequenciados também para o marcador ITS2 a fim de confirmar a presença de *D. chordalis* na Baía do Almirantado, já que com as sequências de *cox1* e UPA não se esperava a separação dessas espécies.

De acordo com Peters *et al.* (2000), as espécies *D. menziessi* e *D. chordalis* são proximamente relacionadas diferindo de 8 a 9 nucleotídeos na região espaçadora (ITS). Entretanto, os espécimes analisados neste trabalho, incluindo os espécimes analisados por Oliveira *et al.* 2009, não apresentaram divergência no marcador ITS da espécie *Desmarestia menziesii*.

Neste trabalho, foram analisados 21 espécimes de *Desmarestia* (Tab. 3), ficando confirmado para a Baía do Almirantado a presença das espécies *D. anceps*, *D. antarctica* e *D. menziesii* e a não ocorrência de *D. chordalis* conforme proposto por Ricker (1987).

Himantothallus grandifolius (A Gepp & ES Gepp) Zinova (Fig. 23)

Figura 23. Aspecto geral de *Himantothallus grandifolius* (Foto: E.C. Oliveira).

Endêmica da região Antártica, a espécie *Himantothallus grandifolius* é amplamente distribuída da região leste a oeste da Antártica. Fortemente adaptada ao frio e à sombra, pode ocorrer dos 7 m aos 70 m de profundidade. É a maior

macroalga Antártica podendo medir 10 metros de comprimento (WIENCKE & CLAYTON, 2002). Foi citada para a Baía do Almirantado nos trabalhos de Zielinski (1981; 1990) e Oliveira *et al.* (2009).

Para a espécie, foram analisados três espécimes (Tab. 3), para os quais foram obtidas sequências de DNA “barcode” (UPA e *cox1*) sendo que as sequências para o UPA são inéditas. A sequência para o marcador *cox1* apresentou 100% de identidade com a espécie *Himantothallus grandifolius* Terre Adélie, Antártica. E para as análises da sequência para o marcador ITS (Fig. 9) a sequência mostrou 100% de identidade com as sequências de *Himantothallus grandifolius* (Z84455 e HE866892) confirmando a identificação da espécie.

Phaeurus antarcticus Skottsberg (Fig. 24)

Figura 24. Aspecto geral de *Phaeurus antarcticus* (Foto: A.S. Medeiros).

Gênero endêmico da região Antártica, a espécie *Phaeurus antarcticus* ocorre da Península Antártica às Ilhas Orkney do Sul e Ilhas Shetlands do Sul (WIENCKE & CLAYTON, 2002). Foi citada para a Baía do Almirantado nos trabalhos de Zielinski (1990) e Oliveira *et al.* (2009).

Para a espécie, foram analisados três espécimes (Tab. 3), para os quais foram obtidas sequências inéditas de DNA “barcode” (UPA e *cox1*) e sequência para o marcador ITS2. Para o marcador ITS2, a análise das sequências (Fig. 9) mostrou uma divergência de 4,7%, que corresponde a 12 pb com *Phaeurus antarcticus*

(Z844577). Entretanto, desses 12 pb, 2 eram “N” e três “Y” na sequência depositada no GenBank, portanto apenas 7 pb podem ser confirmados como efetivamente divergentes entre os dois espécimes.

Em se tratando de uma região espaçadora e considerando-se a possível baixa qualidade da sequência depositada no GenBank, seriam necessários mais estudos para se confirmar ou não a existência de uma espécie críptica ou variação populacional nessa espécie.

ECTOCARPALES

ADENOCYSTACEAE

Adenocystis utricularis (Bory de Saint-Vincent) Skottsberg (Fig. 25)

Figura 25. Aspecto geral de *Adenocystis utricularis* (Foto: E.C. Oliveira).

Comumente encontrada na Península Antártica, Ilhas Shetlands do Sul, Ilhas subantárticas e regiões frias da América do Sul, Nova Zelândia e Tasmânia (Austrália), *Adenocystis utricularis* cresce abundantemente na zona entre-marés, podendo ser epilítica ou epifítica especialmente em *Desmarestia* spp. (WIENCKE & CLAYTON, 2002; OLIVEIRA *et al.*, 2009). A espécie foi citada para a Baía do Almirantado nos trabalhos de Zielinski (1981; 1990) e Oliveira *et al.* (2009).

Para a espécie, foram analisados dois espécimes (Tab. 3) para os quais foram obtidas sequências de DNA “barcode” (UPA e *cox1*) e sequência do marcador molecular SSU, todas as sequências inéditas para a espécie. Como não existem sequências no banco de dados, a comparação da sequência do marcador SSU

mostrou 1,0% de divergência com a espécie *Ectocarpus siliculosus* - L43062 (Fig. 11), mesma ordem. Portanto, a confirmação dessa espécie se baseou na identificação morfológica feita previamente em Oliveira *et al.* (2009).

CHORDARIACEAE

Chordaria linearis (JD Hooker & Harvey) AD Cotton (Fig. 26)

Figura 26. Aspecto geral de *Chordaria linearis*, exsicata - SPF57326 (Foto: A.S. Medeiros).

A espécie *Chordaria linearis* ocorre nas Ilhas Anvers e Ilha Rei George, ambas na Península Antártica, e também em regiões do sul da América do Sul (WIENCKE & CLAYTON, 2002).

A primeira citação para a espécie em regiões antárticas foi feita só no trabalho de Clayton *et al.* (1997), possivelmente devido ao seu tamanho relativamente pequeno e sua ocorrência em águas mais profundas, que acabam dificultando sua coleta, sendo a primeira citação da espécie para a Baía do Almirantado este trabalho.

Para a espécie, foram analisados dois espécimes (Tab. 3), para os quais foram obtidas sequências inéditas de DNA “barcode” (UPA e *cox1*). A identificação morfológica do material analisado nesse trabalho foi confirmada por E.C. Oliveira.

FUCALES

SEIROCOCCACEAE

Cystosphaera jacquinotii (Montagne) Skottsberg (Fig. 27)

Figura 27. Aspecto geral de *Cystosphaera jacquinotii* (Foto: E.C. Oliveira).

Única representante de Fucales na Antártica, o gênero *Cystosphaera* é representado pela espécie *Cystosphaera jacquinotii* que geralmente ocorre no infralitoral entre 5 a 50 m. Endêmica na região da Península Antártica e Ilhas Shetlands do Sul (WIENCKE & CLAYTON, 2002), foi citada para a Baía do Almirantado nos trabalhos de Zielinski (1981; 1990), e Oliveira *et al.*, (2009).

Para a espécie, foram analisados dois espécimes (Tab. 3), para os quais foram obtidas sequências inéditas de DNA “barcode” (UPA e *cox1*) e sequência do marcador molecular SSU. Para a sequência do marcador SSU, a sequência mostrou 6,0% de divergência com a espécie *Cystoseira hakodatensis* - AB011425 (Fig. 11), também da ordem Fucales, e 100% de identidade com a sequência de *Cystosphaera jacquinotii* (AF130707) da Antártica, confirmando a identificação dessa espécie, porém essa sequência não foi incluída nas nossas análises, pois possui apenas 453 pb.

4.4.3 RHODOPHYTA

BANGIALES

BANGIACEAE

Pyropia endiviifolia (A Gepp & E Gepp) HG Choi & MS Hwang (Fig. 28)

Wildemanian plocamiestris RW Ricker (Fig. 29)

Figura 28. Aspecto geral de *Pyropia endiviifolia* (Foto: E.C. Oliveira).

Figura 29. *Wildemanian plocamiestris*, epifitando *Desmarestia* sp. (Foto: E.C. Oliveira).

As Bangiales no continente Antártico estão representadas por quatro espécies: *Wildemanian plocamiestris*, *Pyropia endiviifolia*, *Porphyra umbilicalis* e *Pyropia woolhouseae* (WIENCKE & CLAYTON, 2002; OLIVEIRA *et al.*, 2009).

No levantamento feito por Oliveira *et al.* (2009), foram citadas três espécies para a região da Baía do Almirantado, sendo *Wildemanian plocamiestris*, *Pyropia endiviifolia* e *Pyropia woolhouseae* (respectivamente como *Porphyra plocamiestris*, *Porphyra endiviifolia* e *Porphyra woolhouseae* em Oliveira *et al.*, 2009).

Neste trabalho, foram analisados sete espécimes para o grupo (Tab. 3) incluindo as amostras usadas por Oliveira *et al.* (2009). As sequências obtidas para o espécime ECO73 (*P. woolhouseae* em Oliveira *et al.*, 2009) são idênticas em todos os marcadores as sequências obtidas para os espécimes SP9b, ECO23, ECO44 (*P. plocamiestris*). Segundo Oliveira *et al.* (2009), a espécie *P. woolhouseae* é muito semelhante a *W. plocamiestris*, diferindo apenas no tamanho. Com a análise molecular, foi possível confirmar que se trata de uma única espécie, *W. plocamiestris*.

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que apenas duas espécies de Bangiales: *Pyropia endiviifolia* e *Wildemanian plocamiestris* ocorrem na Baía do Almirantado.

CERAMIALES

WRANGELIACEAE

Georgiella confluens (Reinsch) Kylin (Fig. 30)

Figura 30. Aspecto geral de *Georgiella confluens* (Foto: A.S. Medeiros).

Endêmica da região Antártica, a espécie *Georgiella confluens* ocorre nas Ilhas Balleny, Orkney do Sul, Shetlands do Sul, Georgia do Sul e Península Antártica (WIENCKE & CLAYTON, 2002). Essa espécie foi citada para a Baía do Almirantado nos trabalhos de Zielinski (1990) e Oliveira *et al.* (2009).

Para a espécie, foi analisado um espécime (Tab. 3), para o qual foram obtidas sequências inéditas de DNA “barcode” (UPA e *cox1*) e sequência do marcador molecular *rbcL*. A análise da sequência para o marcador *rbcL* apresentou 0,2% de divergência com *Georgiella confluens* (DQ022813) também da Antártica, confirmando a identificação dessa espécie.

Plumariopsis peninsularis RL Moe & PC Silva (Fig. 31)

Figura 31. Aspecto geral de *Plumariopsis peninsularis*, exsicata - SPF57323 (Foto: A.S. Medeiros).

Endêmica da região Antártica, *Plumariopsis peninsularis* é muito similar a *Georgiella confluens*, ocorrendo na Península Antártica (Ilha Anvers) e Ilhas Shetlands do Sul (Ilhas Livingston e Deception) (MOE & SILVA, 1983; WIENCKE & CLAYTON, 2002).

Para o espécime FP13 (Tab. 3) foram obtidas sequências inéditas de DNA “barcode” (UPA) e sequência do marcador molecular *rbcL*. No entanto, não foi possível identificar a nível de espécie através das análises moleculares. A análise da sequência para o marcador *rbcL* apresentou 10,3% de divergência da espécie *Georgiella confluens* (NY26). A identificação da espécie dependeu de análise

morfológica realizada por E.C. Oliveira, sendo este trabalho a primeira citação para a Baía do Almirantado.

DELESSERIACEAE

Myriogramme manginii (Gain) Skottsberg (Fig. 32)

Figura 32. Aspecto geral de *Myriogramme manginii* (Foto: A.S. Medeiros).

Endêmica da região Antártica, *Myriogramme manginii* ocorre da Península Antártica às Ilhas Orkney do Sul e Shetlands do Sul (WIENCKE & CLAYTON, 2002).

Para a espécie, foram analisados três espécimes (Tab. 3), para os quais foram obtidas sequências inéditas de DNA “barcode” (UPA e *cox1*) e SSU e sequência para o marcador *rbcL*. Para o marcador SSU a sequência mostrou 5,9% de divergência com a espécie *Sorella repens* - AF488406 (Fig. 11), também Delesseriaceae, e para a sequência de *rbcL*, 100% de identidade com a espécie *Myriogramme manginii* (AF257392) da Antártica (Fig. 10).

A espécie *Myriogramme mangini*, embora tenha sido coletado por E. C. Oliveira, não foi incluída em Oliveira *et al.* (2009) por falta de estruturas reprodutivas e material mais abundante para uma identificação morfológica, que confirmassem a presença dessa espécie na região. Porém, essa espécie já havia sido citada para a região em um trabalho anterior (ZIELINSKI, 1990). A partir dos dados moleculares

obtidos neste trabalho, foi possível a confirmação da espécie como ocorrendo na Baía do Almirantando.

GIGARTINALES

CYSTOCLONIACEAE

Acanthococcus antarcticus JD Hooker & Harvey (Fig. 33).

Figura 33. Ápice visto em lupa de *Acanthococcus antarcticus* (Foto: M. Mungioli).

Acanthococcus antarcticus ocorre na Península Antártica, Ilhas Shetlands do Sul, Orkney do Sul na Antártica e Terra do Fogo e ilhas Falklands na América do Sul (WIENCKE & CLAYTON, 2002).

Para a espécie, foi analisado um espécime (Tab. 3) para o qual foram obtidas sequências inéditas de DNA “barcode” (UPA) e sequência do marcador molecular *rbcL*. A análise da sequência para o marcador *rbcL* apresentou 6,8% de divergência com *Cystoclonium purpureum* (KC130217), também Cystocloniaceae (Fig. 10), sendo a primeira citação da espécie para a Baía do Almirantado este trabalho.

KALLYMENIACEAE

Callophyllis sp. (Fig. 34)

Figura 34: Aspecto geral de *Callophyllis* sp., exsiccata - SPF57325 (Foto: A.S. Medeiros).

O gênero *Callophyllis* está distribuído em águas frias e temperadas de ambos os hemisférios. Para o continente Antártico, foram citadas três espécies: *C. atosanguinea*, *C. tenera* e *C. variegata* (WIENCKE & CLAYTON, 2002). No trabalho de Oliveira *et al.* (2009) a espécie *Callophyllis atosanguinea* foi citada para a Baía do Almirantado, sendo esta a primeira citação do gênero para o local.

Para a espécie, foi analisado um espécime (Tab. 3) para o qual foram obtidas sequências inéditas de DNA “barcode” (UPA) e sequência do marcador molecular *rbcl*. Entretanto, o espécime analisado (ECO81) apresentou, na análise de *rbcl*, uma divergência de 8,4% da espécie *C. atosanguinea* (HQ910503 – Punta Arenas e HQ910504 - Punta Dungeness) do Chile (Fig. 10) e uma divergência de 4,5% da espécie *C. variegata* (HM587184) da Nova Zelândia. Essa elevada divergência entre as sequências de *rbcl* (maior que 2%) em algas vermelhas é o padrão para reconhecer espécies distintas (GURGEL & FREDERICQ, 2004).

Numa recente revisão para o gênero *Callophyllis* (ARAKAKI *et al.*, 2011), nenhuma das espécies descritas equivale ao espécime analisado neste estudo, sendo este possivelmente uma nova espécie.

GIGARTINACEAE

Gigartina skottsbergii Setchell & NL Gardner (Fig. 35)

Figura 35: Aspecto geral de *Gigartina skottsbergii* (Foto: E.C. Oliveira).

O gênero *Gigartina* no continente Antártico está representado por uma única espécie: *Gigartina skottsbergii*. Além da Península Antártica, Ilhas Shetlands do Sul e Ilhas Orkney do Sul a espécie também ocorre na Terra do fogo, Argentina, Chile e Ilhas Falklands (WIENCKE & CLAYTON, 2002; GUIRY & GUIRY, 2013). Essa espécie foi citada para a Baía do Almirantado nos trabalhos de Zielinski (1990) e Oliveira *et al.* (2009).

Para a espécie, foram analisados dois espécimes (Tab. 3) para os quais foram obtidas sequências inéditas de DNA “barcode” (UPA e *cox1*) e SSU e sequência do marcador molecular *rbcL*. A análise da sequência para o marcador *rbcL* apresentou 0,2% de divergência com *G. skottsbergii* (AF146296) da Ilha Rei George – Baía Elefante – Antártica (Fig. 10), que corresponde a uma divergência intraespecífica de 2 pb. Para a sequência do marcador SSU sequência mostrou 0,9% de divergência, que corresponde a 16 pb com a espécie *Iridaea cordata* – ECO41 (Fig. 11), também Gigartinaceae.

Iridaea cordata (Turner) Bory de Saint-Vincent (Fig. 36)

Figura 36: Aspecto geral de *Iridaea cordata*, exsicata - SPF56380 (Foto: A.S. Medeiros).

Comumente encontrada na Antártica incluindo o Mar de Ross e Ilhas Subantárticas, *Iridaea cordata* cresce sobre rochas em poças nas zonas entre marés juntamente com *Palmaria decipiens* e *Adenocystis utricularis* (WIENCKE & CLAYTON, 2002). Essa espécie também ocorre em regiões da Austrália, Nova Zelândia e Alaska (América do Norte) (GUIRY & GUIRY, 2013). Foi citada para a Baía do Almirantado nos trabalhos de Zielinski (1981; 1990) e Oliveira *et al.* (2009).

Para a espécie, foram analisados seis espécimes (Tab. 3) para os quais foram obtidas sequências inéditas de DNA “barcode” (UPA e *cox1*) e SSU e sequência do marcador molecular *rbcL*. A análise para a sequência do marcador *rbcL* (Fig. 10), apresentou 0,6% de divergência com *Iridaea cordata* (GQ323780) da Nova Zelândia, que corresponde a uma divergência intraespecífica de 7 pb, e uma divergência de 2,9% em relação à espécie *Iridaea cordata* (AF146207) do Chile. Para a sequência do marcador SSU a sequência mostrou 0,6% de divergência, que corresponde a 10 pb, com a espécie *Chondrus ocellatus* - DQ316985 (Fig. 11), também Gigartinaceae.

PHYLLOPHORACEAE

Gymnogongrus antarcticus Skottsberg (Fig. 37)

Figura 37: Aspecto geral de *Gymnogongrus antarcticus* (Foto: A.S. Medeiros).

Duas espécies do gênero são citadas para a Baía do Almirantado: *Gymnogongrus antarcticus* e *Gymnogongrus turquetii* (OLIVEIRA *et al.*, 2009). Essas espécies também são encontradas na Península Antártica, Ilhas Shetland do Sul e algumas Ilhas Subantárticas. *Gymnogongrus antarcticus* cresce em poças protegidas de supralitoral a até 15 m de profundidade (WIENCKE & CLAYTON, 2002).

Apenas um espécime (Tab. 3) identificado morfologicamente como *G. antarcticus* (OLIVEIRA *et al.*, 2009) foi analisado, para o qual foram obtidas sequências inéditas de DNA “barcode” e sequência do marcador molecular SSU e *rbcL*. A análise da sequência para o marcador *rbcL* (Fig. 10), apresentou 8,6% de divergência com *G. antarcticus* (U22334) devido à presença de bases “N” não identificadas na sequência do banco de dados. Para a sequência do marcador SSU a sequência mostrou 0,8% de divergência, que corresponde a 14 pb, com a espécie *Gymnogongrus* sp - AY437690 (Fig. 11).

GRACILARIALES

GRACILARIACEAE

Curdiea racovitzae Hariot (Fig. 38)

Figura 38: Aspecto geral de *Curdiea racovitzae* (Foto: E.C. Oliveira).

Endêmica da região Antártica, a espécie *Curdiea racovitzae* ocorre da Península Antártica às Ilhas Orkney do Sul, Shetlands do Sul e Georgia do Sul (WIENCKE & CLAYTON, 2002). Essa espécie foi citada para a Baía do Almirantado nos trabalhos de Zielinski (1990) e Oliveira *et al.* (2009).

Para a espécie, foram analisados quatro espécimes (Tab. 3) para os quais foram obtidas sequências inéditas de DNA “barcode” somente para o marcador UPA. Para o marcador *cox1* todas as tentativas de amplificação por PCR falharam mesmo quando os parâmetros da PCR foram mudados. A análise da sequência para o marcador *rbcL* apresentou 100% de identidade com *Curdiea racovitzae* (AY049426) também da Antártica (Fig. 10), confirmando a identificação da espécie.

PALMARIALES

PALMARIACEAE

Palmaria decipiens (Reinsch) RW Ricker (Fig. 39)

Figura 39: Aspecto geral de *Palmaria decipiens*, exsicata - SPF56408 (Foto: A.S. Medeiros).

Uma das espécies dominantes em termos de biomassa, *Palmaria decipiens* desempenha um importante papel na comunidade bentônica na Baía do Almirantado, fornecendo alimento, habitat e abrigo para um grande número de organismos associados (AMSLER *et al.*, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Endêmica na região Antártica, ocorre em todo continente, incluindo o Mar de Ross mais ao sul, Ilhas Kerguelen e Macquarie, mais ao norte e ilhas sub-Antárticas (WIENCKE & CLAYTON, 2002). A espécie foi citada ocorrendo na Baía do Almirantado no trabalho de Oliveira *et al.* (2009).

Para a espécie, foram analisados seis espécimes (Tab. 3) para os quais foram obtidas sequências inéditas de DNA “barcode” (UPA e *cox1*) e SSU e sequência do marcador molecular *rbcL*. A análise para o marcador *rbcL* (Fig. 10), utilizou 1.200 nucleotídeos, entretanto a sequência de *Palmaria decipiens* (AJ431701 - Ilha Rei George) disponível no GenBank possui somente 589 pb, razão pela qual o espécime SP16b é mais próximo a *Palmaria marginicrassa* (AB275867 – Japão). Na região de 589 pb, *P. decipiens* (AJ431701 - Ilha Rei George) diverge de SP16b em 1,6%. Para

a sequência do marcador SSU a sequência mostrou 0,2% de divergência que corresponde a 3 pb, com a espécie *P. palmata* - Z14142 (Fig. 11).

PLOCAMIALES

PLOCAMIACEAE

Plocamium aff. cartilagineum (Linnaeus) PS Dixon (Fig. 40)

Figura 40: Aspecto geral de *Plocamium aff cartilagineum* (Foto: A.S. Medeiros).

Comumente encontrada em ambos os hemisférios, o gênero *Plocamium* inclui cerca de 40 espécies, sendo estas mais diversas no hemisfério sul (WYNNE, 2005). No continente Antártico, o gênero está representado pelas espécies *P. cartilagineum*, *P. coccineum*, *P. hookeri* e *P. secundatum* (WIENCKE & CLAYTON, 2002).

No trabalho de Oliveira *et al.* (2009), foram citadas para a Baía do Almirantado duas espécies: *P. aff cartilagineum* e *P. aff secundatum*, sendo ressaltado pelos autores que a morfologia das espécies analisadas não correspondia à descrição encontrada na literatura para as espécies antárticas.

Neste estudo, foram analisados três espécimes da espécie *Plocamium aff cartilagineum* (Tab. 3), para os quais foram obtidas sequências de DNA “barcode” (*cox1* e UPA) sendo que a sequência para o UPA é inédita, e sequências dos marcadores moleculares SSU e *rbcl*. A análise da sequência para o marcador *rbcl* (Fig. 10), apresentou 0,5% de divergência com *Plocamium cartilagineum* (U26818)

da Antártica, que corresponde a 6 pb divergentes e 3,7% de divergência com *Plocamium cartilagineum* (U26817) do Chile, que corresponde a 44 pb.

Um padrão semelhante ao obtido com as sequências de *cox1* foi obtido com as sequências de *rbcL* para as espécies do gênero *Plocamium*, corroborando os dados de Saunders e Lehmkuhl (2005) quanto à existência de espécies crípticas dentro do gênero.

De acordo com Saunders & Lehmkuhl (2005), o nome *P. cartilagineum*, senso lato, inclui ao menos oito espécies crípticas. Em uma recente revisão do gênero *Plocamium* para Europa, a espécie que era considerada cosmopolita, passou a cinco espécies distintas com distribuição restrita (CREMADES *et al.*, 2011).

Assim, é necessária uma revisão para o gênero a fim de elucidar as questões taxonômicas em *Plocamium*.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse estudo gerou um conjunto de dados inéditos para as espécies antárticas, que inclui sequências de “DNA barcode” e sequências de marcadores filogenéticos, contribuindo para a formação de um banco de dados moleculares que servirá de base para futuras investigações da diversidade de macroalgas da Antártica. No entanto, ainda serão necessários mais estudos que envolvam a obtenção de “DNA barcodes” para estas espécies, para que a totalidade de espécies antárticas esteja representada.

Baseado em estudos morfológicos prévios, as macroalgas da Baía do Almirantado (Ilha Rei George, Península Antártica) estão representadas por 55 táxons, sendo 30 Rhodophyta, 16 Phaeophyceae e 9 Chlorophyta (ZIELINSKI, 1981; 1990; OLIVEIRA *et al.*, 2009). Neste estudo, foram obtidos dados moleculares para 8 espécies de Chlorophyta, 9 espécies de Phaeophyceae e 14 espécies de Rhodophyta. Entre as espécies de Chlorophyta estudadas, as espécies *Prasiola* sp. e *Protomonostroma rosulatum*, de Phaeophyceae a espécie *Chordaria linearis* e as Rhodophyta *Acanthococcus antarticus*, *Callophyllis* sp. e *Plumariopsis peninsularis* são novas citações para a Baía do Almirantado, sendo que a espécie *Callophyllis* sp. é uma possível nova espécie para a ciência.

É necessário incrementar o número de espécies e de indivíduos amostrados, utilizar outros marcadores e testar outros conjuntos de primers para gerar dados que representem a diversidade dos grupos e permitam a utilização do “DNA barcoding” amplamente na identificação dessas algas. Embora existam dificuldades na aplicabilidade da técnica “DNA Barcoding”, visto a ocorrência de variabilidade na região dos primers, especialmente para o *cox1*, e a falta de aplicabilidade da região 5' do gene *cox1* em grupos tais como as algas verdes, a proposta de um método rápido, fácil e de baixo custo para levantar a biodiversidade apresenta vantagens em relação a outras técnicas, visto que a proposta de padronização de “DNA barcodes” na identificação e descoberta de novas espécies, facilita a troca de informações entre laboratórios de todo o mundo (SAUNDERS, 2005; 2008; SAUNDERS & KUCERA 2010; LE GALL & SAUNDERS 2010).

Nossas análises indicaram que o “DNA barcode” foi uma ferramenta eficiente na identificação das espécies de macroalgas da Baía do Almirantado. Os três “DNA barcodes” utilizados neste estudo (UPA, *cox1* e *tufA*), embora com diferentes taxas de divergências, foram consistentes com os demais marcadores utilizados em todas as análises.

Uma facilidade encontrada na amplificação do marcador UPA foi a universalidade dos “primers”, visto que um único par de primers foi utilizado na amplificação dos três grupos de algas, enquanto que diferentes combinações de “primers” foram necessárias para amplificar o marcador *cox1*. Ainda assim foram obtidas somente 39 sequências de 75 espécimes entre Phaeophyceae e Rhodophyta. Entretanto, a baixa variabilidade nas sequências UPA pode subestimar a diversidade das espécies (SHERWOOD *et al.*, 2010), todavia o uso do marcador UPA pode ser uma alternativa rápida e eficiente para levantamento de biodiversidade na região Antártica.

O marcador *cox1* apresenta um maior nível de divergência, sendo mais apropriado como um marcador específico. Eventualmente pode fornecer informações biogeográficas sobre a distribuição de populações dentro de uma espécie, uma vez que frequentemente existe variação intraespecífica nesse marcador. Entretanto, um fator limitante é a ausência de primers universais e a dificuldade de amplificação em alguns grupos.

O marcador *tufA* se mostrou bastante promissor para as algas verdes, uma vez que para os grupos estudados nesse trabalho foi possível amplificar esse marcador com um único conjunto de primers e que os níveis encontrados de divergência foram relativamente mais elevados do que para UPA e comparáveis ao encontrado para o *cox1* em algas vermelhas e pardas.

Devido ao uso de poucos espécimes por espécies (em alguns casos um único espécime por espécie), não foi possível estabelecer um limite confiável entre os valores de divergências intraespecífica e interespecífica (barcode gap) para os diferentes gêneros, o que, segundo Meier *et al.* (2008), é necessário para que as identificações das espécies sejam bem sucedidas. Assim, mais estudos são necessários para estabelecer esses limites, a fim de utilizar a técnica de “DNA barcoding” amplamente na identificação e levantamentos da biodiversidade de macroalgas na antártica.

