FABIO NAUER DA SILVA

FILOGENIA MOLECULAR E DIVERSIDADE DO GÊNERO *HYPNEA*
(GIGARTINALES, RHODOPHYTA) NA COSTA BRASILEIRA

MOLECULAR PHYLOGENY AND DIVERSITY OF THE GENUS *HYPNEA*
(GIGARTINALES, RHODOPHYTA) FROM THE BRAZILIAN COAST

SÃO PAULO

2013

Fabio Nauer da Silva

**Filogenia molecular e diversidade do gênero *Hypnea*
(Gigartinales, Rhodophyta) na costa brasileira**

**Molecular phylogeny and diversity of the genus *Hypnea*
(Gigartinales, Rhodophyta) from the Brazilian coast**

VERSÃO REVISADA

**(Versão original encontra-se disponível no Instituto de Biociências da
USP)**

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: Prof^a Dr^a Mariana
Cabral de Oliveira

Colaboradora: Prof^a Dr^a Valéria
Cassano

São Paulo

2013

Nauer, Fabio

Filogenia Molecular e Diversidade do Gênero *Hypnea* (Gigartinales, Rhodophyta) da Costa Brasileira. Fabio Nauer da Silva – São Paulo: F. N., 2013. p.: il

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

1. *Hypnea*, 2. “DNA barcoding”, 3. *cox1*, 4. filogenia, 5. *rbcl*, 6. UPA. I. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Botânica. II. Título

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof^a Dr^a Mariana Cabral de Oliveira
Orientadora

*Aos meus pais, Gilmar e Rosely
e meu irmão Leandro,
com muito amor.*

“Não há luz sem escuridão”

José Rua

Agradecimentos

Agradeço a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de mestrado concedida e a FAPESP (Fundação de Apoio a Pesquisa do estado de São Paulo) pelos recursos concedidos ao projeto temático Rhodo-SP.

À Professora Mariana Cabral de Oliveira, pela orientação e apoio em todos os momentos e pelo grande exemplo que foi para mim de pesquisadora, sempre paciente e atenciosa com todos os seus alunos.

À Professora Valéria Cassano, pela colaboração indispensável para a realização deste trabalho e por compartilhar seus conhecimentos e ensinamentos valiosos.

Ao Instituto de Biociências, em especial ao Departamento de Botânica pelo programa de pós-graduação.

À Natália Guimarães por ter me passado o bastão na tarefa de desvendar a diversidade do gênero *Hypnea* e por toda contribuição no meu desenvolvimento.

À minhas amigas Beatriz Torrano Silva, Cíntia Iha, Carol Azevedo e Marina Sissini por toda atenção, ajuda e companhia nas coletas que realizamos juntos.

À todos os professores, técnicos e funcionários do Laboratório de Algas Marinhas “Édison José de Paula”: Estela, Fungyi, Flávio, Rosário, Mariana Mungioli, Carol Franco, Cíntia Oliveira, Henrique, William e André.

Aos LAMigos por todos os momentos de companheirismo e descontração, especialmente para os amigos queridos Carol Franco, Manu, Nati, Bia, Cíntia, Rafinha, Carol Azevedo, Amanda e Mari por todas as conversas e por fazer meus dias mais alegres.

À minha família pelo apoio incondicional em todas as decisões da minha vida, muitas vezes deixando de lado suas opiniões e desejos a favor de minha felicidade.

Este trabalho é fruto da colaboração de todas essas pessoas que tenho muito orgulho de te-las em minha vida e de todas as experiências e ensinamentos adquiridos ao longo desses dois anos que carregarei comigo ao longo de toda a minha jornada neste mundo.

MUITO OBRIGADO!!!

1. Lista de Tabelas.....	08
2. Lista de Figuras.....	10
3. Resumo.....	12
4. Abstract.....	13
5. Introdução	
5.1 Porque estudar a biodiversidade?.....	14
5.2 Filogenia e o conceito filogenético de espécie.....	15
5.3 As algas vermelhas (Filo Rhodophyta).....	16
5.4 O gênero <i>Hypnea</i> : diversidade e importância econômica.....	21
5.5 Morfologia e problemas taxonômicos.....	26
5.6 Marcadores moleculares e “DNA Barcode”	32
6. Hipótese.....	36
7. Objetivos.....	36
8. Materiais e Métodos	
8.1 Material biológico.....	37
8.2 Estudos morfológicos.....	37
8.3 Estudos moleculares.....	38
8.4 Marcadores moleculares.....	39
8.5 Amplificação por PCR (reação em cadeia da polimerase).....	39
8.6 Purificação e quantificação do produto de PCR.....	41
8.7 Sequenciamento.....	41
8.8 Montagem e análise das sequências.....	42
8.9 Análises filogenéticas.....	42
8.10 Depósito de sequências nos bancos de dados.....	46

9. Resultados

9.1 Locais de coleta.....	47
9.2 Região Nordeste.....	48
9.3 Região Sudeste	51
9.4 Região Sul.....	55
9.5 Amostras de outros países.....	57
9.6 Dados moleculares.....	58
9.7 Morfologia e chave de identificação das espécies.....	74
9.8 <i>Hypnea cervicornis</i>	76
9.9 <i>Hypnea</i> cf. <i>flexicaulis</i>	82
9.10 <i>Hypnea</i> cf. <i>musiformis</i> ,.....	88
9.11 <i>Hypnea spinella</i>	101
9.12 <i>Hypnea</i> cf. <i>stellulifera</i>	105
9.13 <i>Hypnea</i> sp. 1.....	109
9.14 <i>Hypnea</i> sp. 2.....	112
9.15 <i>Hypnea</i> sp. 3.....	115
9.16 <i>Hypnea</i> sp. 4.....	118

10. Discussão

10.1 Marcadores moleculares e o conceito filogenético de espécie.....	123
10.2 <i>cox1</i>	126
10.3 UPA.....	127
10.4 <i>rbcL</i>	129
10.5 Taxonomia e considerações morfológicas.....	131
10.6 Distribuição do gênero na costa brasileira.....	139

11. Conclusão.....142

12. Bibliografia.....146

13. Apêndice I: tabela de amostras158

14. Apêndice II: sequências do marcador *cox1*.....CD-ROOM

15. Apêndice III: sequências do marcador UPA.....CD-ROOM

16. Apêndice IV: sequências do marcador *rbcL*.....CD-ROOM

Tabela 1: Espécies de <i>Hypnea</i> citadas para o Oceano Atlântico.....	23
Tabela 2: Espécies do gênero <i>Hypnea</i> citadas para a costa brasileira.....	24
Tabela 3: Caracteres úteis na separação de espécies de <i>Hypnea</i>	27
Tabela 4: Protocolo guia para estudos morfológicos das espécies de <i>Hypnea</i>	38
Tabela 5: Relação