Embora tenham sido obtidas sequências de marcadores moleculares como o *rbcL*, ITS e SSU, que possuem mais sequências disponíveis para a comparação no banco de dados, a identificação molecular precisa muitas vezes não foi possível devido à ausência de sequências para a comparação. Muitas das sequências obtidas neste trabalho são inéditas para as espécies antárticas. Ainda assim, o uso de dados moleculares do GenBank para fins de identificação de espécies não é totalmente confiável, visto que nem sempre a identificação precisa da espécie para a qual foi obtida a sequência é garantida (HARRIS, 2003). Assim, a identificação baseada em caracteres morfológicos, feita previamente (Oliveira *et al.*, 2009), foi imprescindível neste trabalho.

Como esperado, as espécies da região estudada mostraram afinidades com a flora marinha da região sul da América do Sul e Nova Zelândia, assim como com regiões frias e polares do hemisfério norte. Em Hommersand *et al.* (2009), dados do marcador *rbcL* mostraram que a afinidade entre as espécies de Rhodophyta antárticas e as espécies de Rhodophyta do sul da América do Sul é complexa, visto que apresenta grupos de espécies muito distantes filogeneticamente, mas também apresenta outros grupos que são proximamente relacionados. Ainda de acordo com Hommersand *et al.* (2009), existe uma possibilidade de que particularidades no clima antártico causaram a evolução mais rápida do gene *rbcL* na Antártica do que em águas temperadas do sul da América do Sul. Esse fato pode justificar a alta divergência encontrada nas sequências de *rbcL* para as espécies *Iridaea cordata* e *Plocamium aff. cartilagineum* obtidas neste estudo em relação às mesmas espécies do Chile.

Neste trabalho, aplicou-se o método de “DNA barcoding” para averiguar a diversidade de macroalgas da Baía do Almirantado, bem como aplicar outros marcadores moleculares para distinguir entre as espécies de Chlorophyta, Phaeophyceae e Rhodophyta que ocorrem na Baía do Almirantado. Para este fim, a ferramenta “DNA barcoding”, bem como os outros marcadores, se mostraram muito promissores para aplicação em larga escala em estudos de biodiversidade e conservação, desde que um banco de referência combinando dados moleculares, morfológicos e de distribuição geográfica esteja disponível.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFIAS

- ALTSCHUL, S.F.; MADDEN, T.L.; SCHÄFFER, A.A.; ZHANG, J.; ZHANG, Z.; MILLER, W. & LIPMAN, D.J. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Research**, v. 25, n. 17, p.3389-3402.
- AMSLER, C.D.; IKEN, K.; MCCLINTOCK, J.B. & BAKER, B.J. 2009. Defenses of polar macroalgae against herbivores and biofoulers. **Botanica Marina**, v. 52, n. 6, p. 535-545.
- ARAKAKI, N.; ALVEAL, K.; RAMIREZ, M. & FREDERICQ, S. 2011. The genus *Callophyllis* (Kallymeniaceae, Rhodophyta) from the central-south Chilean coast (33° to 41° S), with the description of two new species. **Revista chilena de historia natural**, v. 84, n. 4, p. 481-499.
- AVISE, J.C. 1994. **Molecular Markers, Natural History and Evolution**. Chapman & Hall, New York, 511 p.
- BÁRBARA, I.; GALLARDO, T.; CREMADES, J.; BARREIRO, R.; MANEIRO, I. & SAUNDERS, G.W. 2013. *Pseudopolyides furcellarioides* gen. et sp. nov. (Gigartinales, Rhodophyta) an erect member of the Cruoriaceae based on morphological and molecular evidence. **Phycologia**, v. 52, n. 2, p. 191-203.
- BARKER, P.F. & THOMAS, E. 2003. Origin, signature and palaeoclimatic influence of the Antarctic Circumpolar Current. **Earth-Science Reviews**, v. 66, p. 143-162.
- BELLORIN, A.M.; OLIVEIRA, M.C. & OLIVEIRA, E.C. 2002. Phylogeny and systematics of the marine algal family Gracilariaceae (Gracilariales, Rhodophyta) based on small subunit rDNA and ITS sequences of Atlantic and Pacific species. **Journal of Phycology**, v. 38, p. 551-563.
- BERNARDI, J. **Clorófitas monostromáticas (ulotrichales) do atlântico sul e península antártica: morfologia comparada, mapeamento latitudinal e potencial antioxidante**. 2013. 70f. Tese de mestrado. Sistemas Costeiros e Oceânicos (PGSISCO/CEM) da Universidade Federal do Paraná, Paraná. 2013.
- BIRD, C.J., RICE, E.L., MURPHY, C.A. & RAGAN, M.A. 1992. Phylogenetic relationships in the Gracilariales (Rhodophyta) as determined by 18S rDNA sequences. **Phycologia**, v. 31, n. 6, p. 510-522.
- BORASO DE ZAIXSO, A. 2004. Marine Chlorophyta of Argentina. **Historia Natural**, v. 3, n. 11, p. 95-119.
- BORASO DE ZAIXSO, A.; RICO, A.; PERALES, S.; PEREZ, L. & ZALAZAR, H. 2003. **Algas Marinas de La Patagonia: una guía ilustrada**. UNPSJB-CONICET, Buenos Aires, Argentina. 67 p.

BROOM, J.E.S.; NELSON, W.A.; FARR, T.J.; PHILLIPS, L.E. & CLAYTON, M. 2010. Relationships of the *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) flora of the Falkland Islands: a molecular survey using rbcL and nSSU sequence data. **Australian Systematic Botany**, v. 23, n. 1, p. 27-37.

CHASE, M.W.; SALAMIN, N.; WILKINSON, M.; DUNWELL, J.M.; KESANAKURTHI, R.P.; HAIDAR, N. & SAVOLAINEN, V. 2005. Land plants and DNA barcoding: short-term and long-term goals. **Philosophical Transactions of the Royal Society**, v. 360, n. 1462, p. 1805-1811.

CHASE, M.W.; COWAN, R.S.; HOLLINGSWORTH, P.M.; VAN DEN BERG, C.; MADRINAN, S.; PETERSEN, G.; SEBERG, O.; JORGENSEN, T.; CAMERON, K.M.; CARINE, M.; PEDERSEN, N.; HEDDERSON, T.A. J.; CONRAD, F.; SALAZAR, G.A.; RICHARDSON, J.E.; HOLLINGSWORTH, M.L.; BARRACLOUGH, T.G.; KELLY, L. & WILKINSON, M. 2007. A proposal for a standardised protocol to barcode all land plants. **Taxon**, v. 56, n. 2, p. 295-299.

CHOI, H.G.; KRAFT, G.T.; LEE, I.K. & SAUNDERS, G.W. 2002. Phylogenetic analyses of anatomical and nuclear SSU rDNA sequence data indicate that the Dasyaceae and Delesseriaceae (Ceramiales, Rhodophyta) are polyphyletic. **European Journal of Phycology**, v. 37, n. 4, p. 551-569.

CHUNG, H.; OH, Y.S.; KIM, J.H.; Y.CHUNG, H.; KIM, J.H.; KANG, Y.C.; KANG, S.H. & LEE, S.H. 2000. Species composition and biomass distribution of benthic macroalgae in Maxwell Bay, King George Island, Antarctica. **Korean Journal of Polar Research**, v. 11, p. 1-12.

CLARKE, A.; BARNES, K.A. & HODGSON, D.A. 2005. How isolated is Antarctica. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 20, n. 1, p. 1-3.

CLARKE, D.L. 1990. Arctic Ocean ice cover; geologic history and climatic significance. In: GRANTZ, A.; JOHNSON, L. & SWEENEY, J.L. (eds.) **The Arctic Ocean region**. Boulder, Colorado: The Geological Society of America, 1990. p. 53-62.

CLARKSTON, B.E. & SAUNDERS, G.W. 2010. A comparison of two DNA barcode markers for species discrimination in the red algal family Kallymeniaceae (Gigartinales) with a description of *Euthora timburtonii*. **Botany**, v. 88, n. 2, p. 119-131.

CLAYTON, M.N. 1994. Evolution of the Antarctic benthic algal flora. **Journal of Phycology**, v. 30, n. 6, p. 897-904.

CLAYTON, M.N.; WIENCKE, C. & KLÖSER, H. 1997. New records of temperate and sub-Antarctic marine benthic macroalgae from Antarctica. **Polar Biology**, v. 17, n. 1, p.141-149.

CLAYDEN, S.L. & SAUNDERS, G.W. 2010. Recognition of *Rubrointrusa membranacea* gen. et comb. nov., *Rhodonematella subimmersa* gen. et comb. nov. (with a reinterpretation of the life history) and the Meiodiscaceae fam. nov. within the Palmariales (Rhodophyta). **Phycologia**, v. 49, n. 3, p. 283-300.

COSTA, E.S.; PLASTINO, E.M.; PETTI, R.; OLIVEIRA, E.C. & OLIVEIRA, M.C. 2012. The Gracilariaceae Germplasm Bank of the University of São Paulo, Brazil - a DNA barcoding approach. **Journal of Applied Phycology**, v. 24, n. 6, p. 1643-1653.

CREMADES, J.; BARREIRO, R.; MANEIRO, I. & SAUNDERS, G. 2011. A new taxonomic interpretation of the type of *Plocamium cartilagineum* (Plocamiales, Florideophyceae) and its consequences. **European Journal of Phycology**, v. 46, n. 2, p. 125-142.

D'ARCHINO, R.; NELSON, A.W. & ZUCCARELLO, C.G. 2011. Diversity and complexity in New Zealand Kallymeniaceae (Rhodophyta): recognition of the genus *Ectophora* and description of *E. marginata* sp. nov. **Phycologia**, v. 50, n. 3, p. 241-255.

DANI, N.; SILVA, S.F.; DEBIASI, P. & AHLERT, S. 2005. Emprego da fotogrametria digital no mapeamento da Área Antártica Especialmente Gerenciada da Baía do Almirantado. In: XII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, 2005, **Anais**. Goiânia, p. 1191-1198.

DE SALLE, R.; EGAN, M.G. & SIDDALL, M. 2005. The unholy trinity: taxonomy, species delimitation, and DNA barcoding. **Philosophical Transactions of the Royal Society**, v. 360, n. 1462, p. 1905-1916.

DREW, E.A. & HASTINGS, R.M. 1992. A year-round ecophysiological study of *Himantothallus grandifolius* (Desmarestiales, Phaeophyta) at Signy Island, Antarctica. **Phycologia**, v. 31, n. 3-4, p. 262-277.

EVANS, K.M.; WORTLEY, A.H. & MANN, D.G. 2007. An assessment of potential diatom "barcode" genes (*cox1*, *rbcL*, 18S and ITS rDNA) and their effectiveness in determining relationships in *Sellaphora* (Bacillariophyta). **Protist**, v. 158, n. 3, p. 349-364.

FAMA, P.; WYSOR, B.; KOOISTRA, W. & ZUCCARELLO, G.C. 2002. Molecular phylogeny of the genus *Caulerpa* (Caulerpales, Chlorophyta) inferred from chloroplast *tufA* gene. **Journal of phycology**, v. 38, p. 1040-1050.

FELSENSTEIN, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. **Evolution**, v. 39, p. 783-791.

FOLMER, O.; BLACK, M.; HOEH, W.; LUTZ, R. & VRIJENHOEK, R. 1994. DNA-primers II for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. **Molecular Marine Biology and Biotechnology**, v. 3, n. 5, p. 294-299.

FREDERICG, S. & RAMÍREZ, M.E. 1996. Systematic studies of the antarctic species of the phyllophoraceae (Gigartinales, Rhodophyta) based on *rbcL* sequence analysis. **Hydrobiologia**, v. 326-327, n. 1, p. 137-143.

FRENOT, Y.; CHOWN, S.L.; WHINAM, J.; SELKIRK, P.M.; CONVEY, P.; SKOTNICKI, M. & BERGSTROM, D.M. 2005. Biological invasions in the Antarctic: extent, impacts and implications, **Biological reviews**, v. 80, p. 45-72.

FRESHWATER, D.W. & RUENESS, J. 1994. Phylogenetic relationships of some European *Gelidium* (Gelidiales, Rhodophyta) species, based on *rbcL* nucleotide sequence analysis. **Phycologia**, v. 33, n. 3, p. 187-194.

GUIRY, M.D. & GUIRY, G.M. 2013. **AlgaeBase**. National University of Ireland, Galway. Disponível em: <http://www.algaebase.org>. Acesso em 08 de abril de 2013.

GURGEL, C.F.D. & FREDERICQ, S. 2004. Systematics of the gracilariaceae (Gracilariales, Rhodophyta): a critical assessment based on *rbcL* sequence analyses. **Journal of Phycology**, v. 40, p. 138-159.

HAJIBABAEI, M.; SINGER, G.A.C.; HEBERT, P.D.N. & HICKEY, D.A. 2007. DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. **Trends in Genetics**, v. 23, n. 4, p. 167-172.

HALL, J.D.; FUCÍKOVÁ, K.; LO, C.; LEWIS, L.A. & KAROL, K. G. 2010. Assessing proposed DNA barcodes in the green algae. **Cryptogamie Algologie**, v. 31, n. 4, p. 529-555.

HALL, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, v. 41, p. 95-98.

HANIC, L.A. & LINDSTROM, S.C. 2008. Life history and systematic studies of *Pseudothrix borealis* gen. et sp. nov. (=North Pacific *Capsosiphon groenlandicus*, Ulotrachaceae, Chlorophyta). **Algae**, v. 23, n. 2, p. 119-133.

HARRIS, J.D. 2003. Can you bank on GenBank? **Trends Ecol. Evol**, v. 18, p. 317-19.

HEMPEL, G.V. 1987. Die Polarmeere - ein biologischer Vergleich. **Polarforschung**, v. 57, n. 3, p. 173-189.

HERBERT, P.D.N.; CYWINSKA, A.; BALL, S.L. & DEWAARD, J.R. 2003. Biological identifications through DNA barcoding. **Proceedings of the Royal Society of London**, v. 270, n. 1512, p. 313-321.

HOMMERSAND, M.H.; FREDERICQ, S. & FRESHWATER, D.W. 1994. Phylogenetic systematics and biogeography of the Gigartinaceae (Gigartinales, Rhodophyta) based on sequence analysis of *rbcL*. **Botanica Marina**, v. 37, n. 3, p. 193-204.

HOMMERSAND, M.H.; FREDERICQ, S.; FRESHWATER, D.W. & HUGHEY, J. 1999. Recent developments in the systematics of the Gigartinaceae (Gigartinales, Rhodophyta) based on *rbcL* sequence analysis and morphological evidence. **Phycological Research**, v. 47, n. 3, p. 139-151.

HOMMERSAND, M.H.; FRESHWATER, D.W.; LOPEZ-BAUTISTA, J.M. & FREDERICQ, S. 2005. Proposal of the Euptiloteae Hommersand et Fredericq, trib. nov. and transfer of some Southern Hemisphere Piloteae to the Callithamnidae (Ceramiaceae, Rhodophyta). **Journal of Phycology**, v. 42, p. 203-225.

HOMMERSAND, M.H.; MOE, R.L.; AMSLER, C.D. & FREDERICQ, S. 2009. Notes on the systematics and biogeographical relationships of Antarctic and sub-Antarctic

Rhodophyta with descriptions of four new genera and five new species. **Botanica Marina**, v. 52, p. 509-534.

HUGHEY, J.R.; SILVA, P.C. & HOMMERSAND, M.H. 2001. Solving taxonomic and nomenclatural problems in Pacific Gigartinales (Rhodophyta) using DNA from type material. **Journal of Phycology**, v. 37, p. 1091-1109.

KIMURA, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of Molecular Evolution**, v. 16, p. 111-120.

KNOWLTON, N. & WEIGT, L.A. 1998. New dates and new rates for divergence across the Isthmus of Panama. **Proceedings of the Royal Society of London**, v. 265, p. 2257-2263.

KOVÁČIK, L. & PEREIRA, A.B. 2001. Green alga *Prasiola crispa* and its lichenized form *Mastodia tessellata* in Antarctic environment: general aspects. **Nova Hedwigia Beiheft**, v. 123, p. 465-78.

KUCERA, H. & SAUNDERS, G.W. 2008. Assigning morphological variants of *Fucus* (Fucales, Phaeophyceae) in Canadian waters to recognised species using DNA barcoding. **Botany**, v. 86, p. 1065-1079.

KUCERA, H. & SAUNDERS, G.W. 2012. A survey of Bangiales. (Rhodophyta) based on multiple molecular markers reveals cryptic diversity. **Journal of Phycology**, v. 48, n. 4, p. 869-882.

LAMB, I.M. & ZIMMERMANN, M.H. 1977. Benthic marine algae of the Antarctic Peninsula. **Antarctic Research Series**, v. 5, p. 130-229.

LANE, C.E.; LINDSTROM, S.C. & SAUNDERS, G.W. 2007. A molecular assessment of northeast Pacific *Alaria* species (Laminariales, Phaeophyceae) with reference to the utility of DNA barcoding. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 44, n. 2, p. 634-648.

LE GALL, L. & SAUNDERS, G.W. 2010. DNA barcoding is a powerful tool to uncover algal diversity: a case study of the Phyllophoraceae (Gigartinales, Rhodophyta) in the Canadian flora. **Journal of Phycology**, v. 46, n. 2, p. 374-389.

LELIAERT, F.; SMITH, D.R.; MOREAU, H.; HERRON, M.D.; VERBRUGGEN, H.; DELWICHE, C.F. & DE CLERCK, O. 2012. Phylogeny and molecular evolution of the green algae. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 31, p. 1-46.

LIN, S.M.; FREDERICQ, S. & HOMMERSAND, M.H. 2001. Systematics of the Delesseriaceae (Ceramiales, Rhodophyta) based on LSU rDNA and *rbcL* sequences, including the Phycodroideae, subfam. nov. **Journal of phycology**, v. 37, p. 881-99.

LÜNNING, K. 1990. **Seaweeds**. Their environment, biogeography and ecophysiology. John Wiley & Sons Inc., New York. 527 p.

MCDEVIT, D.C. & SAUNDERS, G.W. 2009. On the utility of DNA barcoding for species differentiation among brown macroalgae (Phaeophyceae) including a novel extraction protocol. **Phycological Research**, v. 57, n. 2, p. 131-141.

MEIER, R.; ZHANG, G. & ALI, F. 2008. The use of mean instead of smallest interspecific distances exaggerates the size of the "Barcoding Gap" and leads to misidentification. **Systematic Biology**, v. 57, p. 809-822.

MILSTEIN, D.; MEDEIROS, A.S.; OLIVEIRA, E.C. & OLIVEIRA, M.C. 2011. Will a DNA barcoding approach be useful to identify *Porphyra* species (Bangiales, Rhodophyta)? **Journal of Applied Phycology**, v. 24, n. 4, p. 837-845.

MILSTEIN, D. & OLIVEIRA M.C. 2005. Molecular phylogeny of Bangiales (Rhodophyta) based on small subunit rDNA sequencing: emphasis on Brazilian *Porphyra* species. **Phycologia**, v. 44, n. 2, p. 212-221.

MOE, R.L. & SILVA, P.C. 1977. Sporangia in the brown algal genus *Desmarestia* with special reference to the Antarctic *D. ligulata*. **The Japanese Society of Phycology**, v. 25, p. 159-167.

MOE, R.L. & SILVA, P.C. 1983. Morphological and taxonomic studies on Antarctic Ceramiaceae (Rhodophyceae). III. *Georgiella* and *Plumariopsis* (tribe Ptiloteae). **British Phycological Journal**, v. 18, p. 275-298.

MONIZ, M.B.J. & KACZMARSKA, I. 2009. Barcoding diatoms: is there a good marker? **Molecular ecology resources**, v. 9, (Suppl. 1) p. 65-74.

MONTONE, R.C.; TANIGUCHI, S.; SERICANO, J.; WEBER, R.R. & LARA, W.H. 2001. Determination of polychlorinated biphenyls in Antarctic macroalgae *Desmarestia* sp. **Science of Total Environment**, v. 277, p. 181-186.

MULLER, K.M.; CANNONE, J.J.; GUTELL, R.R. & SHEATH, R.G. 2001. A structural and phylogenetic analysis of the group IC1 introns in the order Bangiales (Rhodophyta) **Molecular Biology and Evolution**, v. 18, n. 9, p. 1654-1667.

NEDZAREK, A. & RAKUSA-SUSZCEWSKI, S. 2004. Decomposition of macroalgae and the release of nutrients in Admiralty Bay, King George Island, Antarctica. **Polar Bioscience**, v. 17, p. 16-35.

O' KELLY, C.J.; WYSOR, B. & BELLOWES, W.K. 2004. Gene sequence diversity and the phylogenetic position of algae assigned to the genera *Phaeophila* and *Ochlochaete* (Ulvophyceae, Chlorophyta). **Journal of phycology**, v. 40, p. 789-799.

OLIVEIRA, E.C.; ABSHER, T.M.; PELLIZZARI, F.M. & OLIVEIRA, M.C. 2009. The seaweed flora of Admiralty Bay, King George Island, Antarctic. **Polar Biology**, v. 32, n. 11, p. 1639-1647.

OLIVEIRA, M. & BHATTACHARYA, D. 2000. Phylogeny of the Bangiophycidae (Rhodophyta) and the secondary endosymbiotic origin of algal plastids. **American Journal of Botany**, v. 87, n. 4, p. 482-492.

OLIVEIRA, M.C.; KURNIAWAN, J.; BIRD, C.J.; RICE, E.L.; MURPHY, C.A.; SINGH, R.K.; GUTELL, R.R. & RAGAN, M.A. 1995. A preliminary investigation of the order Bangiales (Bangiophycidae, Rhodophyta) based on sequences of nuclear small-subunit ribosomal RNA genes. **Phycological Research**, v. 43, n. 2, p. 71-79.

PAPENFUSS, G. 1964. Catalogue and bibliography of Antarctic and Sub-Antarctic benthic marine algae. **Antarctic Research Series**, v. 1, p. 1-76.

PEDRINI, A.G. 1992. Catálogo de espécies, ocorrência geográfica e bibliografia de algas marinhas bentônicas das Ilhas Shetlands do Sul, Antártica. **Arq. J. Bot. Rio de Janeiro**, v. 31, p. 87-102.

PELLIZZARI, F.; OLIVEIRA, M.C.; MEDEIROS, A.S.; YOKOYA, N.S. & OLIVEIRA, E.C. 2013. Morphology, ontogeny, and phylogenetic position of *Gayralia brasiliensis* sp. nov. (Ulotrichales, Chlorophyta) from the southern coast of Brazil. **Botanica Marina**, v. 56, n. 2, p. 197-205.

PETERS, A.F.; VAN OPPEN, M.J.H.; WIENCKE, C.; STAM, W.T. & OLSEN, J.L. 1997. Phylogeny and historical ecology of the Desmarestiaceae (Phaeophyceae) support a southern hemisphere origin. **Journal of phycology**, v. 33, p. 294-309.

PETERS, A.F.; RAMIREZ, M.E. & RÜLKE, A. 2000. The phylogenetic position of the subantarctic marine macroalga *Desmarestia chordalis* (Phaeophyceae) inferred from nuclear ribosomal ITS sequences. **Polar Biology**, v. 23, p. 95-99.

PRESTING, G. 2006. Identification of conserved regions in the plastid genome: implications for DNA barcoding and biological function. **Canadian Journal of Botany**, v. 84, n. 9, p. 1434-1443.

QUARTINO, M.L.; ZAIXSO, H.E. & ZAIXSO, A.B. 2005. Biological and environmental characterization of marine macroalgal assemblages in Potter Cove, South Shetlands Island, Antarctica. **Botanica Marina**, v. 48, p. 187-197.

RAKUSA-SUSZCZEWSKI, S. 1980. Environmental conditions and the functioning of Admiralty Bay (South Shetland Islands) as a part of the near shore Antarctic ecosystem. **Polish Polar Research**, v.1, p.11-27.

RAMÍREZ, M.E. & PETERS, A.F. 1992. The South American species of *Desmarestia* (Phaeophyceae). **Canadian Journal of Botany**, v. 70, p. 2430-2445.

RATNASINGHAM, S. & HEBERT, P.D.N. 2007. BOLD: The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). **Molecular Ecology Notes**, v. 7, p. 355-364.

RICKER, R.W. 1987. **Taxonomy and biogeography of Macquarie Island seaweeds**. British Museum (Natural History), London. v. 2 344 p.

ROBBA, L.; RUSSELL, S.; BARKER, G. & BRODIE, J. 2006. Assessing the use of the mitochondrial cox1 marker for use in DNA barcoding of red algae (Rhodophyta). **American Journal of Botany**, v. 93, n. 8, p. 1101-1108.

ROSS, P.J.; DONALDSON, S.L. & SAUNDERS, G.W. 2003. A molecular investigation of *Mazzaella* (Gigartinales Rhodophyta) morphologically intermediate between *Mazzaella linearis* and *M. splendens*. **Botanica Marina**, v. 46, p. 202-213.

SAITOU, N. & NEI, M. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. **Molecular Biology and Evolution**, v. 4, p. 406-425.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F. & MANIATIS, T. 1989. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**, 2 ed., vol. 3. Cold Spring Harbour Laboratories press, New York. p. 1279-1448.

SAUNDERS, G.W. 2005. Applying DNA barcoding to red macroalgae: a preliminary appraisal holds promise for future applications. **Proceedings of the Royal Society of London**, v. 360, p. 1879-1888.

SAUNDERS, G.W. 2008. A DNA barcode examination of the red algal family Dumontiaceae in Canadian waters reveals substantial cryptic species diversity. 1. The foliose *Dilsea*–*Neodilsea* complex and *Weeksia*. **Botany**, v. 86, n. 7, p. 773-789.

SAUNDERS, G.W.; CHIOVITTI, A. & KRAFT, G.T. 2004. Small-subunit rDNA sequences from representatives of selected families of the Gigartinales and Rhodymeniales (Rhodophyta). Delineating the Gigartinales sensu strict. **Canadian Journal of Botany**, v. 82, n. 1, p. 43-74.

SAUNDERS, G.W. & KRAFT, G.T. 1994. Small-subunit rRNA gene sequences from representatives of selected families of the Gigartinales and Rhodymeniales (Rhodophyta). 1. Evidence for the Plocamiales ord. nov. **Canadian Journal of Botany**, v. 72, p. 1250-1263.

SAUNDERS, G.W. & KUCERA, H. 2010. An evaluation of *rbcL*, *tufA*, *UPA*, *LSU* and *ITS* as DNA barcode markers for the marine green macroalgae. **Cryptogamie Algologie**, v. 31, p. 487-528.

SAUNDERS, G.W. & LEHMKUH, V.K. 2005. Molecular divergence and morphological diversity among four cryptic species of *Plocamium* (Plocamiales, Florideophyceae) in northern Europe. **European Journal of Phycology**, v. 40, n. 3, p. 293-312.

SAUNDERS, G.W. & MCDONALD, B. 2010. DNA barcoding reveals multiple overlooked Australian species of the red algal order Rhodymeniales (Florideophyceae), with resurrection of *Halopeltis* J. Agardh and description of *Pseudohalopeltis* gen. nov. **Botany**, v. 88, p. 637-665.

SAVOLAINEN, V.; COWAN, R.S.; VOGLER, A.P.; RODERICK, G.K. & LANE, R. 2005. Towards writing the encyclopaedia of life: an introduction to DNA barcoding. **Proceedings of the Royal Society of London**, v. 360, n. 1462, p. 1805-1811.

SHERWOOD, A.R.; KURIHARA, A.; CONKLIN, K.Y.; SAUVAGE, T. & PRESTING, G.G. 2010. The Hawaiian Rhodophyta Biodiversity Survey (2006-2010): a summary of principal findings. **BMC Plant Biology**, v. 10, n. 258, p. 1-29.

SHERWOOD, A.R. & PRESTING, G.G. 2007. Universal primers amplify a 23S rDNA plastid marker in eukaryotic algae and cyanobacteria. **Journal of phycology**, v. 43, p. 605-608.

SHERWOOD, A.R.; VIS, M.; ENTWISLE, T.; NECCHI, O., JR. & PRESTING, G.G. 2008. Contrasting intra versus interspecies DNA sequence variation for representatives of the *Batrachospermales* (Rhodophyta): Insights from a DNA barcoding approach. **Phycological Research**, v. 56, n. 4, p. 269-279.

SILBERFELD, T.; LEIGH, J.W.; VERBRUGGEN, H.; CRUAUD, C.; DE REVIERS, B. & ROUSSEAU, F. 2010. A multi-locus time-calibrated phylogeny of the brown algae (Heterokonta, Ochrophyta, Phaeophyceae): Investigating the evolutionary nature of the "brown algal crown radiation". **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 56, n. 2, p. 659-674.

SKOTTSBERG, C.J.F. 1964. Antarctic phycology. *In*: CARRICK, R. M., HOLDGATE & J. PRE'VOST (eds.) **Biologie Antarctique**. 1st SCAR Symposium. Hermann, Paris. p. 147-154.

SOGIN, M.L. 1990. Amplification of ribosomal RNA genes for molecular evolution studies. *In*: INNES, M.A.; GELFAND, D.H.; SNISNKY, J.J. & WHITE, T.J. (eds.) **PCR protocols**. A guide to methods and applications. Academic Press, San Diego, CA. p. 307-314.

STEIG, E.J.; SCHNEIDER, D.P.; RUTHERFORD, S.D.; MANN, M.E.; COMISO, J.C. & SHINDELL, D.T. 2009. Warming of the Antarctic ice-sheet surface since the 1957 International Geophysical Year. **Nature**, v. 457, p. 459-463.

STOECKLE, M. 2003. Taxonomy, DNA, and the barcode of life. **BioScience**, v. 53, p. 796-797.

TAI, V.; LINDSTROM, S.C. & AUNDERS, G.W. 2001. Phylogeny of the Dumontiaceae (Gigartinales, Rhodophyta) and associated families based on small-subunit rDNA and internal transcribed spacer sequence data. **Journal of phycology**, v. 37, p. 184-196.

TAMURA, K.; DUDLEY, J.; NEI, M. & KUMAR, S. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. **Molecular Biology and Evolution**, v. 24, p. 1596-1599.

TAN, I.H. & DRUEHL, L.D. 1996. A ribosomal DNA phylogeny supports the close evolutionary relationships. **Journal of phycology**, v. 32, n. 1, p. 112-118.

TURMEL, M.; OTIS, C. & LEMIEUX, C. 2002. The chloroplast and mitochondrial genome sequences of the charophyte *Chaetosphaeridium globosum*: insights into the timing of the events that restructured organelle DNAs within the green algal lineage the led to land plants. **Proceedings of the national academy of science**, v. 99, n. 17, p. 11275-11280.

VAN OPPEN, M.J.H.; OLSEN, J.L.; STAM, W.T.; VAN DEN HOEK, C. & WIENCKE, C. 1993. Arctic-Antarctic disjunctions in the benthic seaweeds *Acrosiphonia arcta*

(Chlorophyta) and *Desmarestia viridis/willii* (Phaeophyta) are of recent origin. **Marine Biology**, v. 115, p. 381-386.

VINCENT, W.F. 2000. Evolutionary origins of Antarctic microbiota: invasion, selection and endemism. **Antarctic Science**, v. 12, p. 374-385.

VINOGRADOVA, K.L. 1984. Ad flora chlorophytorum ex Antarctica. In: ACADEMIA SCIENTIARUM URSS. **Novitates Systematicae Plantarum Non Vascularium**. v. 20, p. 10-18.

WIENCKE, C. & CLAYTON, M.N. 2002. **Antarctic seaweeds**. Wägele JW (ed.). Synop of the Antarctic Benthos. ARG Gantner, Ruggell. 239 p.

WIENCKE, C.; CLAYTON, M.N.; GOMEZ, I.; IKEN, K.; LUDER, U.H. & AMSLER, C.B. 2007. Life strategy, ecophysiology and ecology of seaweeds in polar waters. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v.6, p.96-126.

WIENCKE, C. & DIECK, I. 1990. Temperature requirements for growth and survival of macroalgae from Antarctica and Southern Chile. **Marine Ecology Progress Series**, v. 59, p. 157-170.

WITHALL, R.D. & SAUNDERS, G.W. 2006. Combining small and large subunit ribosomal DNA genes to resolve relationships among orders of the Rhodymeniophycidae (Rhodophyta): Recognition of the Acrosymphytales ord. nov. and Sebdeniales ord. nov. **European Journal of Phycology**, v. 41, n. 4, p. 379-394.

WULFF, A.; IKEN, K.; QUARTINO, M.L.; AL-HANDAL, A.; WIENCKE, C. & CLAYTON, M.N. 2011. Biodiversity, biogeography and zonation of marine benthic micro- and macroalgae in the Arctic and Antarctic. In: WIENCKE, C. (ed.). **Biology of polar benthic algae**. De Gruyter, Berlin. p. 23-52.

WYN, A.J.; GRIFFIN, J.N.; JONES, D.T.; NELSON, W.A.; FARR, T.J. & BROOM, J.E. 2004. Phylogenetic diversity in South African *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) determined by nuclear SSU sequence analyses. **European Journal of Phycology**, v. 39, n. 2, p. 197-211.

WYNN-WILLIAMS, D.D. 1996. Response of pioneer soil microalgal colonists to environmental change in Antarctica. **Microbial Ecology**, v.31, p.177-188.

WYNNE, M.J. 2005. A check-list of benthic marine algae of the tropical and subtropical western Atlantic: second revision. **Nova Hedwigia**, v. 129: 1-152.

YOON, H.S.; HACKETT, J.D. & BHATTACHARYA, D. 2002. A single origin of the peridinin and fucoxanthin-containing plastids in dinoflagellates through tertiary endosymbiosis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 99, p. 15507-15512.

ZHANG, D.X. & HEWITT, G. M. 1997. Assessment of the universality and utility of a set of conserved mitochondrial COI primers in insects. **Insect Molecular Biology**, v. 6, p. 143-150.

ZIELINSKI, K. 1981. Benthic macroalgae of Admiralty Bay (King George Island, South Shetland Islands) and circulation of algal matter between water and the shore. **Polish Polar Research**, v. 2, p. 71-94.

ZIELINSKI, K. 1990. Bottom macroalgae of the Admiralty Bay (King George Island, South Shetlands, Antarctica). **Polish Polar Research**, v. 11, p. 95-131.

ZIMIN, H.; XIAOQI, Z.; CRITCHLEY, A.T. & MORRELL, S.L. . 2007. Primary species recognition and phylogeny of *Chondrus* (Gigartinales, Rhodophyta) using 18S rDNA sequence data. **Chinese Journal of Oceanology and Limnology**, v. 25, n. 2, p. 174-183.

ZUCCARELLO, G.C.; BURGER, G.; WEST, J. A. & KING, R. J. 1999. A mitochondrial marker for red algal intraspecific relationships. **Molecular Ecology**, v. 8, p. 1443-1447.

ZUCCARELLO, G.; PRICE, N.; VERBRUGGEN, H. & LELIAERT, F. 2009. Analysis of a plastid multigene data set and the phylogenetic position of the marind macroalga *Caulerpa filiformis* (Chlorophyta). **Journal of phycology**, v. 45, p.1206-1212.

ANEXO I - Alinhamento das sequências do UPA para as espécies de Chlorophyta, Phaeophyceae e Rhodophyta obtidas neste trabalho, para referências Tabela 3. Posições idênticas são expressas por pontos (.) e os números acima dos nucleotídeos indicam a posição neste alinhamento.

	10	20	30	40	50	60
ECO81	GGACAGAAAGACCC	TATGAAGCTTTACTG	TAGCC	TGGAA	TTTGAATTTGGG	TTTATTTTGC
ECO85						
ECO17						
ECO34						
ECO47						
NY17						
FP13						
NY26						
ECO88						
NY25						
ECO46						
IBT935						
SP7C						
SP64						
ECO41						
NY20						
NY19						
NY24						
IBT936						
SP77						
SP78						
SP16b						
SP52a						
SP61						
ECO40						
NY21						
IBT943						
FP12						
NY22						
ECO89						
SP9a						
ECO73						
ECO55						
ECO68						
NY23						
NY35						
NY10						
NY11						
NY01						
ECO27						
FP05						
SP29						
NY05						
ECO06						
NY03						
NY04						
NY08						
NY09						
ECO08						
SP48						
SP54						
SP60						
SP23						

```

SP11a      .....A.T.A...GT.C...TA...
SP12       .....A.T.A...GT.C...TA...
SP18a      .....A.T.A...GT.C...TA...
SP36       .....A.T.A...GT.C...TA...
ECO09      .....A.T.A...GT.C...TA...
ECO86      .....A.T.A...GT.C...TA...
ECO87      .....A.T.A...GT.C...TA...
NY07       .....A.T.A...GT.C...TA...
IBT946     .....A.T.A...GT.C...TA...
SP69       .....A.T.A...GT.C...TA...
SP37       .....A.T.A...GT.C...TA...
FP11       .....A.T.A...GT.C...TA...
NY02       .....A.T.A...GT.C...TA...
NY12       .....A.T.A...GT.C...TA...
FP15       .....A.T.A...GT.C...TA...
NY06       .....A.T.A...GT.C...TA...
SP72       .....A.T.A...GT.C...TA...
SP74a      .....A.T.A...GT.C...TA...
SP10       .....A.T.A...GT.C...TA...
SP32       .....A.T.A...GT.C...TA...
SP43       .....G.....T.....C..C.CT...T.
ECO02      .....G.....T.....C..C.CT...T.
ECO01      .....G.....T.....C..C.CT...T.
FP36       .....G.AG.....T.....GG.....C.CT...
FP38       .....G.AG.....T.....GG.....C.CT...
FP39       .....G.AG.....T.....GG.....C.CT...
FP01       .....G.AG.....T.....GG.....C.CT...
FP02       .....G.AG.....T.....GG.....C.CT...
FP03       .....G.AG.....T.....GG.....C.CT...
FP31       .....G.AG.....T.....GG.....C.CT...
FP33       .....G.AG.....T.....GG.....C.CT...
FP34       .....G.AG.....T.....GG.....C.CT...
NY14       .....G.AG.....T.....GG.....C.CT...
NY16       .....G.AG.....T.....GG.....C.CT...
NY15       .....G.AG.....T.....GG.....C.CT...
ECO54      .....G.....T.T...G...C..C..T...
IBT951     .....G.....T.T...G...C..C..T...
IBT949     .....G.....T.T...G...C..C..T...
IBT944     .....G.....ATT.....GG..C..C..T...
ECO48      .....G.....ATT.....GG..C..C..T...
IBT945     .....G.....T.....C...CT...T.
NY32       .....G.....T.....C..C.CT...T.

```

```

              70      80      90      100      110      120
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
ECO81  GCAGTAGGTGGGAAGCTATGACAAAGGCTTGTGGGTTTATTGGAGCTAACAGTGAGA
ECO85  ....C.....G...A..G...CAT...C..A.G...AA...C..T...
ECO17  .....A.....G...C...TG...C.....C...G...CACA...C.TT...
ECO34  .....A.....G...C...TG...C.....C...G...CACA...C.TT...
ECO47  .....A.....G...C...TG...C.....C...G...CACA...C.TT...
NY17   .....A.....G...C...TG...C.....C...G...CACA...C.TT...
FP13   ....C.....G...TA..AT.C.TAT.....A.A.G.A...C.....
NY26   ....C.....G...TA..TT..TA...C...A..A...C.....
ECO88  .....T.....G...A..A.G..TAT...C...A.A...T...C.T...
NY25   .....T.....G...A..A.G..TAT...C...A.A...T...C.T...
ECO46  ....C..T.....G...A..A...TA.....G...T...C.T...
IBT935  ....C.....G...A..T...GTAT...C...A.AC..G...C.C...
SP7C   .....T.....G...A..A.G..TAT...CC..A.AC.C.C...C.T...
SP64   .....T.....G...A..A.G..TAT...CC..A.AC.C.C...C.T...
ECO41  .....T.....G...A..A.G..TAT...CC..A.AC.C.C...C.T...
NY20   .....T.....G...A..A.G..TAT...CC..A.AC.C.C...C.T...
NY19   .....T.....G...A..A.G..TAT...CC..A.AC.C.C...C.T...

```

```

NY24      ....T....G...A.A.G.TAT..CC..A.AC.C.C...C.T.....
IBT936    ...C....G...A.TCT..TAT...C..A.A..AA...C.C.....
SP77      ...C....G...A.TCT..TAT...C..A.A..AA...C.C.....
SP78      ...C....G...A.TCT..TAT...C..A.A..AA...C.C.....
SP16b     ...C....G...A.A....T...C..A.C...T...T.....
SP52a     ...C....G...A.A....T...C..A.C...T...T.....
SP61      ...C....G...A.A....T...C..A.C...T...T.....
ECO40     ...C....G...A.A....T...C..A.C...T...T.....
NY21      ...C....G...A.A....T...C..A.C...T...T.....
IBT943    ...C....G...A.A....T...C..A.C...T...T.....
FP12      ...C....G...A.G...T...C.A...A..A...C.T.....
NY22      ...C....G...A.G...T...C.A...A..A...C.T.....
ECO89     ...C....G...A.G...T...C.A...A..A...C.T.....
SP9a      ...G...A....G...A.T...AT...C...R..R...C.TG.....
ECO73     ...G...A....G...A.T...AT...C...R..R...C.TG.....
ECO55     ...G....G...A.A...AT...C...A..G..A...C.TG.....
ECO68     ...G....G...A.A...AT...C...A..G..A...C.TG.....
NY23      ...G....G...A.A...AT...C...A..G..A...C.TG.....
NY35      ...C....G...T...TGT.GAT...AC...A..GA.T...CGCT.....
NY10      ...C....G...T...TGT...T...A...A...GC...C.T.....
NY11      ...C....G...T...TGT...T...A...A...GC...C.T.....
NY01      ...G.T.T...T.T.G.TT..T...AA.C.A...C.T.....
ECO27     ...G.T.T...T.T.G.TT..T...AA.C.A...C.T.....
FP05      ...G.T.T...T.T.G.TT..T...AA.C.A...C.T.....
SP29      ...G.T.T...T.T.G.TT..T...AA.C.A...C.T.....
NY05      ...C....G...GA.T.T.G.T...AA...A..A...C.T.....
ECO06     ...C....G...GA.T.T.G.T...AA...A..A...C.T.....
NY03      ...C....G...T...GT.GAT...AC...A..A.T...CGT.....
NY04      ...C....G...T...GT..AT...AC...A..GA.T...C.T.....
NY08      ...C....G...T...GT..AT...AC...A..GA.T...C.T.....
NY09      ...C....G...T...GT..AT...AC...A..GA.T...C.T.....
ECO08     ...C....G...T...GT..AT...AC...A..GA.T...C.T.....
SP48      ...C....G...T...GT..AT...AC...A..GA.T...C.T.....
SP54      ...C....G...T...GT..AT...AC...A..GA.T...C.T.....
SP60      ...C....G...T...GT..AT...AC...A..GA.T...C.T.....
SP23      ...C....G...T...TGT.GAT...AC...A..GA.T...CGCT.....
SP11a     ...C....G...T...TGT.GAT...AC...A..GA.T...CGCT.....
SP12      ...C....G...T...TGT.GAT...AC...A..GA.T...CGCT.....
SP18a     ...C....G...T...TGT.GAT...AC...A..GA.T...CGCT.....
SP36      ...C....G...T...TGT.GAT...AC...A..GA.T...CGCT.....
ECO09     ...C....G...T...TGT.GAT...AC...A..GA.T...CGCT.....
ECO86     ...C....G...T...TGT.GAT...AC...A..GA.T...CGCT.....
ECO87     ...C....G...T...TGT.GAT...AC...A..GA.T...CGCT.....
NY07      ...C....G...T...TGT.GAT...AC...A..GA.T...CGCT.....
IBT946    ...C....G...T...TGT.GAT...AC...A..GA.T...CGCT.....
SP69      ...C....G...T...TGT.GAT...AC...A..GA.T...CGCT.....
SP37      ...C....G...T...TGT.GAT...AC...A..GA.T...CGCT.....
FP11      ...C....G...T...TGT.GAT...AC...A..GA.T...CGCT.....
NY02      ...C....G...T...GT.GAT...AC...A..A.T...C.T.....
NY12      ...C....G...T...GT.GAT...AC...A..A.T...C.T.....
FP15      ...C....G...T...GT.GAT...AC...A..A.T...C.T.....
NY06      ...C....G...T...TGTC.TT...AC...A..GA.T...CG.T.....
SP72      ...C....G...T...TGTC.TT...AC...A..GA.T...CG.T.....
SP74a     ...C....G...T...TGTC.TT...AC...A..GA.T...CG.T.....
SP10      ...C....G...T...TGT...T...A...A...A...C.T.....
SP32      ...C....G...T...TGT...T...A...A...A...C.T.....
SP43      ...G.GT...A...A.T..TC...C...C.T.....
ECO02     ...G.GT...A...A.T..TC...C...C.T.....
ECO01     ...G.GT...A...A.T..TC...C...C.T.....
FP36      ...C....G...GT...AG...A..TC..TCC...CT...C.T.....
FP38      ...C....G...GT...AG...A..TC..TCC...CT...C.T.....
FP39      ...C....G...GT...AG...A..TC..TCC...CT...C.T.....

```

```

FP01      ....C.....G..GT...AGG...A..TC..TCC...T...C.T.....
FP02      ....C.....G..GT...AGG...A..TC..TCC...T...C.T.....
FP03      ....C.....G..GT...AGG...A..TC..TCC...T...C.T.....
FP31      ....C.....G..GT...AGG...A..TC..TCC...T...C.T.....
FP33      ....C.....G..GT...AGG...A..TC..TCC...T...C.T.....
FP34      ....C.....G..GT...AGG...A..TC..TCC...T...C.T.....
NY14      ....C.....G..GT...AGG...A..TC..TCC...T...C.T.....
NY16      ....C.....G..GT...AGG...A..TC..TCC...T...C.T.....
NY15      ....C.....G..GT...AGG...A..TC..TCC...T...C.T.....
ECO54     ....CC.....G..A...TGG.TTT..C...AAA...TT..CGT.C.....
IBT951    ....CC.....G..A...TGG.TTT..C...AAA...TT..CGT.C.....
IBT949    ....CC.....G..A...TG.TTT..C...AAAG..TT..CGT.C.....
IBT944    ....C.....G..GT...T.T..A.T..TC..AC...A.T...C.T.....
ECO48     ....C.....G..GT...T.T..A.T..TC..AC...A.T...C.T.....
IBT945    ....G.....G..GT...A..A.T..TC..C.....C.T.....
NY32      ....G.....G..CT...A.T..A.T..TC..AC...G.....C.T.....

          130          140          150          160          170          180
ECO81     TACCACCCTTAATAAACTAGAAATCTAACTTTGATAGTCGTTAACCGGCCAAAGAACAGT
ECO85     ....T.C.....G.....C.....T.....AT.C.A...T.T.....AG.....
ECO17     ....T..GGT...GG.....G.....T-T.C.A...T.T.....
ECO34     ....T..GGT...GG.....G.....T-T.C.A...T.T.....
ECO47     ....T..GGT...GG.....G.....T-T.C.A...T.T.....
NY17      ....T..GGT...GG.....G.....T-T.C.A...T.T.....
FP13      ....T..A.T.....TC.....-.....T.....GA.....
NY26      ....T..A.T.....TC.....-..C.....GA.....
ECO88     ....T..A.....A.....C.....G.....T.....
NY25      ....T..A.....A.....C.....G.....T.....
ECO46     ....T..A.....C.....G.....T.....
IBT935    ....T..A.....C.....A..C.....G.....
SP7C      ....T..A.....A.....T.....
SP64      ....T..A.....A.....T.....
ECO41     ....T..A.....A.....T.....
NY20      ....T..A.....A.....T.....
NY19      ....T..A.....A.....T.....
NY24      ....T..A.....A.....T.....
IBT936    ....T..A.T.....TC.....-T.C...C.T.....GA.....T.....
SP77      ....T..A.T.....TC.....-T.C...C.T.....GA.....T.....
SP78      ....T..A.T.....TC.....-T.C...C.T.....GA.....T.....
SP16b     ....T..GG.A..G.....C...A..C.....T.....G.G.....
SP52a     ....T..GG.A..G.....C...A..C.....T.....G.G.....
SP61      ....T..GG.A..G.....C...A..C.....T.....G.G.....
ECO40     ....T..GG.A..G.....C...A..C.....T.....G.G.....
NY21      ....T..GG.A..G.....C...A..C.....T.....G.G.....
IBT943    ....T..GG.A..G.....C...A..C.....T.....G.G.....
FP12      ....T..A.T.....A.....C.....-.....G.....
NY22      ....T..A.T.....A.....C.....-.....G.....
ECO89     ....T..A.T.....A.....C.....-.....G.....
SP9a      ....T..GG.A..G.....C...A..C.....T.....G.....
ECO73     ....T..GG.A..G.....C...A..C.....T.....G.....
ECO55     ....T..GG.A..G.....C...A..C.....T.....G.....
ECO68     ....T..GG.A..G.....C...A..C.....T.....G.....
NY23      ....T..GG.A..G.....C...A..C.....T.....G.....
NY35      ....T...TA.....C.....C...T-A.....G...T..GG.....
NY10      ....T..G.TA.....CC.AT-A.....G...TT.GG.G.....
NY11      ....T..G.TA.....CC.AT-A.....G...TT.GG.G.....
NY01      ....T..G.TAG.....C...T-A.....G...AT..GG.G.....
ECO27     ....T..G.TAG.....C...T-A.....G...AT..GG.G.....
FP05      ....T..G.TAG.....C...T-A.....G...AT..GG.G.....
SP29      ....T..G.TAG.....C...T-A.....G...AT..GG.G.....
NY05      ....T...CTA.....C...T-A.....G...T..GG.....

```

```

ECO06      . . . . . T . . CTA . . . . . C . . T - A . . . . . G . . . T . GG . . . . .
NY03       . . . . . T . . TA . . . . . C . . T - A . . . . . G . . . T . GG . G . . . . .
NY04       . . . . . T . . TA . . . . . C . . C - A . . . . . G . . . T . GG . G . . . . .
NY08       . . . . . T . . TA . . . . . C . . C - A . . . . . G . . . T . GG . G . . . . .
NY09       . . . . . T . . TA . . . . . C . . C - A . . . . . G . . . T . GG . G . . . . .
ECO08      . . . . . T . . TA . . . . . C . . C - A . . . . . G . . . T . GG . G . . . . .
SP48       . . . . . T . . TA . . . . . C . . C - A . . . . . G . . . T . GG . G . . . . .
SP54       . . . . . T . . TA . . . . . C . . C - A . . . . . G . . . T . GG . G . . . . .
SP60       . . . . . T . . TA . . . . . C . . C - A . . . . . G . . . T . GG . G . . . . .
SP23       . . . . . T . . TA . . . . . C . . . . . C . . T - A . . . . . G . . . T . GG . . . . .
SP11a      . . . . . T . . TA . . . . . C . . . . . C . . T - A . . . . . G . . . T . GG . . . . .
SP12       . . . . . T . . TA . . . . . C . . . . . C . . T - A . . . . . G . . . T . GG . . . . .
SP18a      . . . . . T . . TA . . . . . C . . . . . C . . T - A . . . . . G . . . T . GG . . . . .
SP36       . . . . . T . . TA . . . . . C . . . . . C . . T - A . . . . . G . . . T . GG . . . . .
ECO09      . . . . . T . . TA . . . . . C . . . . . C . . T - A . . . . . G . . . T . GG . . . . .
ECO86      . . . . . T . . TA . . . . . C . . . . . C . . T - A . . . . . G . . . T . GG . . . . .
ECO87      . . . . . T . . TA . . . . . C . . . . . C . . T - A . . . . . G . . . T . GG . . . . .
NY07       . . . . . T . . TA . . . . . C . . . . . C . . T - A . . . . . G . . . T . GG . . . . .
IBT946     . . . . . T . . TA . . . . . C . . . . . C . . T - A . . . . . G . . . T . GG . . . . .
SP69       . . . . . T . . TA . . . . . C . . . . . C . . T - A . . . . . G . . . T . GG . . . . .
SP37       . . . . . T . . TA . . . . . C . . . . . C . . T - A . . . . . G . . . T . GG . . . . .
FP11       . . . . . T . . TA . . . . . C . . . . . C . . T - A . . . . . G . . . T . GG . . . . .
NY02       . . . . . T . . TA . . . . . C . . . . . C . . T - A . . . . . G . . . T . GG . G . . . . .
NY12       . . . . . T . . TA . . . . . C . . . . . C . . T - A . . . . . G . . . T . GG . G . . . . .
FP15       . . . . . T . . TA . . . . . C . . . . . C . . T - A . . . . . G . . . T . GG . G . . . . .
NY06       . . . . . T . . TA . . . . . C . . . . . C . . T - A . . . . . G . . . T . GG . . . . .
SP72       . . . . . T . . TA . . . . . C . . . . . C . . T - A . . . . . G . . . T . GG . . . . .
SP74a      . . . . . T . . TA . . . . . C . . . . . C . . T - A . . . . . G . . . T . GG . . . . .
SP10       . . . . . T . A . TA . . . . . C . . . . . CC . AT - AC . . . . . G . . . TT . GG . G . . . . .
SP32       . . . . . T . A . TA . . . . . C . . . . . CC . AT - AC . . . . . G . . . TT . GG . G . . . . .
SP43       . . . . . TA . C . AG . G . . . . . G . . . . . TAGGAC . CC . T . A - T . A . ATCCTTG . . . . .
ECO02      . . . . . TA . C . AG . G . . . . . G . . . . . TAGGAC . CC . T . A - T . A . ATCCTTG . . . . .
ECO01      . . . . . TA . C . AG . G . . . . . G . . . . . TAGGAC . CC . T . A - T . A . ATCCTTG . . . . .
FP36       G . . . . T . G . AG . G . . . . . C . . . . . TAG . AC . CC . T . A - T . A . AT . CTTG . C . . .
FP38       G . . . . T . G . AG . G . . . . . C . . . . . TAG . AC . CC . T . A - T . A . AT . CTTG . C . . .
FP39       G . . . . T . G . AG . G . . . . . C . . . . . TAG . AC . CC . T . A - T . A . AT . CTTG . C . . .
FP01       G . . . . T . G . AG . G . . . . . C . . . . . TAG . AC . CC . T . A - T . A . AT . CTTG . C . . .
FP02       G . . . . T . G . AG . G . . . . . C . . . . . TAG . AC . CC . T . A - T . A . AT . CTTG . C . . .
FP03       G . . . . T . G . AG . G . . . . . C . . . . . TAG . AC . CC . T . A - T . A . AT . CTTG . C . . .
FP31       G . . . . T . G . AG . G . . . . . C . . . . . TAG . AC . CC . T . A - T . A . AT . CTTG . C . . .
FP33       G . . . . T . G . AG . G . . . . . C . . . . . TAG . AC . CC . T . A - T . A . AT . CTTG . C . . .
FP34       G . . . . T . G . AG . G . . . . . C . . . . . TAG . AC . CC . T . A - T . A . AT . CTTG . C . . .
NY14       G . . . . T . G . AG . G . . . . . C . . . . . TAG . AC . CC . T . A - T . A . AT . CTTG . C . . .
NY16       G . . . . T . G . AG . G . . . . . C . . . . . TAG . AC . CC . T . A - T . A . AT . CTTG . C . . .
NY15       G . . . . T . G . AG . G . . . . . C . . . . . TAG . AC . CC . T . A - T . A . AT . CTTG . C . . .
ECO54      G . . . . T . G . A . G . . . . . C . . . . . TGA . . . CC . T . A - T . A . A . TTTG . . . . .
IBT951     G . . . . T . G . A . G . . . . . C . . . . . TGA . . . CC . T . A - T . A . A . TTTG . . . . .
IBT949     G . . . . T . G . GA . G . . . . . C . . . . . TGA . . . CC . T . A - T . A . A . TTTG . . . . .
IBT944     G . . . . T . A . AG . G . . . . . C . . . . . TAGGAC . CC . T . A - T . A . ATCCTTG . . . . .
ECO48      G . . . . T . A . AG . G . . . . . C . . . . . TAGGAC . CC . T . A - T . A . ATCCTTG . . . . .
IBT945     . . . . . TA . A . AG . . . . . G . . . . . TAGGAC . CC . T . A - T . A . ATCCTTG . . . . .
NY32       . . . . . TA . C . AG . G . . . . . C . . . . . TAGGAC . CC . T . A - T . A . ATCCTTG . . . . .

```

190 200 210 220 230 240

```

ECO81      . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . |
ECO85      . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . .
ECO17      . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . .
ECO34      . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . .
ECO47      . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . .
NY17       . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . .
FP13       . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . . A . . . . .

```


[illegible]

SP72	C.....-.....A.....
SP74a	C.....-.....A.....
SP10	C.....-.....A.....
SP32	C.....-.....A.....
SP43	C..A.....T.....AT.....G.C.....
ECO02	C..A.....T.....AT.....G.C.....
ECO01	C..A.....T.....AT.....G.C.....
FP36	C..A.CT...TT.....AT.....G-.....A.....T.....
FP38	C..A.CT...TT.....AT.....G-.....A.....T.....
FP39	C..A.CT...TT.....AT.....G-.....A.....T.....
FP01	C..A.CT...TT.....AT.....G-.....A.....T.....
FP02	C..A.CT...TT.....AT.....G-.....A.....T.....
FP03	C..A.CT...TT.....AT.....G-.....A.....T.....
FP31	C..A.CT...TT.....AT.....G-.....A.....T.....
FP33	C..A.CT...TT.....AT.....G-.....A.....T.....
FP34	C..A.CT...TT.....AT.....G-.....A.....T.....
NY14	C..A.CT...TT.....AT.....G-.....A.....T.....
NY16	C..A.CT...TT.....AT.....G-.....A.....T.....
NY15	C..A.CT...TT.....AT.....G-.....A.....T.....
ECO54	.G.....T.....A.....-.....A.....
IBT951	.G.....T.....A.....-.....A.....
IBT949	.G.....T.....A.....-.....A.....
IBT944	A..A.....GA.....-C.....T.....
ECO48	A..A.....GA.....-C.....T.....
IBT945	C..A.....T.....ATA.....-.....
NY32	C..A.....T.....AT.....-.....
	250 260 270 280 290 300
ECO81	GGTTCCCTCAGACTGGTCGGAAATCAGTCTTAGAGTATAAAGGCATAAGGGAGCTTGACT
ECO85	G.....G.....
ECO17	T.....AG.....CTG.....A.....
ECO34	T.....AG.....CTG.....A.....
ECO47	T.....AG.....CTG.....A.....
NY17	T.....AG.....CTG.....A.....
FP13	T.....G.....T.....G.....A.....
NY26	T.....G.....G.....A.....
ECO88	T.....C.....A.....
NY25	T.....C.....A.....
ECO46	T.....C.....A.....
IBT935	T.....T.....A.....
SP7C	T.....C.....A.....
SP64	T.....C.....A.....
ECO41	T.....C.....A.....
NY20	T.....C.....A.....
NY19	T.....C.....A.....
NY24	T.....C.....A.....
IBT936	T.....G.....A.....G.....A.....
SP77	T.....G.....A.....G.....A.....
SP78	T.....G.....A.....G.....A.....
SP16b	G.....T.....G.....G.....
SP52a	G.....T.....G.....G.....
SP61	G.....T.....G.....G.....
ECO40	G.....T.....G.....G.....
NY21	G.....T.....G.....G.....
IBT943	G.....T.....G.....G.....
FP12	T.T.....G.....G.....A.A.....
NY22	T.T.....G.....G.....A.A.....
ECO89	T.T.....G.....G.....A.A.....
SP9a	T.....G.....G.....A.....
ECO73	T.....G.....G.....A.....
ECO55	T.....G.....G.....A.....

```

ECO68      . . . . . T . . . . . G . . . . . G . . . . . G . . . . . A . . . . .
NY23       . . . . . T . . . . . G . . . . . G . . . . . G . . . . . A . . . . .
NY35       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GA . . . . . C . . . . . A . . . . .
NY10       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . G . . . . . GC . . . . . A . . . . .
NY11       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . G . . . . . GC . . . . . A . . . . .
NY01       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . G . . . . . GC . . . . . A . . . . .
ECO27      . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . G . . . . . GC . . . . . A . . . . .
FP05       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . G . . . . . GC . . . . . A . . . . .
SP29       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . G . . . . . GC . . . . . A . . . . .
NY05       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . G . . . . . G . . . . . A . . . . .
ECO06      . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . G . . . . . G . . . . . A . . . . .
NY03       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . G . . . . . G . . . . . A . . . . .
NY04       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GG . . . . . C . . . . . A . . . . .
NY08       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GG . . . . . C . . . . . A . . . . .
NY09       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GG . . . . . C . . . . . A . . . . .
ECO08      . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GG . . . . . C . . . . . A . . . . .
SP48       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GG . . . . . C . . . . . A . . . . .
SP54       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GG . . . . . C . . . . . A . . . . .
SP60       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GG . . . . . C . . . . . A . . . . .
SP23       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GA . . . . . C . . . . . A . . . . .
SP11a      . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GA . . . . . C . . . . . A . . . . .
SP12       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GA . . . . . C . . . . . A . . . . .
SP18a      . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GA . . . . . C . . . . . A . . . . .
SP36       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GA . . . . . C . . . . . A . . . . .
ECO09      . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GA . . . . . C . . . . . A . . . . .
ECO86      . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GA . . . . . C . . . . . A . . . . .
ECO87      . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GA . . . . . C . . . . . A . . . . .
NY07       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GA . . . . . C . . . . . A . . . . .
IBT946     . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GA . . . . . C . . . . . A . . . . .
SP69       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GA . . . . . C . . . . . A . . . . .
SP37       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GA . . . . . C . . . . . A . . . . .
FP11       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GA . . . . . C . . . . . A . . . . .
NY02       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GG . . . . . C . . . . . A . . . . .
NY12       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GG . . . . . C . . . . . A . . . . .
FP15       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GG . . . . . C . . . . . A . . . . .
NY06       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GA . . . . . G . . . . . A . . . . .
SP72       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GA . . . . . G . . . . . A . . . . .
SP74a      . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . GA . . . . . G . . . . . A . . . . .
SP10       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . G . . . . . GC . . . . . A . . . . .
SP32       . . . . . T . . . . . TC . . . . . A . . . . . GA . G . . . . . GC . . . . . A . . . . .
SP43       . . . . . G . . . . . A . . . . . CTG . . . . . G . . . . . T G . . . . .
ECO02      . . . . . G . . . . . A . . . . . CTG . . . . . G . . . . . T G . . . . .
ECO01      . . . . . G . . . . . A . . . . . CTG . . . . . G . . . . . T G . . . . .
FP36       . . . . . G . . . . . A . . . . . CTG . . . . . G . . . . . T G . . . . .
FP38       . . . . . G . . . . . A . . . . . CTG . . . . . G . . . . . T G . . . . .
FP39       . . . . . G . . . . . A . . . . . CTG . . . . . G . . . . . T G . . . . .
FP01       . . . . . G . . . . . A . . . . . CTG . . . . . G . . . . . T G . . . . .
FP02       . . . . . G . . . . . A . . . . . CTG . . . . . G . . . . . T G . . . . .
FP03       . . . . . G . . . . . A . . . . . CTG . . . . . G . . . . . T G . . . . .
FP31       . . . . . G . . . . . A . . . . . CTG . . . . . G . . . . . T G . . . . .
FP33       . . . . . G . . . . . A . . . . . CTG . . . . . G . . . . . T G . . . . .
FP34       . . . . . G . . . . . A . . . . . CTG . . . . . G . . . . . T G . . . . .
NY14       . . . . . G . . . . . A . . . . . CTG . . . . . G . . . . . T G . . . . .
NY16       . . . . . G . . . . . A . . . . . CTG . . . . . G . . . . . T G . . . . .
NY15       . . . . . G . . . . . A . . . . . CTG . . . . . G . . . . . T G . . . . .
ECO54      . . . . . G . . . . . A . . . . . CT A . . . . . G . . . . . T G . . . . .
IBT951     . . . . . G . . . . . A . . . . . CT A . . . . . G . . . . . T G . . . . .
IBT949     . . . . . G . . . . . A . . . . . CT A . . . . . G . . . . . T G . . . . .
IBT944     . . . . . AG . . . . . A . . . . . CTG . . . . . GC . . . . . T . . . . .
ECO48      . . . . . AG . . . . . A . . . . . CTG . . . . . GC . . . . . T . . . . .
IBT945     . . . . . G . . . . . A . . . . . CTG . . . . . G . . . . . T G . . . . .
NY32       . . . . . G . . . . . A . . . . . CTG . . . . . G . . . . . T A . . . . .

```

	310	320	330	340	350	360
ECO81	GCAAGACCTACAAGTCGAGCAGAGACGAAAGTCGGCCTTAGTGATCCGACAGTGC	TGAGT				
ECO85	T.....				A.C.....	
ECO17	A.....		T.....		A.....	
ECO34	A.....		T.....		A.....	
ECO47	A.....		T.....		A.....	
NY17	A.....		T.....		A.....	
FP13	.G.....					
NY26	.G.....					
ECO88	.G.....				A.....	
NY25	.G.....				A.....	
ECO46	.G....T.....					
IBT935			T.....			
SP7C						
SP64						
ECO41						
NY20						
NY19						
NY24						
IBT936	.G....T.....				A.....	
SP77	.G....T.....				A.....	
SP78	.G....T.....				A.....	
SP16b					C.....	
SP52a					C.....	
SP61					C.....	
ECO40					C.....	
NY21					C.....	
IBT943					C.....	
FP12	.G.....		T.....		A.....	
NY22	.G.....		T.....		A.....	
ECO89	.G.....		T.....		A.....	
SP9a	TG.....A.....				G.G.A.C.....	
ECO73	TG.....A.....				G.G.A.C.....	
ECO55	TG.....A.....				G.G.A.C.....	
ECO68	TG.....A.....				G.G.A.C.....	
NY23	TG.....A.....				G.G.A.C.....	
NY35	TG.....A.....		T.....		T.G.GA.AT.....	
NY10	TG.....A.....		T.....		T.G.GA.AT.....	
NY11	TG.....A.....		T.....		T.G.GA.AT.....	
NY01	TG....T...G...A.....		T.....		T.G.GA.AT.....	
ECO27	TG....T...G...A.....		T.....		T.G.GA.AT.....	
FP05	TG....T...G...A.....		T.....		T.G.GA.AT.....	
SP29	TG....T...G...A.....		T.....		T.G.GA.AT.....	
NY05	TG.....A.A.....		T.....		T.G.GA.AT.....	
ECO06	TG.....A.A.....		T.....		T.G.GA.AT.....	
NY03	TG.....A.....		T.....		T.G.GA.AT.....	
NY04	TG.....A.....		T.....		T.G.GA.AT.....	
NY08	TG.....A.....		T.....		T.G.GA.AT.....	
NY09	TG.....A.....		T.....		T.G.GA.AT.....	
ECO08	TG.....A.....		T.....		T.G.GA.AT.....	
SP48	TG.....A.....		T.....		T.G.GA.AT.....	
SP54	TG.....A.....		T.....		T.G.GA.AT.....	
SP60	TG.....A.....		T.....		T.G.GA.AT.....	
SP23	TG.....A.....		T.....		T.G.GA.AT.....	
SP11a	TG.....A.....		T.....		T.G.GA.AT.....	
SP12	TG.....A.....		T.....		T.G.GA.AT.....	
SP18a	TG.....A.....		T.....		T.G.GA.AT.....	
SP36	TG.....A.....		T.....		T.G.GA.AT.....	
ECO09	TG.....A.....		T.....		T.G.GA.AT.....	
ECO86	TG.....A.....		T.....		T.G.GA.AT.....	

```

ECO87  .TG.....A.....T.....T.G.GA.AT.....
NY07   .TG.....A.....T.....T.G.GA.AT.....
IBT946 .TG.....A.....T.....T.G.GA.AT.....
SP69   .TG.....A.....T.....T.G.GA.AT.....
SP37   .TG.....A.....T.....T.G.GA.AT.....
FP11   .TG.....A.....T.....T.G.GA.AT.....
NY02   .TG.....A.....T.....T.G.GA.AT.....
NY12   .TG.....A.....T.....T.G.GA.AT.....
FP15   .TG.....A.....T.....T.G.GA.AT.....
NY06   .TG.....A.....T.....T.G.GA.AT.....
SP72   .TG.....A.....T.....T.G.GA.AT.....
SP74a  .TG.....A.....T.....T.G.GA.AT.....
SP10   .TG.....A.....T.....T.G.GA.AT.....
SP32   .TG.....A.....T.....T.G.GA.AT.....
SP43   .....A.....A.....G.G.....C.....G..A.C.....
ECO02  .....A.....A.....G.G.....C.....G..A.C.....
ECO01  .....A.....A.....G.G.....C.....G..A.C.....
FP36   .....G.G.....C.....G..A.C.T.....
FP38   .....G.G.....C.....G..A.C.T.....
FP39   .....G.G.....C.....G..A.C.T.....
FP01   .....G.G.....C.....G..A.C.T.....
FP02   .....G.G.....C.....G..A.C.T.....
FP03   .....G.G.....C.....G..A.C.T.....
FP31   .....G.G.....C.....G..A.C.T.....
FP33   .....G.G.....C.....G..A.C.T.....
FP34   .....G.G.....C.....G..A.C.T.....
NY14   .....G.G.....C.....G..A.C.T.....
NY16   .....G.G.....C.....G..A.C.T.....
NY15   .....G.G.....C.....G..A.C.T.....
ECO54  .....AA.....G.G.....C.....G..A.C.C.....
IBT951 .....AA.....G.G.....C.....G..A.C.C.....
IBT949 .....AA.....G.G.....C.....G..A.C.C.....
IBT944 .....A.....G.....C.....G..T.C.....
ECO48  .....A.....G.....C.....G..T.C.....
IBT945 .....A.....G.G.....C.....G..A.C.....
NY32   .....A.....G.G.....C.....TG..A.C.....

```

```

          370      380      390      400      410
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
ECO81  GGAAAGGCTGTCGCTCAACGGATAAAAGTTATCCTAGGGATAACACGGAGT
ECO85  ....G.....
ECO17  .....
ECO34  .....
ECO47  .....
NY17   .....
FP13   .....
NY26   .....
ECO88  .....
NY25   .....
ECO46  .....
IBT935 .....
SP7C   .....
SP64   .....
ECO41  .....
NY20   .....
NY19   .....
NY24   .....
IBT936 .....
SP77   .....
SP78   .....
SP16b  ....G.....
SP52a  ....G.....

```

SP61	G.....
ECO40	G.....
NY21	G.....
IBT943	G.....
FP12	
NY22	
ECO89	
SP9a	G...C.....
ECO73	G...C.....
ECO55	G...C.....
ECO68	G...C.....
NY23	G...C.....
NY35	A.TC...A.....
NY10	A.TC...A.....
NY11	A.TC...A.....
NY01	A.TC...A.....
ECO27	A.TC...A.....
FP05	A.TC...A.....
SP29	A.TC...A.....
NY05	A.TC...A.....
ECO06	A.TC...A.....
NY03	A.TC...A.....
NY04	A.TC...A.....
NY08	A.TC...A.....
NY09	A.TC...A.....
ECO08	A.TC...A.....
SP48	A.TC...A.....
SP54	A.TC...A.....
SP60	A.TC...A.....
SP23	A.TC...A.....
SP11a	A.TC...A.....
SP12	A.TC...A.....
SP18a	A.TC...A.....
SP36	A.TC...A.....
ECO09	A.TC...A.....
ECO86	A.TC...A.....
ECO87	A.TC...A.....
NY07	A.TC...A.....
IBT946	A.TC...A.....
SP69	A.TC...A.....
SP37	A.TC...A.....
FP11	A.TC...A.....
NY02	A.TC...A.....
NY12	A.TC...A.....
FP15	A.TC...A.....
NY06	A.TC...A.....
SP72	A.TC...A.....
SP74a	A.TC...A.....
SP10	A.TC...A.....
SP32	A.TC...A.....
SP43	G...C.....
ECO02	G...C.....
ECO01	G...C.....
FP36	G...C.....
FP38	G...C.....
FP39	G...C.....
FP01	G...C.....
FP02	G...C.....
FP03	G...C.....
FP31	G...C.....
FP33	G...C.....
FP34	G...C.....

ANEXO II - Alinhamento das sequências do *cox1* para as espécies de Phaeophyceae e Rhodophyta obtidas neste trabalho, para referências Tabela 3. Posições idênticas são expressas por pontos (.) e os números acima dos nucleotídeos indicam a posição neste alinhamento.

	10	20	30	40	50	60																
SP64		TCAACAAATCATAAAGATATTGGTACTCTTTACTTAAATTTTCGGTGC	TTTTTCAGGTGTT																			
SP7C																						
ECO41																						
ECO46				T		T	A	C		T												
SP77			C	A		TC	T		T	A		GA										
NY26			Y	Y		Y		A	T		T		A		A							
ECO88			Y	Y		Y		A		C	T											
NY25			Y	Y		Y		A		C	T											
NY20			Y	Y		Y																
IBT936			Y	Y		Y	C	A		TC	T		T	A		GA						
ECO23			Y	Y		Y	A	AT	A	C		A	T		T	A	A					
ECO44			Y	Y		Y	A	AT	A	C		A	T		T	A	A					
ECO68			Y	Y		Y		AT	G	T		T		T	A	A	A					
ECO55			Y	Y		Y		AT	G	T		T		T	A	A	A					
ECO73			Y	Y		Y	A	AT	A	C		A	T		T	A	A					
NY24																						
ECO89			Y	Y		Y				T		T		C								
NY22			Y	Y		Y				T		T		C								
IBT943						C	A		T		A	T				A						
ECO40						A			T		A	T				A						
NY11	----		C	C	Y		W		C	G	T		A		C	G	C	T	A	G		
NY02	----		C	C	CY		W		T	A		G		T	A	G		T	A			
NY12	----		C	C	CY		W		T	A		G		T	A	G		T	A			
SP10	----		C	Y		A		T	A	TC		C	T		G	C	T	A				
NY01	----		C	C	Y		W		GT	A	T		G		T	CA	C		C	C		
NY05	----		C	C	Y		W		A	A	T			T	A		C		G	A		
NY06	----		C	C	Y		W		T	A		G		T	A	G	C	T	G			
NY03	----		C	C	Y		W		T	A		G		T	A	G		T	A			
NY08	----		C	C	Y		W		T	A		G		T	A	G		T	G			
NY09	----		C	C	Y		W		T	A		G		T	A	G		T	G			
ECO08	----		C	C	Y		W		T	A		G		T	A	G		T	G			
SP23	----		C	C	CY		W		T	A	T		G		T	A	G		T			
SP18a	----		C	C	CY		W		T	A	T		G		T	A	G		T			
SP12	----		C	C	CY		W		T	A	T		G		T	A	G		T			
SP11a	----		C	C	CY		W		T	A	T		G		T	A	G		T			
ECO87	----		C	C	Y		W		T	A	T		G		T	A	G		T			
ECO09	----		C	C	Y		W		T	A	T		G		T	A	G		T			
SP37	----		C	C	CY		W		T	A	T		G		T	A	G		T			
NY07	----		C	C	Y		W		T	A	T		G		T	A	G		T			
	70	80	90	100	110	120																
SP64		CTAGGTGGATGTATGTC	CAATGCTGATCCGTATGGAA	TTAGCTCAGCCTAGCA	ACCCTTA																	
SP7C																						
ECO41																						
ECO46		T		C		T	T	A	T		A		A	A								
SP77		A	T			T	T	A		T	T		T	C	A	G	T	T	AA	T		
NY26		T		A			T	A	TA	A		A	A	AG	T							
ECO88		T			C		G	T	A	T			A		T	T	T					
NY25		T			C		G	T	A	T			A		T	T	T					
NY20																						
IBT936		A	T			T	T		A		T	T		T	C	A	G	T	T	AA	T	
ECO23		T		CG		GCA		T	AT		A	G		C		A	A	AG	T	T	A	

SP23	T.AGGC..T.....T.A.....A..G.G..T.....T...T.A.....
SP18a	T.AGGC..T.....T.A.....A..G.G..T.....T...T.A.....
SP12	T.AGGC..T.....T.A.....A..G.G..T.....T...T.A.....
SP11a	T.AGGC..T.....T.A.....A..G.G..T.....T...T.A.....
ECO87	T.AGGC..T.....T.A.....A..G.G..T.....T...T.A.....
ECO09	T.AGGC..T.....T.A.....A..G.G..T.....T...T.A.....
SP37	T.AGGC..T.....T.A.....A..G.G..T.....T...T.A.....
NY07	T.AGGC..T.....T.A.....A..G.G..T.....T...T.A.....
	190 200 210 220 230 240
SP64	
SP7C	TTTTTTATGGTTATGCCGTAATGATTGGTGGATTGGAATTGATTAGTGCCAATAATG
ECO41	
ECO46	
SP77	
NY26	
ECO88	
NY25	
NY20	
IBT936	
ECO23	
ECO44	
ECO68	
ECO55	
ECO73	
NY24	
ECO89	
NY22	
IBT943	
ECO40	
NY11	
NY02	
NY12	
SP10	
NY01	
NY05	
NY06	
NY03	
NY08	
NY09	
ECO08	
SP23	
SP18a	
SP12	
SP11a	
ECO87	
ECO09	
SP37	
NY07	
	250 260 270 280 290 300
SP64	
SP7C	ATTGGTAGTCCAGATATGGCTTTTCCACGATTAAATAACATTTCGTTTTGATTATTACCT
ECO41	
ECO46	
SP77	
NY26	
ECO88	
NY25	
NY20	

IBT936G.....T.....A.....G..T.....T.....A.....C.....
 ECO23 ..C..GGC..T.....G.....C.....T...AGT..C..C.GC.....
 ECO44 ..C..GGC..T.....G.....C.....T...AGT..C..C.GC.....
 ECO68 ..A..AGCA.....C.....C..A.....C..T..CAGT.....C.....
 ECO55 ..A..AGCA.....C.....C..A.....C..T..CAGT.....GC.....
 ECO73 ..C..GGC..T.....G.....C.....T...AGT..C..C.GC.....
 NY24
 ECO89A.....T.....A.....T..A..A.....C.....A
 NY22A.....T.....A.....T..A..A.....C.....A
 IBT943 ..A..A.....C.....TC..C..T..AAGT.....G.....A
 ECO40 ..A..A.....C.....TC..C..T..AAGT.....G.....A
 NY11 ..C..GCC.....T..CA.G.....T...AGT..C..GC.G..G...
 NY02GC..G.....G.....T..TA.G.....T...AGT.....GC.GC...A
 NY12GC..G.....G.....T..TA.G.....T...AGT.....GC.GC...A
 SP10GC..T.....CA.G.....T...AGT.....G..G...G
 NY01GCC..G.....T..C.G.....AGT.....G.....G
 NY05GC..G.....G..C.....CA.G..C..T...AGT.....G..GC.C..A
 NY06GCC..G.....G..C..C..TA.G..C..T..AAGT.....G..G...A
 NY03GC..T.....T..TA.G.....T...AGT..C..G..GC.C..A
 NY08GC..T.....C..T..TA.G..C..T...AGT.....G..GC.....
 NY09GC..T.....C..T..TA.G..C..T...AGT.....G..GC.....
 ECO08GC..T.....C..T..TA.G..C..T...AGT.....G..GC.....
 SP23GCA.....C..C.....TA.G.....AGT.....G..GC.C...
 SP18aGCA.....C..C.....TA.G.....AGT.....G..GC.C...
 SP12GCA.....C..C.....TA.G.....AGT.....G..GC.C...
 SP11aGCA.....C..C.....TA.G.....AGT.....G..GC.C...
 ECO87GCA.....C..C.....TA.G.....AGT.....G..GC.C...
 ECO09GCA.....C..C.....TA.G.....AGT.....G..GC.C...
 SP37GCA.....C..C.....TA.G.....AGT.....G..GC.C...
 NY07GCA.....C..C.....TA.G.....AGT.....G..GC.C...

310 320 330 340 350 360
 SP64 CCTTCCTTATGTTTGTACTTATGTCAGCGCTTGTTGAAGTGGGTGTTGGTACTGGATGA
 SP7C
 ECO41
 ECO46AC.T.....A..T.A..T.....TA.....G.....A...CG.....A.....
 SP77 ..C..A.....A..T.A.T.A..T.TA.A.....T.....C..G..A..T...
 NY26A.....A..T.AGGT..TT.AA.G..G.....A...A.....A..T...
 ECO88C.....A.....C..TT.A.....
 NY25C.....A.....C..TT.A.....
 NY20
 IBT936 ..C..A.....A..T.A.T.A..T.TA.A.....T.....C..G..A..T...
 ECO23A.....C.TC.TT.AGGC..T..TA.G..A.....A...CG.....A.....
 ECO44A.....C.TC.TT.AGGC..T..TA.G..A.....A...CG.....A.....
 ECO68 ..G..G.....C.TC.T..AGGA..T..TA.G..C.....A...C.....A.....
 ECO55 ..G..G.....C.TC.T..AGGA..T..TA.G..C.....A...C.....A.....
 ECO73A.....C.TC.TT.AGGC..T..TA.G..A.....A...CG.....A.....
 NY24
 ECO89 ..A..G..G.....A..A.A.CA.....TA.....A.....A..A.C.....A..T...
 NY22 ..A..G..G.....A..A.A.CA.....TA.....A.....A..A.C.....A..T...
 IBT943AC.T...C.T...T.AGC...GT.TT.A.....A..G.C...A..A.C...
 ECO40AC.T...C.T...T.AGC...GT.TT.A.....A..G.C...A..A.C...
 NY11 ..G...C..ATAC.TC.CT.GGCA..TT.T..G.....TCT...CA..G..G..G..G
 NY02 ..G...GATCC.TC.TT.AGCT..T.CT.G..G..G.CA..A.CA.....A...G
 NY12 ..G...GATCC.TC.TT.AGCT..T.CT.G..G..G.CA..A.CA.....A...G
 SP10 ..A.....ATAC.TC.TT.AGCT..TT..T.A.....TCT..A.CA.....A..T..G
 NY01 ..A.....ATA..TC.TT.A.C...TT.TA.G..G...CC..G..A.....A...G
 NY05 ..A.....GATAC.TC.TT.GGCT..CT..T.G...G.C...A.CC.....G..G..G
 NY06 ..C.....AT.C.T...T.GGCC..TT.T..A.....CT...CA.....A..G..G
 NY03 ..G.....ATCC.TC.TT.AGCT..TT.CT.G..G..G.CA..A.CA.....A...G
 NY08 ..G.....AT.C.TC.TT.AGCT..TT.CT.A..A..G.CT..A.CG.....A..G..G

NY09 ..G.....AT.C.TC.TT.AGCT..TT.CT.A..A..G.CT..A.CG.....A..G..G
 ECO08 ..G.....AT.C.TC.TT.AGCT..TT.CT.A..A..G.CT..A.CG.....A..G..G
 SP23 ..A.....AT.C.TC.TT.AGCC..TT.TG.A.....G.CT..G.C.....G..T..G
 SP18a ..A.....AT.C.TC.TT.AGCC..TT.TG.A.....G.CT..G.C.....G..T..G
 SP12 ..A.....AT.C.TC.TT.AGCC..TT.TG.A.....G.CT..G.C.....G..T..G
 SP11a ..A.....AT.C.TC.TT.AGCC..TT.TG.A.....G.CT..G.C.....G..T..G
 ECO87 ..A.....AT.C.TC.TT.AGCC..TT.TG.A.....G.CT..G.C.....G..T..G
 ECO09 ..A.....AT.C.TC.TT.AGCC..TT.TG.A.....G.CT..G.C.....G..T..G
 SP37 ..A.....AT.C.TC.TT.AGCC..TT.TG.A.....G.CT..G.C.....G..T..G
 NY07 ..A.....AT.C.TC.TT.AGCC..TT.TG.A.....G.CT..G.C.....G..T..G

370 380 390 400 410 420
|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
 SP64 ACTGTTTACCCCTCCTTAGCTCAATTCAAAGTCACCTCAGGTGGTGTGTAGATTAGCT
 SP7C
 ECO41
 ECO46T..A..T..A..T.....C.....T..T..A..A.....C.....
 SP77 ..A..G..T.....AT..A..TGGG.....A..T.....CA..A..T.....A
 NY26 ..CA..A..T..A..T..A..T..T..A.....T.....A..CAT..C.....
 ECO88 ..A.....T.....C.....T.....C..T.....A..G.....
 NY25 ..A.....T.....C.....T.....C..T.....A..G.....
 NY20
 IBT936 ..A..G..T.....AT..A..TGGG.....A..T.....CA..A..T.....A
 ECO23 ..T..A..T.....AT..A.....G..C..T..G..C..C.....C
 ECO44 ..T..A..T.....AT..A.....G..C..T..G..C..C.....C
 ECO68 ..T..A.....T..A..T..T..A..G.....T.....A.....C..T..
 ECO55 ..T..A.....T..A..T..T..A..G.....T.....A.....C..T..
 ECO73 ..T..A..T.....AT..A.....G..C..T..G..C..C.....C
 NY24
 ECO89 ..C.....T..G..AT..A..TA..T..A.....T..T..G..C..A..G.....
 NY22 ..C.....T..G..AT..A..TA..T..A.....T..T..G..C..A..G.....
 IBT943 ..A..A..T.....AT..A..T..T.....T..T.....T.....A
 ECO40 ..A..A..T.....AT..A..T..T..C.....T..T.....T.....A
 NY11 ..C.....G..A.....GGT..A..GGC..T.....CC..T.....T..C..G..
 NY02 ..A..G..T..A.....A..TGGT.....GCA..T..G..ACCGT..A..G..C...A
 NY12 ..A..G..T..A.....A..TGGT.....GCA..T..G..ACCGT..A..G..C...A
 SP10 ..A.....T..A..AT..A..GGT.....GCG..T.....CC..T..A..T.....T.
 NY01 ..A..A..T.....T..A..TGGT..C.....GCG..T..G..GCCCT..G.....G..G..
 NY05 ..C.....C..AT..A..TGGC.....GCA.....CC..T..A..G.....
 NY06 ..A..G.....G..GT..A..TGGT..C.....GCA..T.....CC..T..G..T..C...A
 NY03 ..A..G..T..G.....TGGT.....GGCA.....G..ACC..T..G..T..C...C
 NY08 ..G.....T..G.....A..TGGC.....GCA.....G..ACC..T..T..CC...A
 NY09 ..G.....T..G.....A..TGGC.....GCA.....G..ACC..T..T..CC...A
 ECO08 ..G.....T..G.....A..TGGC.....GCA.....G..ACC..T..T..CC...A
 SP23 ..GA..A.....C..AT..G..TGGT.....GGCA.....CC..T..G..T..C.....
 SP18a ..GA..A.....C..AT..G..TGGT.....GGCA.....CC..T..G..T..C.....
 SP12 ..GA..A.....C..AT..G..TGGT.....GGCA.....CC..T..G..T..C.....
 SP11a ..GA..A.....C..AT..G..TGGT.....GGCA.....CC..T..G..T..C.....
 ECO87 ..GA..A.....C..AT..G..TGGT.....GGCA.....CC..T..G..T..C.....
 ECO09 ..GA..A.....C..AT..G..TGGT.....GGCA.....CC..T..G..T..C.....
 SP37 ..GA..A.....C..AT..G..TGGT.....GGCA.....CC..T..G..T..C.....
 NY07 ..GA..A.....C..AT..G..TGGT.....GGCA.....CC..T..G..T..C.....

430 440 450 460 470 480
|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
 SP64 ATTTTCAGTCTTCATATATCAGGTGCTTCTTCAATTTTAGGTGCTGTAAATTTTATTTCC
 SP7C
 ECO41
 ECO46T.....T.....A.....A.....A.....A.....A.....A
 SP77T..T..A..CT.....A.....A.....G.....A
 NY26CT..A..T.....A..A..A.....A..AA..T.....A..T
 ECO88 ..C..T.....T..G.....C.....C.....C.....C.....C.....A

490 500 510 520 530 540

SP64 ACCATCTTAAATATGAGAAGTCCTGGACAGAGTATGTATAGAATTCCTCTGTTTGTGTTGA

SP7C

ECO41

ECO46 . T . T C . T G . A CC T . A C . .

SP77 . T C . . A . TT . . T . A . CAT . T T . A . . T . A A . .

NY26 . A . . A . T . C . . C . T . A . G . A . . T . A . CA A . . A . T A . . G

ECO88 . T . TC T . A C . T

NY25 . T . TC T . A C . T

NY20

IBT936 . T C . . A . TT . . T . A . CAT . T T . A . . T . A A . .

ECO23 . T . A . T C . T . A . . A CC . C . A . . T . A C . .

ECO44 . T . A . T C . T . A . . A CC . C . A . . T . A C . .

ECO68 A . T . C . . C . C . A . . A . T . A C . T . A . . T . A

ECO55 A . T . C . . C . T . A . . A . T . A . C C . T . A . . T . A

ECO73 . T . A . T C . T . A . . A A CC . C . A . . T . A C . .

NY24

ECO89 . T . A . T C . T . A . T . . G . A G . AT . A

NY22 . T . A . T C . T . A . T . . G . A G . AT . A

IBT943 . A . T . G C . T . A . . A . G . A G . G . T . A G

ECO40 . A . T . G C . T . A . . A . G . A G . . T . A G

NY11 . T . T . T C . TGC TAT . CG . . G . C . . T . G . . T C . A . G

NY02 . A . T . T . C . . C . TGCA TAT . C . . C . C . TT . G A . G

NY12 . A . T . T . C . . C . TGCA TAT . C . . C . C . TT . G A . G

SP10 . T . T . T C . TGC TAT . C G . GT . A T . G . G

NY01 . T . AC . C C . T . TG . A . TAT C . . GT . A T . C . A . G

NY05 . T . T . C . C . . C . TGC TAT . C . . C T . A A G

NY06 . T . T . C C . TGCA CAT C . C . TT . A T . C . A . G

```

NY03      ..A..T..T..C...C.TGCA.....TAT...C...C..C.TT.G....T....G..G
NY08      ..A..T..C...C..CGCA.....TAT...C...C..C.T.G....T....A..G
NY09      ..A..T..C...C..CGCA.....TAT...C...C..C.T.G....T....A..G
ECO08     ..A..T..C...C..CGCA.....TAT...C...C..C.T.G....T....A..G
SP23      ....T..T..C...C.TGCA.....TAT...C...C..C.TT.A.....G..G
SP18a     ....T..T..C...C.TGCA.....TAT...C...C..C.TT.A.....G..G
SP12      ....T..T..C...C.TGCA.....TAT...C...C..C.TT.A.....G..G
SP11a     ....T..T..C...C.TGCA.....TAT...C...C..C.TT.A.....G..G
ECO87     ....T..T..C...C.TGCA.....TAT...C...C..C.TT.A.....G..G
ECO09     ....T..T..C...C.TGCA.....TAT...C...C..C.TT.A.....G..G
SP37      ....T..T..C...C.TGCA.....TAT...C...C..C.TT.A.....G..G
NY07      ....T..T..C...C.TGCA.....TAT...C...C..C.TT.A.....G..G

```

```

                    550      560      570      580      590      600
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
SP64      TCAATATTTGTAAACGGCATTCTACTTCTATTAGCAGTTCCCGTTCTAGCAGGAGCTATT
SP7C      .....
ECO41     .....
ECO46     ..T....C....T....T..T.GT.....A..AT.....A
SP77      ....T....T..T....T..AT.....T..G..A..T..T..T..A...
NY26      ....T..G....A..T..T..T..A.....A..T..AT.....A...
ECO88     .....T....T....T.....T..T..T..T..T...
NY25      .....T....T....T.....T..T..T..T..T...
NY20      .....
IBT936    ....T....T..T....T..AT.....T..G..A..T..T..T..A...
ECO23     ..C..T..AA.C..A..T..T....T.....A....GT.....T...
ECO44     ..C..T..AA.C..A..T..T....T.....A....GT.....T...
ECO68     ..T..C..AA...A..T..T..T..AT.....A..T..T..G..G....
ECO55     ..T..C..AA...A..T..AT..T..AT.....A..T..T..G..G....
ECO73     ..C..T..AA.C..A..T..T....T.....A....GT.....T...
NY24      .....
ECO89     ..T....A..T..T..T..T..T..AT.....T....T..AT...T....A
NY22      ..T....A..T..T..T..T..T..AT.....T....T..AT...T....A
IBT943    ..T..T..C..T..A.....T..GT..AT.....C..A..T..T....C..A..A
ECO40     ..T..T..C..T..A.....T..GT..AT.....C..A..T..T....C..A..A
NY11      ..TG..C..GA...A..T.....A..TC..TT..GT..G..T..T..G....G...
NY02      ..G..T..AA.T..A..T.....T..GT..G..T..GC...T..CT..G..G...G...C
NY12      ..G..T..AA.T..A..T.....T..GT..G..T..GC...T..CT..G..G...G...C
SP10      ..TG..T..AA...A..G.....CT...GT..TC.....T..C....G...
NY01      GGT..C...A..T..AT.....T....T....CT..TC...T..CT...C....C..A
NY05      ..TG..T..AA.T....T..T..T..G..T..G..GT..TC...T..T...C..T..G...
NY06      ..G..T..AA.T..A..C..CT..T..AT...GT..TC...T..AT...C....G...
NY03      ..G..T..AA.T..A..T.....T..AT.....T..C...T..T..G..G..G..G...
NY08      ..G..T..AA.C....T..C....AT.....T..TC...T..T..G..G..G..G...
NY09      ..G..T..AA.C....T..C....AT.....T..TC...T..T..G..G..G..G...
ECO08     ..G..T..AA.C....T..C....AT.....T..TC...T..T..G..G..G..G...
SP23      ..G..T..AA...A..T..C..T..GT.....T..TC..G..T..T....G...
SP18a     ..G..T..AA...A..T..C..T..GT.....T..TC..G..T..T....G...
SP12      ..G..T..AA...A..T..C..T..GT.....T..TC..G..T..T....G...
SP11a     ..G..T..AA...A..T..C..T..GT.....T..TC..G..T..T....G...
ECO87     ..G..T..AA...A..T..C..T..GT.....T..TC..G..T..T....G...
ECO09     ..G..T..AA...A..T..C..T..GT.....T..TC..G..T..T....G...
SP37      ..G..T..AA...A..T..C..T..GT.....T..TC..G..T..T....G...
NY07      ..G..T..AA...A..T..C..T..GT.....T..TC..G..T..T....G...

```

```

                    610      620      630      640      650      660
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
SP64      ACAATGCTTTTAAACAGACCGTAATTTTAAATACCTTCTTTTTCGATGCAGCAGGTGGTGGAA
SP7C      .....
ECO41     .....
ECO46     .....T..T..G.....A.....T..C..T.....A..G
SP77      ..G.....T..T.....A..A.....T..C..T.....T

```

```

NY26      . . . . . A . . . . . C . A . C . T . C . T - . . . A . A . .
ECO88     . . . . . G . T . . . . . G . A . C . T . . . . . G
NY25      . . . . . G . T . . . . . G . A . C . T . . . . . G
NY20      . . . . .
IBT936    . G . . . . . T . T . . . . . A . A . . T . C . T . . . . T
ECO23     . . . . T . A C . . . . . A . G . . . . . A . A . C . T . C . G T . . . . C
ECO44     . . . . T . A C . . . . . A . G . . . . . A . A . C . T . C . G T . . . . C
ECO68     . . . . T . A . . . T . T A . A . . . C . C . A A . A . . T . C C . T T . C . . . . T
ECO55     . . . . T . A . . . T . T A . A . . . C . C . A A . A . . T . C C . T T . C . . . . T
ECO73     . . . . T . A C . . . . . A . G . . . . . A . A . C . T . C . G T . . . . C
NY24      . . . . .
ECO89     . . . . . T . T A . A . . . . . A . T . . . T . C . T . . . G . A . .
NY22      . . . . . T . T A . A . . . . . A . T . . . T . C . T . . . G . A . .
IBT943    . . . . . T . T . . . . . G . G . . . T . C . . T . . . A . .
ECO40     . . . . . T . T . . . . . C . G . G . . . T . C . . T . . . A . .
NY11      . T . . . A . G . C . . A . A . . . . . C A . T . . . T . C C . G . . . . .
NY02      . . . . G C . . . C . . . A . . . . . C A . T . . . T . C . T . C . . . A . G
NY12      . . . . G C . . . C . . . A . . . . . C A . T . . . T . C . T . C . . . A . G
SP10      . . . . . T . A . G . . . C . C . A . T . . . T . C . C . C . . . . T
NY01      . . . . . T . . . . . A G G . . . A . T . . . T . C . T . T . . . . T
NY05      . T . . . . . T . T . . . . . A A . G . . . T . C . G . C . . . . T
NY06      T . . . . G . . . T . . . . . C . . . A A . . . T . C . T . . . G . G . T
NY03      . . . . G C . . . C . . . A . . . . . A A . T . . . T . C . T . C . . . A . G
NY08      . . . . G C . G . . . . . A . . . C . . . A A . T . . . T . C . T . T . . . A . G
NY09      . . . . G C . G . . . . . A . . . C . . . A A . T . . . T . C . T . T . . . A . G
ECO08     . . . . G C . G . . . . . A . . . C . . . A A . T . . . T . C . T . T . . . A . G
SP23      . . . . G C . G . . . T . . . . . A A . T . . . T . C C . . . G . A . A . .
SP18a     . . . . G C . G . . . T . . . . . A A . T . . . T . C C . . . G . A . A . .
SP12      . . . . G C . G . . . T . . . . . A A . T . . . T . C C . . . G . A . A . .
SP11a     . . . . G C . G . . . T . . . . . A A . T . . . T . C C . . . G . A . A . .
ECO87     . . . . G C . G . . . T . . . . . A A . T . . . T . C C . . . G . A . A . .
ECO09     . . . . G C . G . . . T . . . . . A A . T . . . T . C C . . . G . A . A . .
SP37      . . . . G C . G . . . T . . . . . A A . T . . . T . C C . . . G . A . A . .
NY07      . . . . G C . G . . . T . . . . . A A . T . . . T . C C . . . G . A . A . .

```

```

              670      680      690      700
      . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . .
SP64    G A T C C A A T T T T A T A C C A A C A T T T A T T C T G A T T T T T T G G A C A T C C
SP7C    . . . . .
ECO41    . . . . . T . . . . .
ECO46    . . . . G . . . . T . . . . . T . . . . .
SP77     . . . . T G . . . . T . . . . . T . . . . .
NY26     . . . . T . . . . . T . . . . .
ECO88     . . . . C G . . . . . R . Y . R . R . . . R .
NY25     . . . . C G . . . . . R . Y . R . R . . . R .
NY20     . . . . .
IBT936    . . . . T G . . . . T . . . . . R . Y . R . R . . . R .
ECO23     . . . . C . C . . C . G . . T . G . . . . R . Y . R . R . . . R .
ECO44     . . . . C . C . .
ECO68     . . . . T G . G . . . T . G . . . . R . Y . R . R . . . R .
ECO55     . . . . T G . G . . . T . G . . . . R . Y . R . R . . . R .
ECO73     . . . . C . C . . C . G . . T . G . T . . . R . Y . R . R . . . R .
NY24      . . . . .
ECO89     . . . . T . A . . . T . . . . . T . . . . .
NY22      . . . . T . A . . . T . . . . . T . . . . .
IBT943    . . . . T . C . . . . G . . . . T . . . . .
ECO40     . . . . T . C . . . . G . . . . T . . . . .
NY11      . . . . .
NY02      . . . . T G . C . T . . . G . . . . T . G . R . . . T . . .
NY12      . . . . T G . C . T . . . G . . . . T . G . R . . . T . . .
SP10      . . . . T G . A . G . . T . . . . G . T . G . C . . T . . .
NY01      . . . . G . . . . T . G . . . . G . T . G . R . . . T . . .

```

NY05 T G . . C . T G T . . G . . R T
 NY06 . . C . . G . . C . T . . T . . G . . C . A T . . T . . G . . R T
 NY03 T G . C C . T G G . . T . . G . . R T
 NY08 G G . G C . T . . T . . G . . C C . T . . T . . G . . R T
 NY09 G G . G C . T . . T . . G . . C C . T . . T . . G . . R T
 ECO08 G G . G C . T . . T . . G . . C C . T . . T . . G . . R T
 SP23 . . C . . T G . . C . T G C . T . . T . . G . . R T
 SP18a . . C . . T G . . C . T G C . T . . T . . G . . R T
 SP12 . . C . . T G . . C . T G C . T . . T . . G . . R T
 SP11a . . C . . T G . . C . T G C . T . . T . . G . . R T
 ECO87 . . C . . T G . . C . T G C . T . . T . . G . . R T
 ECO09 . . C . . T G . . C . T G C . T . . T . . G . . R T
 SP37 . . C . . T G . . C . T G C . T . . T . . G . . R T
 NY07 . . C . . T G . . C . T G C . T . . T . . G . . R T

ANEXO III - Alinhamento das sequências do *tufA* para as espécies de Chlorophyta obtidas neste trabalho, para referências Tabela 3. Posições idênticas são expressas por pontos (.) e os números acima dos nucleotídeos indicam a posição neste alinhamento.

	10	20	30	40	50	60
IBT945	AAAGAACATTTACTGTTAGCGAAACAAGTTGGAGTTCCAGATATTGTTGTTTTCTTAAAC					
FP01	A.....A.....A..G.....AC.C.....T.....T					
FP02	A.....A.....A..G.....AC.C.....T.....T					
FP03	A.....A.....A..G.....AC.C.....T.....T					
NY16	A.....A.....A..G.....GAC.C.....T.....T					
FP31	A.....A.....A..G.....AC.C.....T.....T					
FP33	A.....A.....A..G.....AC.C.....T.....T					
FP34	A.....A.....A..G.....AC.C.....T.....T					
FP37	A.....A.....A..G.....AC.C.....T.....T					
NY14	A.....A.....A..G.....AC.C.....T.....T					
FP36	A.....A.....C..C.....ACGC.....T					
FP38	A.....A.....C..C.....ACGC.....T					
FP39	A.....A.....C..C.....ACGC.....T					
FP35	C..GT.....A.....G.....A..T.....					
ECO02	C..GT.....A.....G.....A..T.....					
SP43	C..GT.....A.....G.....A..T.....					
ECO01	C..GT.....A.....G.....A..T.....					
NY32	T.....T.....C..A.....T.....					
IBT944	G.....T.A.....T.....A..T.....TA.....T.....T					
ECO48	G.....T.A.....T.....A..T.....TA.....T.....T					
IBT951	G.....A.TT.A.....A.....G.....T.....T.....G..T.....T					
IBT949	G.....A.TT.A.....A.....G.....T.....T.....G..T.....T					
ECO54	G.....A.TT.A.....A.....G.....T.....T.....G..T.....T					
	70	80	90	100	110	120
IBT945	AAAGAGGACCAAGTTGATGACCCCGAATTACTTGAAGTAGTTGACTTAGAAGTTTCGCGAA					
FP01	A..T.....T.....T.A..GT.....A.....					
FP02	A..T.....T.....T.A..GT.....A.....					
FP03	A..T.....T.....T.A..GT.....A.....					
NY16	A..T.....T.....T.A..GT.....A.....					
FP31	A..T.....T.....T.A..GT.....A.....					
FP33	A..T.....T.....T.A..GT.....A.....					
FP34	A..T.....T.....T.A..GT.....A.....					
FP37	A..T.....T.....T.A..GT.....A.....					
NY14	A..T.....T.....T.A..GT.....A.....					
FP36	A..T.....T.....T.A..GT.....A.....					
FP38	A..T.....T.....T.A..GT.....A.....					
FP39	A..T.....T.....T.A..GT.....A.....					
FP35	A..T.....T.....T.A..G..G..C..AC.G.....T...					
ECO02	A..T.....T.....T.A..G..G..C..AC.G.....T...					
SP43	A..T.....T.....T.A..G..G..C..AC.G.....T...					
ECO01	A..T.....T.....T.A..G..G..C..AC.G.....T...					
NY32	T.....A.....T..A.....T.A.....T.....A.....T...					
IBT944	T.....A.....T.....T.A.....T.....C.A.....AA...					
ECO48	T.....A.....T.....T.A.....T.....C.A.....AA...					
IBT951	A..T.....TGAA..C.T..A.....T.....A..A.....AA.A...					
IBT949	A..T.....GAA..C.TT.A.....T.....A.....AA.A...					
ECO54	A..T.....TGAA..C.T..A.....T.....A..A.....AA.A...					
	130	140	150	160	170	180
IBT945	ACCTTAGATACATATGAATTTCCAGGCGATGACATTCCAATCATTTCAGGATCTGCTTTA					
FP01	..T.....TC.....C..A.....T.....T..G.....T..A..A...					

```

FP02      . . T . . . . . TC . . . . . C . A . . . . T . . . . . T . G . . . T . A . A . .
FP03      . . T . . . . . TC . . . . . C . A . . . . T . . . . . T . G . . . T . A . A . .
NY16      . . T . . . . . TC . . . . . C . A . . . . T . . . . . T . G . . . T . A . A . .
FP31      . . T . . . . . TC . . . . . C . A . . . . T . . . . . T . G . . . T . A . A . .
FP33      . . T . . . . . TC . . . . . C . A . . . . T . . . . . T . G . . . T . A . A . .
FP34      . . T . . . . . TC . . . . . C . A . . . . T . . . . . T . G . . . T . A . A . .
FP37      . . T . . . . . TC . . . . . C . A . . . . T . . . . . T . G . . . T . A . A . .
NY14      . . T . . . . . TC . . . . . C . A . . . . T . . . . . T . G . . . T . A . A . .
FP36      . . T . . . . . TT . . . . . C . A . . . . T . . . . . G T . . . G C . G . A . . . .
FP38      . . T . . . . . TT . . . . . C . A . . . . T . . . . . G T . . . G C . G . A . . . .
FP39      . . T . . . . . TT . . . . . C . A . . . . T . . . . . G T . . . G C . G . A . . . .
FP35      . . A . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . C . TG . . . T . . . T . A . A . .
ECO02     . . A . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . C . TG . . . T . . . T . A . A . .
SP43      . . A . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . C . TG . . . T . . . T . A . A . .
ECO01     . . A . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . C . TG . . . T . . . T . A . A . .
NY32      . . A . . . . . T . . . . . . . . . . . . . . . . . . G . . . . T . . . . . C . A . A . .
IBT944     . . AC . T . . G . T . . . . . . . . . . . . . . . . . . T . A . AG . A . T . TG . AA . T . T . A . . . .
ECO48      . . AC . T . . G . T . . . . . . . . . . . . . . . . . . T . A . AG . A . T . TG . AA . T . T . A . . . .
IBT951     . . T . . A . . AT . . . GC . CG . C . AA . AC . . . . . . . . . . TG . G . T . . . . A . . C . .
IBT949     . . T . . A . . AT . . . G . CG . C . AA . ACA . . . . . . . . . . TG . G . C . . . . . C . .
ECO54      . . T . . A . . AT . . . GC . CG . C . AA . AC . . . . . . . . . . TG . G . T . . . . A . . C . .

```

```

                190      200      210      220      230      240
                . . . . . | . . . . . | . . . . . | . . . . . | . . . . . | . . . . . |
IBT945     AATGCTTTAAACGCTTTAATTGAAACACC-AGGCC-----TGAAAAAA
FP01       C . A . A . . G . G . . . . . . . . . . AT . . -GAATG-----T . . . . .
FP02       C . A . A . . G . G . . . . . . . . . . AT . . -GAATG-----T . . . . .
FP03       C . A . A . . G . G . . . . . . . . . . AT . . -GAATG-----T . . . . .
NY16       C . A . A . . G . G . . . . . . . . . . AT . . -GAATG-----T . . . . .
FP31       C . A . A . . G . G . . . . . . . . . . AT . . -GAATG-----T . . . . .
FP33       C . A . A . . G . G . . . . . . . . . . AT . . -GAATG-----T . . . . .
FP34       C . A . A . . G . G . . . . . . . . . . AT . . -GAATG-----T . . . . .
FP37       C . A . A . . G . G . . . . . . . . . . AT . . -GAATG-----T . . . . .
NY14       C . A . A . . G . G . . . . . . . . . . AT . . -GAATG-----T . . . . .
FP36       CTA . A . . G . A . . . . . . . . . . AT . . - .AATG-----T . . G . .
FP38       CTA . A . . G . A . . . . . . . . . . AT . . - .AATG-----T . . G . .
FP39       CTA . A . . G . A . . . . . . . . . . AT . . - .AATG-----T . . G . .
FP35       . . . . . G . A . G . . . . . . . . . . T . . -G . CA .-----A . . C . .
ECO02      . . . . . G . A . G . . . . . . . . . . T . . -G . CA .-----A . . C . .
SP43       . . . . . G . A . G . . . . . . . . . . T . . -G . CA .-----A . . C . .
ECO01      . . . . . G . A . G . . . . . . . . . . T . . -G . CA .-----A . . C . .
NY32       CTA . C . . G . A . A . . G . . . . . AT . . AGCT . T-----A . . . . .
IBT944     TTA . A . . G . A . . . . . . . . . . ATA . TGAAGT-----TCT-----
ECO48      TTA . A . . G . A . . . . . . . . . . ATA . TGAAGT-----TCT-----
IBT951     CTA . . . . . CGA . . . . . GAA . . . . . ATA . A AAGAAAA TGGTAAGATTACTA . T . C . CG .
IBT949     TTA . . . . . GA . . . . . GAA . . GGATA . A . AAA . AAACGGTAAGATACTA . T . C . CG .
ECO54      CTA . . . . . CGA . . . . . GAA . . . . . ATA . A AAGAAAA TGGTAAGATTACTA . T . C . CG .

```

```

                250      260      270      280      290      300
                . . . . . | . . . . . | . . . . . | . . . . . | . . . . . | . . . . . |
IBT945     GGAGAGAATCAATGGGTTGATAAAATTTTTGATTTAATGGAAAAAGTTGATACTTATATT
FP01       . . G . . A . CG . C . . . . . . . . . . C . A . ACA . . . . . T . A . . T . C . . . . .
FP02       . . G . . A . CG . C . . . . . . . . . . C . A . ACA . . . . . T . A . . T . C . . . . .
FP03       . . G . . A . CG . C . . . . . . . . . . C . A . ACA . . . . . T . A . . T . C . . . . .
NY16       . . G . . A . CG . C . . . . . . . . . . C . A . ACA . . . . . T . A . . T . C . . . . .
FP31       . . G . . A . CG . C . . . . . . . . . . C . A . ACA . . . . . T . A . . T . C . . . . .
FP33       . . G . . A . CG . C . . . . . . . . . . C . A . ACA . . . . . T . A . . T . C . . . . .
FP34       . . G . . A . CG . C . . . . . . . . . . C . A . ACA . . . . . T . A . . T . C . . . . .
FP37       . . G . . A . CG . C . . . . . . . . . . C . A . ACA . . . . . T . A . . T . C . . . . .
NY14       . . G . . A . CG . C . . . . . . . . . . C . A . ACA . . . . . T . A . . T . C . . . . .
FP36       . . G . . A . . G . . . . . . . . . . C . A . ACA . . . . . T . A . CT . . . . . C .
FP38       . . G . . A . . G . . . . . . . . . . C . A . ACA . . . . . T . A . CT . . . . . C .

```

```

FP39      ..G..A..G.....C.A.ACA.....T..A..CT.....C
FP35      ..T..A..CA.....C.....C.....
ECO02     ..T..A..CA.....C.....C.....
SP43      ..T..A..CA.....C.....C.....
ECO01     ..T..A..CA.....C.....C.....
NY32      ..T..A...C.....C.....A..ACA.....T..A...G.....
IBT944    ---..T..CA.....G.....A.A.AC.....G.....C
ECO48     ---..T..CA.....G.....A.A.AC.....G.....C
IBT951    ..T..T..C.CG.....A.....A.AC.C.T.....T.....A..GAA.TC...
IBT949    ..C..T...C.....A.....A.AC.C.T.....T.....A..GAA.T...C
ECO54     ..T..T..C.CG.....A.....A.AC.C.T.....T.....A..GAA.TC...

```

```

                                310      320      330      340      350      360
IBT945    ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
FP01      .....G..T..T..G.....G..T..A.G.....GG.....T.....G
FP02      .....G..T..T..G.....G..T..A.G.....GG.....T.....G
FP03      .....G..T..T..G.....G..T..A.G.....GG.....T.....G
NY16      .....G..T..T..G.....G..T..A.G.....GG.....T.....G
FP31      .....G..T..T..G.....G..T..A.G.....GG.....T.....G
FP33      .....G..T..T..G.....G..T..A.G.....GG.....T.....G
FP34      .....G..T..T..G.....G..T..A.G.....GG.....T.....G
FP37      .....G..T..T..G.....G..T..A.G.....GG.....T.....G
NY14      .....G..T..T..G.....G..T..A.G.....GG.....T.....G
FP36      .....C..TA.T.....T..A.T.....TG.....T..C..G
FP38      .....C..TA.T.....T..A.T.....TG.....T..C..G
FP39      .....C..TA.T.....T..A.T.....TG.....T..C..G
FP35      ..T..T..T..T.....G..A.T...C.....C.....
ECO02     ..T..T..T..T.....G..A.T...C.....C.....
SP43      ..T..T..T..T.....G..A.T...C.....C.....
ECO01     ..T..T..T..T.....G..A.T...C.....C.....
NY32      .....T..T...C.....C..A.G..C.....T.....
IBT944    .....T..T.AA.....A.....T..A.....G..A.....C..T
ECO48     .....T..T.AA.....A.....T..A.....G..A.....C..T
IBT951    .....T...AA.....T..T.T...C.....T.....
IBT949    .....T..C.AA.....T..T.T.....T.....
ECO54     .....T...AA.....T..T.T...C.....T.....

```

```

                                370      380      390      400      410      420
IBT945    ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
FP01      ...C..A.....G..T...C...TT..T..G...AAC.....
FP02      ...C..A.....G..T...C...TT..T..G...AAC.....
FP03      ...C..A.....G..T...C...TT..T..G...AAC.....
NY16      ...C..A.....G..T...C...TT..T..G...AAC.....
FP31      ...C..A.....G..T...C...TT..T..G...AAC.....
FP33      ...C..A.....G..T...C...TT..T..G...AAC.....
FP34      ...C..A.....G..T...C...TT..T..G...AAC.....
FP37      ...C..A.....G..T...C...TT..T..G...AAC.....
NY14      ...C..A.....G..T...C...TT..T..G...AAC.....
FP36      .....A.....C..T.....TT.....G..AACA.....
FP38      .....A.....C..T.....TT.....G..AACA.....
FP39      .....A.....C..T.....TT.....G..AACA.....
FP35      ...C..T.....C..G..T.....A.....
ECO02     ...C..T.....C..G..T.....A.....
SP43      ...C..T.....C..G..T.....A.....
ECO01     ...C..T.....C..G..T.....A.....
NY32      .....G.....T.....A.....T.....G.....C..T.....
IBT944    .....T.....T.....T.....A..T..T.....AA.....
ECO48     .....T.....T.....T.....A..T..T.....AA.....
IBT951    .....T.....G.....A.....A.A..CAGCG..T...GTT...
IBT949    .....T.....A.....A.A..AGCG..C...GTT...

```

```

ECO54      . . . . . T . . . . . G . . . . . A . . . . . A . A . . CAGCG . T . . . GTT . . .
              430      440      450      460      470      480
      . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . |
IBT945      GATACAAATTGAAATTATTGGTATTAAAGATACTGTAAACGACAACAGTAACAGGACTAGAA
FP01      . . A . . . . . . . . . . . AT . ACGC . . . . . AACG . . T . . . . G . . T . . TT . . . .
FP02      . . A . . . . . . . . . . . AT . ACGC . . . . . AACG . . T . . . . G . . T . . TT . . . .
FP03      . . A . . . . . . . . . . . AT . ACGC . . . . . AACG . . T . . . . G . . T . . TT . . . .
NY16      . . A . . . . . . . . . . . AT . ACGC . . . . . AACG . . T . . . . G . . T . . TT . . . .
FP31      . . A . . . . . . . . . . . AT . ACGC . . . . . AACG . . T . . . . G . . T . . TT . . . .
FP33      . . A . . . . . . . . . . . AT . ACGC . . . . . AACG . . T . . . . G . . T . . TT . . . .
FP34      . . A . . . . . . . . . . . AT . ACGC . . . . . AACG . . T . . . . G . . T . . TT . . . .
FP37      . . A . . . . . . . . . . . AT . ACGC . . . . . AACG . . T . . . . G . . T . . TT . . . .
NY14      . . A . . . . . . . . . . . AT . ACGC . . . . . AACG . . T . . . . G . . T . . TT . . . .
FP36      . . A . . . . . . . . . . . AT . ACGC . . . . . AAC . . T . . . . C . . T . . TT . . . .
FP38      . . A . . . . . . . . . . . AT . ACGC . . . . . AAC . . T . . . . C . . T . . TT . . . .
FP39      . . A . . . . . . . . . . . AT . ACGC . . . . . AAC . . T . . . . C . . T . . TT . . . .
FP35      . . C . . . . . . . . . . . G . C . . . . . A . T . A . . . . T . . . . T . GT . . G
ECO02      . . C . . . . . . . . . . . G . C . . . . . A . T . A . . . . T . . . . T . GT . . G
SP43      . . C . . . . . . . . . . . G . C . . . . . A . T . A . . . . T . . . . T . GT . . G
ECO01      . . C . . . . . . . . . . . G . C . . . . . A . T . A . . . . T . . . . T . GT . . G
NY32      . . C . . . . . . . . . . . T . A . . . . . AAC . . T . . . . C . . . . T . . T . . . .
IBT944      . . A . . G . A . . TC . . G . . . . AT . AGG . . . . . AAA . GTGT . . . . . T . . T . . GT . . . .
ECO48      . . A . . G . A . . TC . . G . . . . AT . AGG . . . . . AAA . GTGT . . . . . T . . T . . GT . . . .
IBT951      . . A . . G . . . . C . . G . . . . T . AGG . A . . . . ACG . . A . . T . . T . . TT . . . .
IBT949      . . G . . T . . . . GC . . G . . . . CT . AGG . A . . . . GCG . . . . . T . . . . T . . TT . . . .
ECO54      . . A . . G . . . . C . . G . . . . T . AGG . A . . . . ACG . . A . . T . . T . . TT . . . .
              490      500      510      520      530      540
      . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . |
IBT945      ATGTTTCCAAAAAATCATTAGATGAAACCTGTAGCTGGTGACAACGTTGGAGTATTATTACGT
FP01      . . . . . T . . . . . T . . . . . A . . . . . G . . A . . T . . T . . . . C . . . . . A . G
FP02      . . . . . T . . . . . T . . . . . A . . . . . G . . A . . T . . T . . . . C . . . . . A . G
FP03      . . . . . T . . . . . T . . . . . A . . . . . G . . A . . T . . T . . . . C . . . . . A . G
NY16      . . . . . T . . . . . T . . . . . A . . . . . G . . A . . T . . T . . . . C . . . . . A . G
FP31      . . . . . T . . . . . T . . . . . A . . . . . G . . A . . T . . T . . . . C . . . . . A . G
FP33      . . . . . T . . . . . T . . . . . A . . . . . G . . A . . T . . T . . . . C . . . . . A . G
FP34      . . . . . T . . . . . T . . . . . A . . . . . G . . A . . T . . T . . . . C . . . . . A . G
FP37      . . . . . T . . . . . T . . . . . A . . . . . G . . A . . T . . T . . . . C . . . . . A . G
NY14      . . . . . T . . . . . T . . . . . A . . . . . G . . A . . T . . T . . . . C . . . . . A . G
FP36      . . . . . T . . . . . T . . . . . A . . C . . . . A . . T . . T . . . . C . . . . . G
FP38      . . . . . T . . . . . T . . . . . A . . C . . . . A . . T . . T . . . . C . . . . . G
FP39      . . . . . T . . . . . T . . . . . A . . C . . . . A . . T . . T . . . . C . . . . . G
FP35      . . . . . . . . . . TC . T . . . . . A . . T . G . . . . T . T . . . . T . . . . .
ECO02      . . . . . . . . . . TC . T . . . . . A . . T . G . . . . T . T . . . . T . . . . .
SP43      . . . . . . . . . . TC . T . . . . . A . . T . G . . . . T . T . . . . T . . . . .
ECO01      . . . . . . . . . . TC . T . . . . . A . . T . G . . . . T . T . . . . T . . . . .
NY32      . . . . . . . . . . . G . . T . . A . . A . . T . . . . . G . . T . . . . . A
IBT944      . . . . . T . . . . . T . . . . . A . . T . A . . A . . T . . T . . A . . T . . . . C . T . .
ECO48      . . . . . T . . . . . T . . . . . A . . T . A . . A . . T . . T . . A . . T . . . . C . T . .
IBT951      . . . . . T . . G . . . . C . . G . . . . T . . . . . T . T . . . . T . . . . GC . T . . A
IBT949      . . . . . T . . G . . . . C . . G . . . . T . . C . . . . T . T . . . . T . . . . GC . T . . A
ECO54      . . . . . T . . G . . . . C . . G . . . . T . . . . . T . T . . . . T . . . . GC . T . . A
              550      560      570      580      590      600
      . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . |
IBT945      GGTGTTTCCAAAAAGATGATATCCTTCGTGGTATGGTTCTTTCGCGAAACCTAAAAACAATTGAT
FP01      . . . . . AAAAT . . . . . AA . C . . T . AA . . G . . A . . . . . T . A . . AGCT . . AGG . . . . . A . A
FP02      . . . . . AAAAT . . . . . AA . C . . T . AA . . G . . A . . . . . T . A . . AGCT . . AGG . . . . . A . A
FP03      . . . . . AAAAT . . . . . AA . C . . T . AA . . G . . A . . . . . T . A . . AGCT . . AGG . . . . . A . A
NY16      . . . . . AAAAT . . . . . AA . C . . T . AA . . G . . A . . . . . T . A . . AGCT . . AGG . . . . . A . A
FP31      . . . . . AAAAT . . . . . AA . C . . T . AA . . G . . A . . . . . T . A . . AGCT . . AGG . . . . . A . A

```

```

FP33      ....AAAT....AA.C..T.AA..G..A.....T.A..AGCT..AGG.....A.A
FP34      ....AAAT....AA.C..T.AA..G..A.....T.A..AGCT..AGG.....A.A
FP37      ....AAAT....AA.C..T.AA..G..A.....T.A..AGCT..AGG.....A.A
NY14      ....AAAT....AA.C..T.AA..G..A.....T.A..AGCT..AGG.....A.A
FP36      ....CAAT....AA....T.AA.....A.....T.A..CTCT..AGG.....A.A
FP38      ....CAAT....AA....T.AA.....A.....T.A..CTCT..AGG.....A.A
FP39      ....CAAT....AA....T.AA.....A.....T.A..CTCT..AGG.....A.A
FP35      ..G....G....AA....T....C..A.....T.A..TG.G..A.....C
ECO02     ..G....G....AA....T....C..A.....T.A..TG.G..A.....C
SP43      ..G....G....AA....T....C..A.....T.A..TG.G..A.....C
ECO01     ..G....G....AA....T....C..A.....T.A..TG.G..A.....C
NY32      ....A..G....AA....T....A.A..A.....T.A..TGCT..CGGC....ACTA
IBT944    ....A.....A.....A.AA..A.....AA.C..TGCC..G..TT.....A
ECO48     ....A.....A.....A.AA..A.....AA.C..TGCC..G..TT.....A
IBT951    ..A..G.A....AC.....TGAA..A..A....AA.A..A....GGT..C..CACACA
IBT949    ..A...A....AC.....TGAAA.A..A....AA.A..A....GGT....ACA
ECO54     ..A..G.A....AC.....TGAA..A..A....AA.A..A....GGT..C..CACACA

```

```

              610      620      630      640      650      660
IBT945  ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
FP01     ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
FP02     ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
FP03     ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
NY16     ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
FP31     ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
FP33     ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
FP34     ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
FP37     ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
NY14     ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
FP36     ..T....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
FP38     ..T....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
FP39     ..T....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
FP35     ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
ECO02    ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
SP43     ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
ECO01    ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
NY32     ..G....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
IBT944   ..T....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
ECO48    ..T....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
IBT951   ..T....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
IBT949   ..T....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
ECO54    ..T....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|

```

```

              670      680      690      700      710      720
IBT945  ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
FP01     ..T..T....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
FP02     ..T..T....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
FP03     ..T..T....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
NY16     ..T..T....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
FP31     ..T..T....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
FP33     ..T..T....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
FP34     ..T..T....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
FP37     ..T..T....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
NY14     ..T..T....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
FP36     ..T..T....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
FP38     ..T..T....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
FP39     ..T..T....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
FP35     ..A..T..C....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
ECO02    ..A..T..C....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
SP43     ..A..T..C....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|

```

```

ECO01  ..A..T..C.....A..A..TA.....T..A.....T.....A..A
NY32    ..A.....A..A.....TA.....T.....T.....A...
IBT944  ..T..A.....A.....T.....A.....T.....A...
ECO48   ..T..A.....A.....T.....A.....T.....A...
IBT951  ..T..T.....TG.....T..A.....T.....T.....T..A
IBT949  ..A..T.....TG.....T..A.....A.....T.....T..G
ECO54   ..T..T.....TG.....T..A.....T.....T.....T..A

```

```

              730      740      750      760      770      780
IBT945  ....|....|....|....|....|....|....|....|
FP01     ....GAC..G.....G.....C-----GGAA GTCAAGCAAAAATGATTCTT
FP02     ....GAC..G.....G.....C-----G.....G.....TCT.....C.G.A
FP03     ....GAC..G.....G.....C-----G.....G.....TCT.....C.G.A
NY16     ....GAC..G.....G.....C-----G.....G.....TCT.....C.G.A
FP31     ....GAC..G.....G.....C-----G.....G.....TCT.....C.G.A
FP33     ....GAC..G.....G.....C-----G.....G.....TCT.....C.G.A
FP34     ....GAC..G.....G.....C-----G.....G.....TCT.....C.G.A
FP37     ....GAC..G.....G.....C-----G.....G.....TCT.....C.G.A
NY14     ....GAC..G.....G.....C-----G.....G.....TCT.....C.G.A
FP36     ....GAC..A.....-----G.....G.....TTT.....CGG.A
FP38     ....GAC..A.....-----G.....G.....TTT.....CGG.A
FP39     ....GAC..A.....-----G.....G.....TTT.....CGG.A
FP35     ....GA..A..C.....A..C-----CGG..A.....
ECO02    ....GA..A..C.....A..C-----CGG..A.....
SP43     ....GA..A..C.....A..C-----CGG..A.....
ECO01    ....GA..A..C.....A..C-----CGG..A.....
NY32     ....GA..G.....T.....C-----TGGTG..A.....CT.G
IBT944   ....GA.AA.....A.....GT-C.G..A.....G.AA..
ECO48    ....GA.AA.....A.....GT-C.G..A.....G.AA..
IBT951   ....GAT..A...GA..GT...A..ATTGATCAAAC.CT.AC..T.....G..A.G
IBT949   ....GAT..A...CGA..GT...A..ATTGATCAAAC.CT.AC..T.....GG.A.G
ECO54    ....GAT..A...GA..GT...A..ATTGATCAAAC.CT.AC..T.....G..A.G

```

```

              790
IBT945  ....|....|....
FP01     ..A..C..T..T..
FP02     ..A..C..T..T..
FP03     ..A..C..T..T..
NY16     ..A..C..T..T..
FP31     ..A..C..T..T..
FP33     ..A..C..T..T..
FP34     ..A..C..T..T..
FP37     ..A..C..T..T..
NY14     ..A..C..T..T..
FP36     ..C..T..T..T..
FP38     ..C..T..T..T..
FP39     ..C..T..T..T..
FP35     .....T..C..
ECO02    .....T..C..
SP43     .....T..C..
ECO01    .....T..C..
NY32     ..G..T..T..T..
IBT944   ..A.....T.....
ECO48    ..A.....T.....
IBT951   ..G..T..T..A..
IBT949   ..C..T..T..A..
ECO54    ..G..T..T..A..

```

10 20 30 40 50 60

FP01 TAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATTCCATCCACATCCACTCGCGAACTATCCCCG

FP02

FP03

FP31

FP37

FP33

FP34

NY14

NY16

FP36

FP38

FP39

FP35

SP43

SP50

ECO02

ECO01

70 80 90 100 110 120

FP01 TACCCCTCCTGCTGTCCTCACGGACGGCCTGAGCGGCTGGCTCTCGGGCCAGTCGGGGCTT

FP02

FP03

FP31

FP37

FP33

FP34

NY14

NY16

FP36

FP38

FP39

FP35

SP43

SP50

ECO02

ECO01

130 140 150 160 170 180

FP01 C-CCACAT-CAGTGAAGGAGTCGGCAAACCAACC--ACACACCCAAC-AAATTGTCTGT

FP02

FP03

FP31

FP37

FP33

FP34

NY14

NY16

FP36

FP38

FP39

FP35

```

SP43      .-TGG.C.TGT.CC.G.AT.....C..CAC.....C..C.....
SP50      .-TGG.C.TGT.CC.G.AT.....C..CAC.....C..C.....
ECO02     .-TGG.C.TGT.CC.G.AT.....C..CAC.....C..C.....
ECO01     .-TGG.C.TGT.CC.G.AT.....C..CAC.....C..C.....

          190      200      210      220      230      240
          |...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|
FP01      CTGAAGCAAACCTCAACTCGGCATCGCCGGTTGA-CTAACAAATGACAACTCTCAACAACGG
FP02      .....-.....
FP03      .....-.....
FP31      .....-.....
FP37      .....-.....
FP33      .....-.....
FP34      .....-.....
NY14      .....-.....
NY16      .....-.....
FP36      .....T.....G.....-.....
FP38      .....T.....G.....-.....
FP39      .....T.....G.....-.....
FP35      .....TG.A..T.TC.A..CCA..T..A..AT...T.A.....T...
SP43      .....TG.A..T.TC.A..CCA..T..A..AT...T.A.....T...
SP50      .....TG.A..T.TC.A..CCA..T..A..AT...T.A.....T...
ECO02     .....TG.A..T.TC.A..CCA..T..A..AT...T.A.....T...
ECO01     .....TG.A..T.TC.A..CCA..T..A..AT...T.A.....T...

          250      260      270      280      290      300
          |...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|
FP01      ATATCTAGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGC
FP02      .....
FP03      .....
FP31      .....
FP37      .....
FP33      .....
FP34      .....
NY14      .....
NY16      .....
FP36      .....T.....
FP38      .....T.....
FP39      .....T.....
FP35      .....T.....G.....
SP43      .....T.....G.....
SP50      .....T.....G.....
ECO02     .....T.....G.....
ECO01     .....T.....G.....

          310      320      330      340      350      360
          |...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|
FP01      AGAATTCCGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCATATTGCGGTCGAGGCTTCGGCCAAGAC
FP02      .....
FP03      .....
FP31      .....
FP37      .....
FP33      .....
FP34      .....
NY14      .....
NY16      .....
FP36      .....
FP38      .....
FP39      .....
FP35      .....TG.....
SP43      .....TG.....
SP50      .....TG.....

```



```

ECO02      .....TG.....
ECO01      .....TG.....

          370      380      390      400      410      420
          |.....|.....|.....|.....|.....|.....|
FP01      CATGCCTGCCTCAGCGTCGTAATAGTGCAACTCCTCATTCCTTT-----CGGGG
FP02      .....
FP03      .....
FP31      .....
FP37      .....
FP33      .....
FP34      .....
NY14      .....
NY16      .....
FP36      .....TC.....CA.....C.GCCCCT-CGG.A..C
FP38      .....TC.....CA.....C.GCCCCT-CGG.A..C
FP39      .....TC.....CA.....C.GCCCCT-CGG.A..C
FP35      ...T.....TG.AC.....C...CCTC-----A.....
SP43      ...T.....TG.AC.....C...CCTC-----A.....
SP50      ...T.....TG.AC.....C...CCTC-----A.....
ECO02      ...T.....TG.AC.....C...CCTC-----A.....
ECO01      ...T.....TG.AC.....C...CCTC-----A.....

          430      440      450      460      470      480
          |.....|.....|.....|.....|.....|.....|
FP01      TGCAATGGATCTGGCCTCCCCA-TCGCCTG---GCGATGGGCTGGCTGAAATGCGGAGA
FP02      .....
FP03      .....
FP31      .....
FP37      .....
FP33      .....
FP34      .....
NY14      .....
NY16      .....
FP36      G.G.G...C...T.....T.CT---T.....CT.....
FP38      G.G.G...C...T.....T.CT---T.....CT.....
FP39      G.G.G...C...T.....T.CT---T.....CT.....
FP35      .CGG...A.....T..G..C...CACGG.A.C.....T.A...G
SP43      .CGG...A.....T..G..C...CACGG.A.C.....T.A...G
SP50      .CGG...A.....T..G..C...CACGG.A.C.....T.A...G
ECO02      .CGG...A.....T..G..C...CACGG.A.C.....T.A...G
ECO01      .CGG...A.....T..G..C...CACGG.A.C.....T.A...G

          490      500      510      520      530      540
          |.....|.....|.....|.....|.....|.....|
FP01      TTCACGCGCTGGCCTGTACGGCAACAGCAAGGTAGGTGGCTCGTTCACTCCGGCTGATGC
FP02      .....
FP03      .....
FP31      .....
FP37      .....
FP33      .....
FP34      .....
NY14      .....
NY16      .....
FP36      ...T.G.....
FP38      ...T.G.....
FP39      ...T.G.....
FP35      ..T.A..TTG.....T...C.....A...T.C.-...A.....
SP43      ..T.A..TTG.....T...C.....A...T.C.-...A.....
SP50      ..T.A..TTG.....T...C.....A...T.C.-...A.....
ECO02      ..T.A..TTG.....T...C.....A...T.C.-...A.....
ECO01      ..T.A..TTG.....T...C.....A...T.C.-...A.....

```

		550	560	570
				
FP01		TTAGGGCACGCGCACGAATCCTTCAGAAA-C		
FP02			-	
FP03			-	
FP31			-	
FP37			-	
FP33			-	
FP34			-	
NY14			-	
NY16			-	
FP36			G	A
FP38			G	A
FP39			G	A
FP35		..T.....T.....	CG	GTT
SP43		..T.....T.....	CG	GTT
SP50		..T.....T.....	CG	GTT
ECO02		..T.....T.....	CG	GTT
ECO01		..T.....T.....	CG	GTT

ANEXO V - Alinhamento das sequências do ITS para as espécies de Phaeophyceae obtidas neste trabalho, para referências Tabela 3. Posições idênticas são expressas por pontos (.) e os números acima dos nucleotídeos indicam a posição neste alinhamento.

	10	20	30	40	50	60
NY08		GACACCACTCGCCAGCCTCTCTTTGTTTCCTTC	-----	GGGAA	-----	GCCGAGG
NY03		C.....T.....CCCTAACCT		GG	CGA	AAG..
NY06		A.C.T.C.C.....CA.CCT.CCG	-----	TAA	CGGTGCG	TGAG..
NY12		C.....T.....	-----	T.G.A	-----	G.C.A.
SP37		C.....C.T.C.....A.CC	-----	..GG	-----	AA...
ECO87		C.....C.T.C.....A.CC	-----	..GG	-----	AA...
ECO09		C.....C.T.C.....A.CC	-----	..GG	-----	AA...
FP11		C.....C.T.C.....A.CC	-----	..GG	-----	AA...
	70	80	90	100	110	120
NY08		GAGGCCAGCGGACTCTGCGTGTTCCGGAGC	-----	TCCCGACGCCTTTCAATTGCG	-----	CGTC
NY03		.T..G.....AACTCT			-----	
NY06		.T..G.....A.....	-----	G..CG..GCC	..C.G.	T..T
NY12		.GT.G.GAGC.GACTCTGCGTG.T.C.GAGC	-----	TT.CGACG.C.TCA.TGCG	-----	CGT
SP37		AT..G.....	-----	TT.....C..C.C.G.GGGT		
ECO87		AT..G.....	-----	TT.....C..C.C.G.GGGT		
ECO09		AT..G.....	-----	TT.....C..C.C.G.GGGT		
FP11		AT..G.....	-----	TT.....C..C.C.G.GGGT		
	130	140	150	160	170	180
NY08		CGG-GAAACGCTCCGAGTGACCCGAATCTCGTGAACGAAACCTCTCTTCTGCCTGCGGCC				
NY03		G..A.G..C.....T.....C.....				
NY06		...GCG.G.....C.....A.T.....Y..TT.....				
NY12		.C.G-...C.CT.CGAGTGCA.CG.ATCTCGTG.ACG..A.CTCTC.TCTG.CTGC.G.				
SP37		G..A.....T.....				
ECO87		G..A.....T.....				
ECO09		G..A.....T.....				
FP11		G..A.....T.....				
	190	200	210	220	230	240
NY08		TT--GGCTGCGCAGAGTTGTTGACGGCGCTCGTGCCCTTACTTACGT	-----	ATGGGTTC	-----	G
NY03		C.TG..T.....C.GT.C.TT.TAC.G...G.-				
NY06		..-C.TC.....C.....CT..A.Y--T.C..C				
NY12		C.T--G.TGCGCAGAG.TG.TGAC.GCGCTCGTG..CCTA..CAT.T--AT..G.TC-				
SP37		..TT..T.....TT.	-----	TT.	-----	-
ECO87		..TT..T.....TT.	-----	TT.	-----	-
ECO09		..TT..T.....TT.	-----	TT.	-----	-
FP11		..TT..T.....TT.	-----	TT.	-----	-
	250	260	270	280	290	300
NY08		GCGACTCTCGGCTCGATAAAAAGCGCGGCCCTGCGTC	-----	CTGCCG	-----	AGGAG
NY03		C.....A..G.....CT.C.TG.TGGAAGAAA		..GT		
NY06		C..T..T.....TGAA.G.C.ATTC.T	-----	..ACT		
NY12		.GCGACTCTC.GCTCGATC..AGCGC.G.GAAGCGTC-TCTGT.G	-----	..A.G.		
SP37		C.....C.GAA...CT...TT.C	-----			
ECO87		C.....C.GAA...CT...TT.C	-----			
ECO09		C.....C.GAA...CT...TT.C	-----			
FP11		C.....C.GAA...CT...TT.C	-----			

310320

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....

NY08GTGGTG-----GTGTTTTTCCGGTGGG

NY03.GTT..TTGTT..T.....C...

NY06.A.TC.-----T...C..CG..CC.T.

NY12.G...TG-----GTG....T.C.GC..G

SP37.G.T.-----GT.....-.....

ANEXO VI - Alinhamento das sequências de *rbcl* para as espécies de Rhodophyta obtidas neste trabalho, para referências Tabela 3. Posições idênticas são expressas por pontos (.) e os números acima dos nucleotídeos indicam a posição neste alinhamento.

	10	20	30	40	50	60
ECO88	ATGTCCTCAATCCGTAGAAAGAACGGACAAGAAATTACAAATCAACGTTATGAATCTGGTGTA					
ECO46	G.....A.....G.....G.....					
ECO41	G.....A.....G.....					
SP16b	G.....C.....A.....CG.....G.....A.....					
ECO81						
ECO89	G.....A.....G.....G.....G.....C.....					
NY17	C.....A.....G.....C.....C.....C.....					
IBT935	A.....CG.....G.....C.....G.....C.....					
NY24	G.....A.....G.....					
ECO23	G.....A.....GCG.....A.....A.....					
ECO68	G.....A.....GCG.....C.....A.....					
IBT936	G.....A.....A.....G.....T.....					
SP 77	G.....A.....A.....G.....T.....					
NY26	A.....CG.....C.....					
FP13	A.....CG.....C.....					
	70	80	90	100	110	120
ECO88	ATTCCATATGCTAAAAATGGGATACTGGGATCCAGATTATGTAATAAAAGACACAGATATA					
ECO46	C.....G.....T.....G.....					
ECO41	C.....G.....G.....G.....					
SP16b	T.....T.....AC.....C.....TTT.....A.....T.....G.....					
ECO81	C.....T.....T.....T.....C.....C.....A.....A.....					
ECO89	A.....T.....T.....C.....ACT.....T.....A.....T.....					
NY17	C.....A.....G.....C.....T.....G.....T.....T.....CG.....					
IBT935	C.....T.....T.....C.....T.....A.....G.....A.....T.....CG.....					
NY24	C.....G.....G.....G.....					
ECO23	C.....T.....G.....T.....G.....T.....C.....C.....A.....T.....					
ECO68	C.....T.....C.....A.....T.....G.....T.....C.....T.....A.....T.....					
IBT936	A.....TA.....C.....C.....T.....A.....T.....C.....					
SP 77	A.....TA.....C.....C.....T.....A.....T.....C.....					
NY26	A.....T.....A.....G.....G.....G.....G.....					
FP13	C.....T.....T.....A.....C.....G.....A.....T.....					
	130	140	150	160	170	180
ECO88	CTGGCACTGTTCCGTGTATCTCCTCAACCAGGAGTAGATCCTATAGAAGCTTCTGCTGCA					
ECO46	A.....T.....A.....T.....A.....AG.....T.....A.....					
ECO41	A.....A.....AG.....					
SP16b	T.....A.....TT.....A.....T.....TA.....A.....T.....A.....C.....					
ECO81	C.....T.....A.....AG.....A.....G.....T.....T.....AG.....T.....					
ECO89	A.....TG.....A.....A.....A.....G.....C.....T.....C.....G.....A.....T.....					
NY17	T.....A.....C.....T.....TAG.....A.....G.....T.....A.....					
IBT935	A.....TT.....A.....T.....A.....A.....A.....T.....T.....A.....T.....T.....					
NY24	A.....A.....AG.....					
ECO23	T.....A.....T.....A.....AA.....TA.....T.....T.....T.....A.....					
ECO68	T.....A.....T.....TA.....AA.....CA.....G.....T.....T.....T.....G.....A.....					
IBT936	T.....A.....TT.....A.....T.....C.....AGC.....C.....AG.....A.....A.....T.....					
SP 77	T.....A.....TT.....A.....T.....C.....AGC.....C.....AG.....A.....A.....T.....					
NY26	T.....A.....T.....A.....GA.....A.....G.....G.....T.....T.....G.....A.....A.....T.....					
FP13	T.....A.....TT.....A.....T.....AG.....A.....T.....T.....C.....G.....A.....A.....					
	190	200	210	220	230	240

```

      ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
ECO88  GTTGCTGGTGAGTCATCTACCGCAACTTGGACGGTAGTTTGGACAGATCTTTTAACAGCT
ECO46  .....A.....T.....A.....C.....
ECO41  .....T.....A.....T...
SP16b  A.....A..T..A..A.....C..T..A.....A.....
ECO81  A...A...A..T...A.....T.....C.....
ECO89  ...A...A...A...A.....T.....T..A...T...
NY17   .....A.....A.....T..C..A.....C...C..A
IBT935 .....A.....T.....A..T.....T...
NY24   .....T.....A.....T...
ECO23  A.....A..T..A..A.....T..T..A...T..T..GC.....
ECO68  A.C..A...A..T..A..A..T.....A..T..A...T..T..GC.....
IBT936 .....A.....A..T..G...T...A.....T..A.....A
SP 77   .....A.....A..T..G...T...A.....T..A.....A
NY26   ...A...A...A..T..A...T..T..A...T.....A
FP13   .....A..T...A..T...T..T..A...T...A.....

```

```

      250      260      270      280      290      300
      ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
ECO88  TGCgATTtATATAGAGCTAAAGCATATAAAgTAGATGCTGTACCAAAATACAACtGATCAA
ECO46  ..T..C.....A.....T..T..C...T.....
ECO41  ..T..CC.....A.....T.....
SP16b  ...C...C.....A..TGT.....A.....G....G
ECO81  ..T..C...C.....A...G.....T...T.....
ECO89  .....G..T..C...T..C...T..T.....
NY17   ...C...C.....G..C...C...T...G..TC..A.....
IBT935 ..T.....A.....T..T.....T.....
NY24   ..T..CC.....A.....T.....
ECO23  .....A.....CGT.....C..A..T...CGTTG..A..C...
ECO68  ..T..CC.....A.....CG.....C...C...GTTG..G.....
IBT936 ..T.....A.....T...G...T...T.....
SP 77   ..T.....A.....T...G...T...T.....
NY26   ..T.....C..T..C...T...T...T...TT.....
FP13   ..T...C..T...C..T..A.....T...T...G..TT.....

```

```

      310      320      330      340      350      360
      ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
ECO88  TATTTTtGCTTATATTGcATACgATATTGATTTATTTGAAGAAgGATCtATTtGCTAATTtTA
ECO46  ..C..C.....C..G.....C...C...C...
ECO41  .....T..A.....C...
SP16b  ..C..C..A..C.....T.....A...A..C...
ECO81  ..C.....T..T...A...C..T..C.....T...C...
ECO89  .....T...T...C.....T..A...A..C...
NY17   .....C..T..T..C..A...C...C...A..C..C...
IBT935 ..T.....T...T...C..G.....T...A...C...
NY24   .....C..G..C.....T..C...A..C...
ECO23  .....T.....C..G..C.....T..C...A..C...
ECO68  ..C.....C..T..T.....T..C...A..C...
IBT936 .....A...T.....T..A...C...
SP 77   .....A...T.....T..A...C...
NY26   ..C...A...T...T...T...C...
FP13   .....T...T...A..C...

```

```

      370      380      390      400      410      420
      ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
ECO88  ACAGCtTTcAAtTtATTGtAAtGtATTTGGtTTTtAAAGtCtTTAAAGCtTTtAAGAcTAGAA
ECO46  .....C.....A..C.....G.....C...T...
ECO41  ..G.....G..T...
SP16b  ..T.....C...C..A.....G..A.....C..T..T...
ECO81  ....A.....C..T...A.....G.....
ECO89  ....A.....C...G...G..A.....
NY17   ..G...A...A..C...T..C...C...CG..A...C...G

```

430 440 450 460 470 480

ECO88 GATATGCGTTTACCTGTTGCTTATTTAAAAACTTTTCAAGGTCCTGCAACTGGCGTAATC

ECO46G.....TA.TG.T

ECO41G.....A.T.....

SP16b ..C.....A...A..CC.T...C.....A..AAC.G.T

ECO81C.....C...G...C.....A..AA.TG..

ECO89A.....C.....A..TA.T..T

NY17A.....C.G...C...G..C.....AC.T...

IBT935A.G..A.....G...C.....G...A.C...

NY24G.....A..T.....

ECO23 ..C.....A.G...A...CC.....C.....A.....AC.G..T

ECO68A.G..A...C...C.....C.....AT.G..T

IBT936 ..C...AA..C...CC...A..C...A...T..A..AA.TG.T

SP 77 ..C...AA..C...CC...A..C...A...T..A..AA.TG.T

NY26CA...A.....C.G...C...C...T..A..TA..G.T

FP13A.T..A..A...C.....C.....TT..G.T

490 500 510 520 530 540

ECO88 TGGCAACGTGAACTATGGACAAGTTTGGCCGTCCATTTTATAGGTGCAACTGTAAACCT

ECO46 .C.....G.C.....A.....T.....C.....C.....

ECO41 ..T.G.....T.....T.....

SP16b GTA.....T.....T.....T.....C.T.C.....A.G...

ECO81 GTA.....G.....T.A.C.T.....G...

ECO89 GTA.....T.A.....T.....A.....A.....G...

NY17 GTA.....C.....A.....T.A.....T.....C.....A.T.C.A.G...

IBT935 .CT.....C.....T.A.....A.....C.....G...

NY24 ..T.G.....T.....T.....

ECO23 GTA.....G.....T.A.....TA.A.T.CC.....T.A.....

ECO68 GTA.....G.....T.A.....A.A.T.CC.....T.A.....

IBT936 GTA.G.....C.....T.A.....TA.A.....C.....A.....

SP 77 GTA.G.....C.....T.A.....TA.A.....C.....A.....

NY26 GTA.....T.A.....T.C.....A.....

FP13 GTA.....A.....T.A.....T.....A.....

550 560 570 580 590 600

ECO88 AAATTAGGCTTATCAGGCAAAACTATGGTCGAGTAGTCTATGAAGGGCTTAAAGGTGGC

ECO46 T T C . . . A T A . A T

ECO41 . . . C . . . TC T T . . . A T . G

SP16b . . . C . . . TC . . . T . T . G . . . C A T . A . . . C . T

ECO81 . . GC . . . TC T A T C A

ECO89 TC . T . . . T . G AA T . C T T

NY17 . . . C . G . . T . . G . T . T . GG . T . C . AA . . . T . T . . . C A . T

IBT935 T T . T . . . T T . . . A C . G T

NY24 TC T T . . . A T . G

ECO23 TC . T . T . T C . AA . . T . A . C . . T A

ECO68 . . GC . . . TC . . . T . T AA A T . G T

IBT936 T T . T . C . A . T . . T CT . A . G . . . A

SP 77 T T . T . C . A . T . . T CT . A . G . . . A

NY26 T T AA A AT . G . G . . . T

FP13 T T . T . C . AA T T . . . G . . . T

	610	620	630	640	650	660
ECO88	TTAGACTTCTTAAAAGATGATGAGAAATTTAAATCTCAACCTTTTATGCGTTGGAAAGAA					
ECO46	C.....G.....C..C..A.....C.....					
ECO41	G.....G.....					
SP16b	C.....C..T.....A.....A..C.....AC.GC..					
ECO81	A.....C..C.....A.....					
ECO89	T..C.....A.....G.....					
NY17	C.....T..TC..T.....C..C..C.....G.....C..A..A.....					
IBT935	T.....A.....C..C.....G.....C.....					
NY24	G.....G.....					
ECO23	T..C..T.....C..A..G..A.....G.....					
ECO68	C..T..T..C..T.....A.....C..G..A.....G.....					
IBT936	C.....T..TC.....A.....A.....A.....					
SP 77	C.....T..TC.....A.....A.....A.....					
NY26	A.....C.....A..C.....					
FP13	A.....C.....C.....					
	670	680	690	700	710	720
ECO88	AGATTCCGTGATTCAATGGAAGGTGTAAATCGTGTCTATTGCTGCTGGCGAAACAAAA					
ECO46	TT..A..C.....C.....T..G.....C.....T.....T.....GT...G					
ECO41	AT.....C.....T.....					
SP16b	A.....T..C..T.....T..C.....CAA.....T..G..TT..					
ECO81	ATT..A..C..T.....A..AT..G.....T.....T.....TT..					
ECO89	T..T.....T..C..GT..A.....A..AT..A..T.....					
NY17	T.....T.....G..C.....A..AT..A.....AG..A.....T.....					
IBT935	T..A.....T..CA..A.....G.....AA..A..T..G..TT..					
NY24	AT.....C.....T.....					
ECO23	T..A.....C.....T..CAAA..ATC.....T.....T.....TT..					
ECO68	C.....TT..A.....C.....AAA..ATC.....AT.....T.....TT..					
IBT936	TT..A..C..T.....C..G.....T..A.....A..A..T.....TC..					
SP 77	TT..A..C..T.....C..G.....T..A.....A..A..T.....TC..					
NY26	A..C.....C.....C..T..A.....AA..G..T.....TT..					
FP13	A..G.....C.....C..AT..A.....A.....T.....GTG..					
	730	740	750	760	770	780
ECO88	GGACATTACTTAAATGTAAACAGCAGCTACAAATGGAAGAGATATATGAAAGAGCTGAGTTT					
ECO46	..T..C.....C.....C..A..G.....A...					
ECO41	..G.....T.....C.....A..C					
SP16b	C..T.....T.....CT..G..C.....					
ECO81	..T..C..TC..T.....T..T..T.....A..C..G.....A...					
ECO89	T.....A..TT..T.....A..G.....					
NY17	..C..C..TA..G..A.....C.....C.....G.....A.....					
IBT935	..T.....T.....C..C..T..T..A.....G.....					
NY24	..G.....T.....C.....A..C					
ECO23	..T.....C..T..C.....T..T..G..T.....T..G.....A..C					
ECO68	..T.....C..C.....T.....T.....T..G..C.....A..A..C					
IBT936	..T..C..TA..G..C.....T.....T.....A..G.....A..A...					
SP 77	..T..C..TA..G..C.....T.....T.....A..G.....A..A...					
NY26	A..G.....T..T.....A..T.....T..G.....A.....					
FP13	TA..G.....C.....A.....A.....					
	790	800	810	820	830	840
ECO88	GCTAAACAGCTTGGTAGTATTATTGTCAATGATTGACCTTGTAATTGGTTACACAGCTATT					
ECO46	A.....A.....G.....TT.....					
ECO41	G..A..C..C.....G..C.....T.....					
SP16b	..C.....A..A.....G.....TG.....TT.....C					
ECO81	G..A.....C.....C..A.....A.....TT.....A.....					


```

ECO89      . . . . . G . AA . A . . . . . C . . . . . T . . . . . A . . . . . T . T . . . .
NY17       . . . . . G . AT . A . . . . . C . A . A . . . . . T . A . T . . . . . C . T . T . . . .
IBT935     . . . . . G . A . . . . . C . CA . T . . . . . C . T . T . A . C
NY24       . . . . . G . A . C . C . . G . C . . . . . T . . . . .
ECO23      T . . . . G . TG . . . . . C . . . . . C . ATGT . . . . . T . T . G . .
ECO68      T . C . . G . TG . . . . . G . C . . . . . TGT . . . . . C . . . . . T . G . .
IBT936     . . . . . G . T . A . C . CA . . . . . A . . . . . T . A . T . . . . . A . T . . . . C
SP 77      . . . . . G . T . A . C . CA . . . . . A . . . . . T . A . T . . . . . A . T . . . . C
NY26       . . . . . A . . . . . G . . . . . A . . . . . T . A . . . . . A . T . . . .
FP13       . . . . . A . . . . . G . A . . . . . G . . . . . T . G . G . . . . . A . T . T . . .

```

850 860 870 880 890 900

```

ECO88      . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . |
ECO46      CAAACAAATGGCTATTTGGGCTCGTAAAAATGATATGATTCTTCATCTACATCGTGCAGGT
ECO41      . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
SP16b      . . . . . GT . . . . . A . C . . . . . G . CA . . . . . T . A . T . . . . . CA . A . T . .
ECO81      . . . . . GT . . . . . C . . . . . T . . . . . G . . . . . . . . . . . T . C . . . .
ECO89      . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . T . C . . . .
NY17       . . . . . GT . . . . . A . . . . . . . . . . . C . . . . . C . G . . . . C . T . .
IBT935     . . . . . C . . . . . G . C . . . . . TCACGT . G . . . . . . . . . . . T . C . . . .
NY24       . . . . . T . . . . . C . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . T . . . . .
ECO23      . . . . . GT . . . . . A . . . . . . . . . . . C . . . . . C . . . . . T . A . T . . . . CA . A . .
ECO68      . . . . . GT . . . . . A . C . . . . . . . . . . . GC . . . . . T . A . T . . . . A . A . .
IBT936     . . . . . GT . . . . . A . A . . . . . . . . . . . G . C . . . . . CT . A . T . . . . C . C . .
SP 77      . . . . . GT . . . . . A . A . . . . . . . . . . . G . C . . . . . CT . A . T . . . . C . C . .
NY26       . . . . . GT . . . . . A . . . . . T . . . . . G . . . . . . . . . . . A . T . . . . C .
FP13       . . . . . GT . . . . . G . C . . . . . A . . . . . G . . . . . . . . . . . T . A . T . . . . T .

```

910 920 930 940 950 960

```

ECO88      . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . |
ECO46      AACTCTACTTATTCTCGCCAAAAAATCCATGGTATGAATTTCCGAGTAATATGTAATGG
ECO41      . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . G . . . . T . T . . C .
ECO41      . . . . . C . . . . . T . . . . . T . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
SP16b      . . . . . T . A . A . C . . . . . T . . . . . G . T . . . . . . . . . . . T . T . T . . . . G .
ECO81      . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . T . C . . . .
ECO89      . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . A . . . . T . T . .
NY17       . . . . . . . . . . . C . . . . . T . . . . . GT . C . C . . . . . C . T . C . T . T . .
IBT935     . . . . . . . . . . . A . C . . . . . T . . . . . T . . . . . . . . . . . T . T . T . .
NY24       . . . . . . . . . . . C . . . . . T . . . . . T . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .
ECO23      . . . . . . . . . . . C . . . . . T . . . . . G . AT . . . . . C . . . . . T . C . . . .
ECO68      . . . . . . . . . . . C . . . . . T . . . . . AT . . . . . C . . . . . T . T . C . . . .
IBT936     . . . . . T . A . . . . . T . . . . . T . C . A . . . . . TA . . . . . T . T . . . .
SP 77      . . . . . T . A . . . . . T . . . . . T . C . A . . . . . TA . . . . . T . T . . . .
NY26       . . . . . T . A . A . . . . . T . . . . . T . C . . . . . . . . . . . T . T . . . . G .
FP13       . . . . . A . . . . . . . . . . . T . . . . . . . . . . . T . . . . . C . . . . .

```

970 980 990 1000 1010 1020

```

ECO88      . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . |
ECO46      ATGCGTATGGCAGGTGTAGACCATATTCACGCAGGTACAGTTGTAGGTAAGCTAGAAGGT
ECO46      . . . . . . . . . . . T . . . . . T . . . . . T . . . . . T . . . . . AT . . . . G .
ECO41      . . . . . . . . . . . T . . . . . T . . . . . T . . . . . T . . . . . A . . . . C
SP16b      . . . . . . . . . . . T . A . T . T . . . . . . . . . . . T . A . T . . . . AT . . . .
ECO81      . . . . . . . . . . . T . C . T . . . . . . . . . . . T . . . . . T . . . . . AT . . . .
ECO89      . . . . . . . . . . . T . . . . . C . T . . . . . T . . . . . T . . . . . AT . . . . G
NY17       . . . . . A . . . . . A . . . . . T . . . . . T . . . . . A . T . C . . . . A . . . . C
IBT935     . . . . . . . . . . . G . . . . . T . . . . . C . . . . . T . A . . . . AT . . . .
NY24       . . . . . . . . . . . T . . . . . T . . . . . T . . . . . T . . . . . A . . . . C
ECO23      . . . . . . . . . . . T . . . . . . . . . . . A . . . . . . . . . . . A . . . .
ECO68      . . . . . . . . . . . T . . . . . . . . . . . G . . . . . . . . . . . A . T . . . A
IBT936     . . . . . A . . . . . A . T . T . . . . . . . . . . . A . . . . . A . AT . . . . A
SP 77      . . . . . A . . . . . A . T . T . . . . . . . . . . . A . . . . . A . AT . . . . A

```

NY26	T.T.....T.T.....A.T.....T.....AT.....G...
FP13	T.A.T.T.....T.T.....AT.....C
	1030 1040 1050 1060 1070 1080
ECO88	GATCCCTTTAATGATTCGAGGTTTCTATAATACATTACTTTTACCATATTTAGAAGTGAAT
ECO46	G.....CA.....TC.....C.....T.....A..C
ECO41	C.....AA.....A.....A.....A...
SP16b	..C..G.....A.....C.....T.....GAGAGTC..C.T.....T..C
ECO81	..C.....A.....C.....C.....C.....GA.G.....CC..A..C
ECO89	A.....A.....T.....ACATA..C.....C.ACT...
NY17	A.....AA.....C.....T.....GA.GT.GC..C.T..CA.....
IBT935	AA.....T..T.G.....G.....T...
NY24	C.....AA.....A.....A.....A...
ECO23	AA...A...C...TC.....GAGAGTG.CACT...A.T..C
ECO68	AA.....C..C..T.....GA.AGCG.CAC...TA.C...
IBT936	G.....AA...C..T.....AC..A..C.A.....T...
SP 77	G.....AA...C..T.....AC..A..C.A.....T...
NY26	..C.....AA.....T..T.AGAGA..C.....TA.TTG.
FP13	..C..C.....A..A..T.....T..T.A.ATA..C.....TA.TG...
	1090 1100 1110 1120 1130 1140
ECO88	TTATCACAAAGGTATATTTTGAACAAGATTGGGCATCTCTAAGAAAAGTTACACCGGTT
ECO46	..C.....C.....G.....C.....T..C.T.....A..T..T...
ECO41	..C.....C.....G..G.....T.....T.....T...
SP16b	..C.T.....C.....T..G.....TG...T..T...
ECO81	C..C.T.....T..C.....T...C.....T..C.T.....A..C..T...
ECO89	..C.....G..T..C.....T.....T..C.T.....A.....T...
NY17	..C.T.....C.....G.....T..AT..C.T.....A.....A...
IBT935	..C.T.....T..C.....T.....T..C.T.....T..A...
NY24	..C.....C.....G..G.....T.....T.....T...
ECO23	C..C.T.....T...C...CT..A.....T..T.....GTT..A...
ECO68	C..C.T.....CC...C...CT..A.....T..CT..C.T.....GT...A..A
IBT936	..C.....C..A...C.....T..C.T.....A..T..A..A
SP 77	..C.....C..A...C.....T..C.T.....A..T..A..A
NY26	C..C.T.....T..C..C.....GT..C.T.....A..T..A...
FP13	..C.TA...A..T..C.....G..T..C.T.....A..T..A..A
	1150 1160 1170 1180 1190 1200
ECO88	GCTTCTGGTGGTATTCACCTGTGGACAAATGCACCAACTATTAGACTATCTTGGAGATGAT
ECO46	A.....C.....T..T.....T.....TA.....
ECO41	T.....T.....T.....T.....T.....
SP16b	T.....T.....G.....C.....
ECO81	T..C..T.....T..G..T.....T.....TA.....
ECO89	A.....T..C..T.....TC...T.....C.....
NY17	G..A.....T..C.....T.....CC...T..T..A..TA.C...
IBT935	A.....T.....T.....T.....T.....TA.....
NY24	T.....T.....T.....T.....T.....
ECO23	TGC...T.....T...TC.T..T..T.A..T.....
ECO68	..A...C.....TGC...T.....TC.T..T..CT.A..C.....
IBT936	A.....C..T...C.....T..T.....T..T..A..TA.....
SP 77	A.....C..T...C.....T..T.....T..T..A..TA.....
NY26	C..T.....T..T..C...T..T..A..TA.....
FP13	C..T.....T..T.....T.....TA.....
	1210 1220 1230 1240 1250 1260
ECO88	GTTGTTCTTCAATTCGGTGGTGGTACTATTGGTCACCCCGATGGTATTCAAGCAGGAGCA
ECO46	T.....A.....T.....G..T...
ECO41	T.....T.....T.....T.....T.....

SP16b ..A...G.T...A...T...C...C.C..
 ECO81 A...G.T...A...T...T...
 ECO89 A...T...A.A...A.T.A...A..
 NY17 ..C.G...G.T.A.A.A.C.A.A.T.G.C...A.GC...C..
 IBT935 A...G.T...A...T.G...T.G..
 NY24 T...
 ECO23 ..A.A...G.T...A...A...T...T..
 ECO68 ..A...G.T...C...A...A.T.T...C...C.T..
 IBT936 ..G.G.A.G.T...C...A...T.A...C.C.T..
 SP 77 ..G.G.A.G.T...C...A...T.A...C.C.T..
 NY26 ..A.A...T...A...T...C...T.T.T..
 FP13 A...G.T.A...A...A.T.A...T.T..

 1270 1280 1290 1300 1310 1320
 ECO88 |....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
 ACAGCTAATCGTGTAGCTTTAGAAATCAATAGTTATAGCTCGTAATGAAGGACGTGACTAT
 ECO46 ..G...C.C...G...C...G...T...T..
 ECO41 C...A...G...G...G...T.T..
 SP16b ..T.A.C...GAGC.G.A.T.AA.A...C...T..
 ECO81 ..G...C...A.G.A.T.G...G...AT...TC..
 ECO89 C...C.T...G.AC...AA.A...T...T..
 NY17 A...A...C...G.C.G.G.G...C...T...T.C..
 IBT935 .T.....C...G...T...
 NY24 C...A...G...G...G...T.T..
 ECO23 ..T.A..A.A...A...G.C.G...G.AA.A...C...T..
 ECO68 ..T.A..A.A...A...G...G...G.AA.A...T.CA.T..
 IBT936 A.C...T...T.G.A.T.A...TAT...T.T..
 SP 77 A.C...T...T.G.A.T.A...TAT...T.T..
 NY26 C...A...A.T.G.AG.T.AA.A...T...
 FP13 A...A...G...G.A...A.A...T...

 1330 1340 1350 1360 1370 1380
 ECO88 |....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
 GTAACAGAAGGACCAAAATTTTGCAGATGCTGCAAAAACCTTGTTGGTCCTTTAAAAACA
 ECO46 ..T.T...C...A...C...A...C..
 ECO41 ..G...A...A...A...C...C..
 SP16b ..T.T...T.T...AG...A...A.C.C..
 ECO81 ..A...G.T...A.A.A.T...A.C.C..
 ECO89 T...A...A.T...C.C..
 NY17 ..TCA...G.AC.AGT...A.C...C.C..
 IBT935 ..TG.G...A...A.T...C.C...C.C..
 NY24 ..G...A...A...A...C..
 ECO23 ..G...T...C.AAG...C...C.A.C.C..
 ECO68 ..G...C...C.AAGG...C...T...A.C.C..
 IBT936 T...A.GT...A.T...A...C.C..
 SP 77 T...A.GT...A.T...A...C.C..
 NY26 ..T...T...A.GT...T.C...A...C..
 FP13 ..T...A.GT...T.A.T...A.C...C...

 1390 1400 1410 1420 1430 1440
 ECO88 |....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
 GCTCTAGATTTATGGAAAGATATTAGCTTTAATTATACCTTCTACAGATACATCTGATTTT
 ECO46 ..T...CT...G...C..
 ECO41 C..
 SP16b ..T...T.C.C...C...T...G...C..
 ECO81 ..T...CT.C.C...T...G...C..
 ECO89 ..T...TCT.C...
 NY17 C...GA...A.CA...A...G.C..
 IBT935 ..T...CT.C...G...C..
 NY24 C..
 ECO23 ..T...T...C...G...C..
 ECO68 C...T...C...C...G...C...

```
IBT936  ..AT.....C.CA.....C.....T.....C.....C
SP 77   ..AT.....C.CA.....C.....T.....C.....C
NY26    ..AT.....CA.....C.....TC.....C
FP13    ..AT.....C.....CA.C.....G.....C
```

```

                1450      1460
.....|.....|.....|.....|.....|...
ECO88  GTAGAAACTCCAACAGCTAACGTTTAAA
ECO46   ..C.....G.
ECO41   .....G.
SP16b   ..T.G.....
ECO81   ..G.....G
ECO89   .....T.G.T.....
NY17    ..G.G.....G.T.G.G.
IBT935  .....
NY24    .....G.
ECO23   ..T.G.....A.....C.TGT
ECO68   ..T.G.....A..A.C..GT
IBT936  .....
SP 77   .....
NY26    .....T.....
FP13    .....
```

ANEXO VII - Alinhamento das sequências de SSU para as espécies de Phaeophyceae e Rhodophyta obtidas neste trabalho, para referências Tabela 3. Posições idênticas são expressas por pontos (.) e os números acima dos nucleotídeos indicam a posição neste alinhamento.

	10	20	30	40	50	60
ECO73		GCCATG	CATGTC	TAAGTATA	AAACACTTTT	ATACTCGTGAAACTGCGAATGGCTCATTAA
ECO68	.A..CTGC		C.....		A.....	
ECO89		A.....	G.GTGA	..AT.C	---AC	GG
ECO41		A..G	G.GTGAA	..GT.C	---AC	GG
ECO88		A..G	G.GTGAA	..GT.C	---AC	GG
ECO46		A..G	G.GTGAA	..GT.C	---AC	GG
SP77		A..GCC	G.GTGAA	..AT.C	---AC	GG
SP 16b		A..G	GT.A	..T.CG	---AC	GG
NY10			G.G			T
ECO08			G.G			T
SP29			G.G			T
ECO06			G.G			T
	70	80	90	100	110	120
ECO73		AACAGTT	ATAGTTC	CTTTGGGAACAC	---TACTACTTGGATAACCGTAGTAATTCTAGAGC	
ECO68			A.....	---G		
ECO89		C.....	T...C.ATGTT	---C	C	
ECO41		C.....	T...C.ATGGT	AC	C	
ECO88		C.....	T...C.ATGGT	AC	C	
ECO46		C.....	T...C.ATGGT	AC-G	C	
SP77		C.....	T...C...GGT	A		
SP 16b		C.....	T...C.ATGGT	C		
NY10	.T...	C.....	TA.....	AA.GTC	CT	A
ECO08	.T...	C.....	TA.....	AA.GTC	CT	A
SP29	.T...	C.....	TA.....	AA.GTC	CT	A
ECO06	.T...	C.....	TA.....	AA.GTC	CT	A
	130	140	150	160	170	180
ECO73		TAATACATGCC	---TTAACGCCCCGACT	---TACGAAGGGTGGTATTTATTGGATAAA	---AA	
ECO68			A.....	---C...G		
ECO89		G....	A.T.AA.G	---G	---G.AA	---CC
ECO41			G...A..GAC	T	---T	---TC
ECO88			A...A..GAC	T	---CTT	---TC
ECO46			A...A..GAC	T	---G	---TC
SP77		G....	A...G..GA	T	---TTTCTC	CGA
SP 16b		G....	AC.....	GG	---GGTA.CCC	CCA
NY10		A...	A...A...A	..GCC	T..GC	..AC..GC..GC..AT..G.CCG
ECO08		A...	A...A...A	..GC	T..GC	..AC..GC..GC..AT..G.CCG
SP29		A...	A...A...A	..GC	T..GC	..AC..GC..GC..AT..G.CTG
ECO06		AAACA	..G...A...A	..GCG	A..GC	..AC..GC..GC..AT..G.CTG
	190	200	210	220	230	240
ECO73		ACCAATGTGCTCTTT	CGAGAGCGCTTT	GAGATGATT	CACAATAACTTT	GTCGGATCGCAT
ECO68	TC	...C..C	..G.G	A.....		A.....
ECO89		T	-----	G	TT	..T..T..T..AT
ECO41		T	-----	G	TT	..T..T..T..C
ECO88		T	-----	G	TT	..T..T..T..C
ECO46		T	-----	G	TT	..T..T..T..C
SP77		T.AT	-----	G	TCT	..T..T..T..C

SP 16b	- - - - - .G.....TG...TTT...T...T.....C-
NY10	C-.....C-G...CG.T...T.G...A...T...C.....-.....C-
ECO08	C-.....C-G...CG.T...T.G...A...T...C.....-.....C-
SP29	C-.....C-G...CG.T...T.G...A...T...C.....-.....C-
ECO06	C-.....C-G...CG.TA...CT.G...A...T...C.....-T.....C-
	250 260 270 280 290 300
ECO73	AGCCTAGTGCTGGCGACCCCTCATTCAAATTTCTGCCCTATCAACTTTCGATGGTAGAGT
ECO68	...T.T.....T.....
ECO89	..ATG.TT...--..A.A.G.....A.....G.....AG..
ECO41	..T.....--..G.A.G.....A.....G.....AG..
ECO88	..T.....--..G.A.G.....A.....G.....AG..
ECO46	..T.....--..G.A.G.....A.....G.....AG..
SP77	..TTTAT...--..T.C.G.....A.....A.G.....AG..
SP 16b	..T.....--..G.A.G.....A.....G.....AG..
NY10	..T.-C.GC.....GTT.....G.....G.....G.....G..
ECO08	..T.-C.GC.....GTT.....G.....G.....G.....G..
SP29	..T.-C.GC.....GTT.....G.....G.....G.....G..
ECO06	..T.TCG.GC.....GTT.....G.....G.....G.....G..
	310 320 330 340 350 360
ECO73	ATTGGTCTACCATGGTGTCTCGACGGGTGACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAG
ECO68	
ECO89	...TCT.....TGT.....A...ACCG.GG.T.CGG.....
ECO41	...TCT.....TGT.....ATCG.GG.T.CGA..C.....
ECO88	...TCT.....TGT.....A...ATCG.GG.T.CGA..C.....
ECO46	...TCT.....TGT.....A...ACCG.GG.T.CGG..C.....
SP77	...TCT.....TGT.....A...ACCG.GG.T.CGG.....
SP 16b	...TCT.....TGT.....A...ACCG.GG.T.CGG.....
NY10	...C.....CT.TA.....A.....G.....
ECO08	...C.....CT.TA.....A.....G.....
SP29	...C.....CT.TA.....A.....G.....
ECO06	...C.....CT.TA.....A.....G.....
	370 380 390 400 410 420
ECO73	CCTGAGAAACGGCTACCAATCCAAAGGAAGGCAGCAGGCGCGAAATTACCCAATCCCAA
ECO68	G..
ECO89	G.....GG..
ECO41	G.....GG..
ECO88	G.....GG..
ECO46	G.....T.....GG..
SP77	T.....C.....GG..
SP 16b	G.....T.....TG..
NY10	G.....T.....TG..
ECO08	G.....T.....TG..
SP29	G.....T.....TG..
ECO06	G.....T.....TG..
	430 440 450 460 470 480
ECO73	CTCGGGGAGGTAGTGACAAAAAATAACAATAGGGGGC-CCTTTGGGTCTTCTAATTGGAA
ECO68	T.....
ECO89	..A.C.....G.....G.....A.....-GA.....T.....
ECO41	TA.C.....G.....G.....A.....-AAC.....T.....
ECO88	..A.C.....G.....G.....A.....-AAC.....T.....
ECO46	..A.C.....G.....G.....A.....-AAC.....T.....
SP77	..A.C.....G.....G.....-GA.....CT.C.....
SP 16b	..A.A.....G.....T.....GTT.A.AC.....
NY10	..A.A.....T.....GCC.....TTT.ACAA.....GGC.....

```

ECO08  .A.A.....T.....GCC.....TTT.A.AA...GGC.....
SP29    .A.A.....T.....GCC.....TTT.-.AA...GGC.....
ECO06   .A.A.....T.....GCC.....TT.ACAA...GGC.....

          490      500      510      520      530      540
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
ECO73   TGAGAACAATTTAAATCCCTTATCGAGGATCCATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGC
ECO68   .....
ECO89   .....GG...CAT.....T.G...GCA.....
ECO41   .....GG...CAG.....G...GCA.....
ECO88   .....GG...CAG.....G...GCA.....
ECO46   .....GG...CAG.....G...GCA.....
SP77    .....G...CGG.....G...GCA.....
SP 16b  .....GG...CAG.....GCA.....
NY10    .....G...C.....A.C.....A.....
ECO08   .....G.....A.C.....A.....
SP29    .....G.....A.C.....A.....
ECO06   .....G.....C.A.C.....A.....

          550      560      570      580      590      600
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
ECO73   CGCGGTAAATCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAAGTTGTTGCAGTTAAACGCCTCGTAGT
ECO68   .....
ECO89   .....TGTA.....CC.....
ECO41   .....TGTA.....CC.....
ECO88   .....TGTA.....CC.....
ECO46   .....TGTA.....CC.....
SP77    .....TGTA.....CC.....
SP 16b  .....TGTA.....CC.....
NY10    .....C.....A.....
ECO08   .....C.....A.....
SP29    .....C.....A.....
ECO06   .....C.....A.....

          610      620      630      640      650      660
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
ECO73   CGGACCT-AGGAGCGCTCGGACGGGACGGG-TACGCCTTG---GCGCTTATCGCGAGTT
ECO68   .....-C.....A.C.CC.....T....CT.TT...AT---T.TCG.G.GCG...
ECO89   ...GT.-T.C.G.--...-ATGT...-G..T..TA-ACCGA.G--..T.AT..C
ECO41   ...GG.-T.C.G.--A---TC.A.--G..T.CTC-AC.GA.GG...G....-
ECO88   ...GG.-T.C.G.--A---TC.A.--G..T.CTC-AC.GA.GG...TG....-
ECO46   ...GG.-T.C.G.--A---TC.A.--G..T..TC-AC.GA.GG...TG....-
SP77    ...TT.-T.CAGT--..-TTGTATT-T.TT.C.C-AA.GAAT-GAATT.T.AC
SP 16b  ...TT.-T.C.T.GC.C---TG.T.T-G...G.AATGC.T..GGCG.TG.G.C-
NY10    T...TT.GT.C...GC..TC--G....-G.T..T-----A.TGG.GCC...
ECO08   T...TT.GT.C...G...TC--G....-G.T.T.T-----TACTAG.GCC...
SP29    T...TT.GT.C...GC..TC--G....-G.T..CT-----TACGGG.GCC--
ECO06   T...TT.GT.C...GC..AC.AC.G....-G.T...TT-----CTA.GGG.GCT...

          670      680      690      700      710      720
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
ECO73   AGGCTCCTTTTGTCGGAACGCGG-TGTGCGGAGGCT-CCGAGT-CATCTGCACATTATA
ECO68   T.T.....G.....-..C....G.A..--TT.C.GTC...TG.G.....
ECO89   -...G.C.....-...GG.A..CC.AGT.GT...--TT.T.G...TGCTT-GG.T.C
ECO41   -...CG.C.....-...TG.G...CCCAGT.GA...--TT.C.G.G...ACTGTGG.CGC
ECO88   -...CG.C.....-...TG.G...CCCAGT.GA...--TC.C.G.G...ACTGTGG.CGC
ECO46   -...CG.C.....-...TG.G...CCCAGT.GA...--TC.T.G.G...ACTGTGG.CGC
SP77    -.A.-G.C.....-...GG....CC.TGT.GT...--TT.T.G...TGCTT-GG.TGC
SP 16b  --GCG.....-...GG....C.C.TT.T....--TT.C.GTCG.G..G-TG.CGG
NY10    T.T..GG....TCG.CCG.T.CA-TCT...GTAG.GTGTCCG.GGCAT.AGGTTG.CGG
ECO08   T.T..GG....CGACCG.A.CA-TCT...GTAGCGAGTCGC.GGCAT.AGGTTG.CGG
SP29    T.T..GG...-CG.CCG.T.CA-TCT...GTAGCGTGT.GC.GGCAT.AG.TTG.CGG

```

```

ECO06  T.C..GGCC..-CG.CCG.A.CAA.TCTTC.GTAGCGGGTCGC.GGCAT.AGGTTG.CGG
          730      740      750      760      770      780
      ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
ECO73  TAAC-TGCGAGCCGACTTTTCTGTGAAGAAAGTAAAGTGTTCAAAGCAGGCTAATGCC
ECO68  C--.-....G.....CG.....C.T....
ECO89  .-----.-.-.CG.....A..T..G.....G...GTT....
ECO41  .-----.-.-.CG.....A..T..G.....GTT....
ECO88  .-----.-.-.CG.....A..T..G.....GTT....
ECO46  .-----.-.-.CG.....A..T..G.....GTT....
SP77   .-----A...-CG.....A..T..G.....A...GTT....
SP 16b C-----.-.-.CG.....A..T..G.....GTT....
NY10   CTT.-.T.AC..CGTCG.....A..T..G.....T.G...
ECO08  CTT.-.T..C..CGTCG.....A..T..G.....T.G...
SP29   CT..A.T..C..CGTCG.....A..T..G.....T.G...
ECO06  CTT.-.T..C...TCG.....A..T..G.....T.G...
          790      800      810      820      830      840
      ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
ECO73  -TTGAATATGTGAGCATGGAATAATAGAAATAGGACTTGGTC--TCTATTTTGTGGTTTC
ECO68  -.....G.--.....
ECO89  -A.....CA.T.....C..T.T--C..G.....G
ECO41  -A.....CA.T.....C..T.T--C..G.....G
ECO88  -A.....CA.T.....C..T.T--C..G.....G
ECO46  -A.....CA.T.....C..TAT--C..G.....G
SP77   -C.....CA.T.....C..GT--CT.....G
SP 16b -G.....CA.T.....T--.....G
NY10   G...G...CA.T.....GAG.....G.CAC.A.GG.....G
ECO08  G...G...CA.T.....GAG.....G.CAC.A.GG.....G
SP29   G...G...CA.T.....GAG.....CAT.A.GG.T.....G
ECO06  G...G...CA.T.....GAT.....G.CGTAAGGG.....G
          850      860      870      880      890      900
      ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
ECO73  GGTCGACCAAGTAATGATTAAATAGGGACGGTTGGGGGCATTTCGTATTTCATTGTCAGAGG
ECO68  CAGT.....
ECO89  T.AG..T.GG.....G.....T.....C.GGC.....
ECO41  T.AG..T.GG.....G.....T.....C.GGC.....
ECO88  T.AG..T.GG.....G.....T.....C.GGC.....
ECO46  T.AG..T.GG.....G.....T.....C.GGC.....
SP77   T.AA.TT..G.....G.....T.....C..GC.CT.....
SP 16b T.AGAG..G.....G...C.....T.....C..GC.....
NY10   CA-.TTGTG.....C..A.....T.....CA.....
ECO08  CA-.TTGTG.....C..A.....T.....CA.....
SP29   TA-.TTGTG.....C..A.....T.....CA.....
ECO06  CA-.TTGCG.C.....C..A.....T.....CA.....
          910      920      930      940      950      960
      ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
ECO73  TGAATTCCTTGGATTGATGGAAGACGTACAACCTGCGAAAGCATCTGCCATGGATGTTTTC
ECO68  .....A.....
ECO89  .....GC.....AA..G.....G.....A..C.....
ECO41  .....GC.....AA..GG.....G.....A..C.....
ECO88  .....GC.....AA..GG.....G.....A..C.....
ECO46  .....GC.....AA..G.....G.....A..C.....
SP77   .....C.....AA..GG.....G.....A..C.....
SP 16b .....C.....AA..CG.....G.....A..C.A.....
NY10   .....T.....A..T.....T.A..-.....
ECO08  .....T.....A..T.....T.A..A.....
SP29   .....T.....A..T.....T.A..A.....
ECO06  .....T.....A..T.....T.AT..A.....

```


	970	980	990	1000	1010	1020
ECO73	ATTGATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCTTAACC					
ECO68						
ECO89		A.....				T..T
ECO41		A.....				T..T
ECO88		A.....				T..T
ECO46		A.....				T..T
SP77		A.....				T..T
SP 16b		A.....				T..T
NY10	..A.....			T..T	..A.....	
ECO08	..A.....			T..T	..A.....	
SP29	..A.....			T..T	..A.....	
ECO06	..A.....			T..T	..A.....	
	1030	1040	1050	1060	1070	1080
ECO73	ATAAACGATGCCGACTGGGGATTGGCGGGGGCACTATTTGATGACTCCGTCAGCACCCCT					
ECO68		A.....	TTT.T	GAA-C		T.....
ECO89		AG.....	A..C..GT.A.A.TG.		..G..ACC.G..T...	
ECO41		AG.....	A..C..GTA..A.TG.		..G..CTACC.G.....	
ECO88		AG.....	A..C..GTA..A.TG.		..G..CTACC.G.....	
ECO46		AG.....	A..C..GTA..A.TG.		..G..CTACC.G.....	
SP77		AG.....	A..C..AC.T---	GC.A..---	..GTA.GT..G.....	
SP 16b		AGA.....	A..C..GCA..CAT-	CGA--	..CTGTC.G.A.....	
NY10		T.....	A.....	TC.T-TA...	A-G.....	
ECO08		T.....	A.....	TC.T-TA...	AC.G.....	
SP29		T.....	A.....	TC.T-TA...	AC.G.....	
ECO06		T.....	A.....	TC.T-TA.C..	AA.G.....	
	1090	1100	1110	1120	1130	1140
ECO73	GAGGGAAACCAAGTCTTTGGGTTCTGGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAG					
ECO68						
ECO89	TC.....	A.....	CT.....			
ECO41	TC.....	G.....	CT.....			
ECO88	TC.....	G.....	CT.....			
ECO46	TC.....	G.....	CT.....			
SP77	CC.....	A.....	CT.....			
SP 16b	CC.....	G.....	CT.....			
NY10	CC.A.....	T.....		C.....		
ECO08	CC.A.....	T.....		C.....		
SP29	CC.A.....	T.....		C.....		
ECO06	CC.A.....	T.....		C.....		
	1150	1160	1170	1180	1190	1200
ECO73	GAAATTGACGGAAGGGCACCAACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGG					
ECO68						
ECO89		T.....	G..T.....			
ECO41		T.....	G..T.....			
ECO88		T.....	G..T.....			
ECO46		T.....	G..T.....			
SP77		T.....	G..T.....			
SP 16b		T.....	G..T.....			
NY10	A.....					
ECO08	A.....					
SP29	A.....					
ECO06	A.....					
	1210	1220	1230	1240	1250	1260
						

```

ECO73  A-AAACCTTACCAGGTCCGGACAGAAGAATGATTGACAGACTGAAAGCTCTTTCTTGATTT
ECO68  .-.....
ECO89  .-.....T.GTG.G.....T..G.....C
ECO41  G-.....T.GTG.G.....T..G.....C
ECO88  G-.....T.GTG.G.....T..G.....C
ECO46  G-.....T.GTG.G.....T..G.....C
SP77   .-.....T.GT.G.....T..G.....C
SP 16b .-.....T.GTG.G.....T..G.....C
NY10   G-.....T.GTG.G.....T..G.....C
ECO08  G-.....T.GTG.G.....T..G.....C
SP29   G-.....T.GTG.G.....T..G.....C
ECO06  G-.....T.GTG.G.....T..G.....C

      1270      1280      1290      1300      1310      1320
ECO73  TTTGGTTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCGTT
ECO68  .....
ECO89  .A.....C.....
ECO41  .A.....C.....
ECO88  .A.....C.....
ECO46  .A.....C.....
SP77   .A.....C.....
SP 16b .A.....
NY10   .A...G.....
ECO08  .A...G.....
SP29   .A...G.....
ECO06  .A...G.....

      1330      1340      1350      1360      1370      1380
ECO73  TAACGAACGAGACCTCGTCCGTGCTAAATAGGTGCGCGCATGCCAGAACTGCGTT----CT
ECO68  .....T..T.....
ECO89  .....G.....G.G.G.....GC...C..TACT.CCA.TAT--G.TAG.AAGG..
ECO41  .....G.....G.G.G.....GC...C..CA.T.CCG.TTTTTG.TAC.GAGG..
ECO88  .....G.....G.G.G.....GC...C..A.T.CCGATTTT--G.TAC.CAGG..
ECO46  .....G.....G.G.G.....GC...C..A.T.CCGTTTTT--G.TAC.CAGG..
SP77   .....G.....G.G.G.....GC...C..TACT.CTATT.T--G.TAG.AAGG.G
SP 16b .....G.....G.G.G.....C...G..CGCT.CCATT.T--TAGCTGTT.G
NY10   .....C.CG.....TGTG..TT.C..TTTTG.GTA.G.----GC
ECO08  .....C.CG.....TGTG..TT.C..TTTTG.GTA.G.----AC
SP29   .....C.CG.....TGTG..TT.C..TTTTG.GTA.G.----AC
ECO06  .....C.CG.....TG.G..TT.C..GTTTG.GTA.G.----GC

      1390      1400      1410      1420      1430      1440
ECO73  TACCTTCTTAGAGGGACTATGCGCGTCTAGCGTATGGAAGATTGAGGCAATAACAGGTCT
ECO68  .....
ECO89  .G....C....C....GC.G.....TCCGC....C.CC.....
ECO41  .G....C....C....G..G.....TCC.C....C.CC.....
ECO88  .G....C....C....G..G.....TCC.C....C.CC.....
ECO46  .G....C....C....G..G.....TCC.C....C.CC.....
SP77   -G....C....C....GCAG.....C.GC....C.CC.....
SP 16b CC.....C....GC.G.....TCCGC....C.CC.....
NY10   .CG.....TCTG.T.A..A.CAGA.....T.G.G.....
ECO08  .CG.....T.CG.T.A..A.CG.A.....T.G.G.....
SP29   .CG.....T.CG.T.A..A.CG.A.....T.G.G.....
ECO06  .CG.....T.CG.T.A..A.CG.A.....T.G.G.....

      1450      1460      1470      1480      1490      1500
ECO73  GTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCGGCACGCGCGCTACACTGATGCATTCAACGAGTTTC
ECO68  .....

```

```

ECO89  .A.....T.....GCGGA.....G..GA-
ECO41  .A.....T.....GCGGG.....G..GA-
ECO88  .A.....T.....GCGGG.....G..GA-
ECO46  .A.....T.....GCGGG.....G..GA-
SP77   .A.....T.....GCGGG.....G..GA-
SP 16b .A.....GCGGAC.....G..GA-
NY10   .....C.....G.....T
ECO08  .....C.....G.....CT
SP29   .....C.....G.....T
ECO06  .....C.....G.....CT

          1510      1520      1530      1540      1550      1560
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
ECO73   ACTTGATAGTCCCGTGCCGGAAGGCTTGGGTAAATCTTTTGAAAGTGCATCGTGCTGGGGA
ECO68   .....C..T.G.T.....C.....
ECO89   ---.GAT..G.---.GA..A.TTCCC.ATC.C.A..TCC..-.....
ECO41   ---.GAT..G.---.GA..GCTTCCC.ATC.C.A..TCC..-.....
ECO88   ---.GAT..G.---.GA..GCTTCCC.ATC.C.A..TCC..-.....
ECO46   ---.GATA.G.---.GA..A.TTCCC.ATC.C.A..TCC..-.....
SP77    ---.G...G.---.GA..A..ACCC.ATC.C.A..TCC..-.....
SP 16b  ---.GAT.CG.---.GA..G.TTCCC.ATCCCA..TCC..-.....
NY10    .T.CT---...T.G.T..AG...CC.....G...C.....A.A...
ECO08   TT..T---...T.G.T..AG...C.....G...C.....A.A...
SP29    TTA.TT---C..T.G.T..AG...CC.....G...C.....A.A...
ECO06   T...TT---C..T.G.T..AG...CC.....C..G...C.....A.A...

          1570      1580      1590      1600      1610      1620
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
ECO73   TAGATCATTGCAATTATTGATCTTCAACGAGGAATTCCTTGTAGGCGCAGGTTCATCAGCC
ECO68   C.....CA.....
ECO89   ...GGC.....T.CCC...G.....A.....A..A.G.....T..
ECO41   .C..GGC.....T.CCC...G.....A.....A...TG.....T..
ECO88   .C..GGC.....T.CCC...G.....A.....A...G.....T..
ECO46   .C..GGC.....T.CCC...G.....A.....A...G.....T..
SP77    .C..GGC.....T.CCC...G.....A.....A...G.....T..
SP 16b  ...GGC.....T.CCC...G.....A.....A...TG.....
NY10    .....G.....A..AA..GA.....T
ECO08   .....G.....A..AA..GA.....T
SP29    .....G.....A..AA..GA.....T
ECO06   .....T...T..A.....G.....A..AA..GA.....T

          1630      1640      1650      1660      1670      1680
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
ECO73   TGCGCCGAATACGTCCCTGCCCCTTGTACACACCCGCCCGTCGCTCCTACCGATTGAATGG
ECO68   .....
ECO89   C..T..T.....G...
ECO41   C...T.....G...
ECO88   C..T..T.....G...
ECO46   C..T..T.....G...
SP77    C...T.....G...
SP 16b  C...T.....G..A
NY10    C..ATT..T.....A.....CA
ECO08   C..ATT..T.....A.....T
SP29    C..ATT..T.....A.....T
ECO06   C..ATT..T.....A.....T

          1690      1700      1710      1720      1730      1740
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
ECO73   TCCGATGAA-ATGTTCCGGATTGTGGCTTTTGTGATGGACTT-GT-CCAGAAC-GTTCGCC
ECO68   .....-...C...CG.C...C.CAG..C.....-CG.....T-.C.T.T.
ECO89   ....G...GGCC-.G..GGG.CTAGA.GAACTG..--.A---.ACAG.TTT.CT.--
ECO41   ....G...GGCC-.G..GG.AT.GA.GGA.TG..--T..---.ACA...T..CT.--

```

```

ECO88      . . . . G . . . GGCC - . . G . . . GG . AT . GA . GGA . TG . . -- T . . ---- . ACA . . T . . CT . --
ECO46      . . . . G . . . GGCC - . . G . . . GG . AT . GA . GGACTG . . -- T . . ---- . AC . G . . C . . CT . --
SP77       . . . . G . . . GGCC - . . G . . . GG . CTAGA . GGA . TG . . . TT . . ---- . ACAG . . T . . . T . --
SP 16b     . . . . G . . . GGC - . . G . . . C . . CC . . -- G . . TGA . . CG . . ---- TAC . CC . T . GC . . . A
NY10       . T . . G . . . GG . . - . C . . . . . T . . TTGC . . AC . ---- . . . CAC -- G . CGT - T . . T . A .
ECO08      . T . . G . . . G . . - . C . . . . CC . . . . . GC . C . ---- . . . CAC -- G . CG . - TC . T . . .
SP29       . T . . G . . . GG . . - . C . . . . C . . . . . GGA . C . ---- . . . CAC -- G . CG . - TC . T . . .
ECO06      . T . . G . . . G . . TCC - . . . CC . . . A . GAGC . C . ---- . . . GAC -- G . CG . CC . . - . . T

```

```

                1750          1760          1770
                . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | .
ECO73          - GTGAAAAGTTC - ATTAAATCTTATCATTTAGAGGA
ECO68          - . . . G . . . C . . - . . . . . . . . . . . . . . . .
ECO89          - . . CCCG . . C . . G - G . C . . . C . . . . . . . . . .
ECO41          - . . CCCG . . C . . G - G . C . . . C . . . . . . . . . .
ECO88          - . . CCCG . . C . . G - G . C . . . C . . . . . . . . . .
ECO46          - . . CCCG . . C . . G - G . C . . . C . . . . . . . . . .
SP77           - . . TC . . . C . . GTG . C . . . C . . . . . . . . . .
SP 16b         - . . GG . . C . . A - TCCG . . C . . . . . C . . . . . .
NY10           - . . AA . G . . . . ATCCC . . . C . . C . . G . . . . . .
ECO08          - . . GG . . . . ATC . - . . . C . . C . A . . . . ----
SP29           - . . GG . . . . ATCC . - . . . C . . C . A . . . . . . .
ECO06          - . . GG . . . . ATC . - . . . C . . C . A . . . . . . .

```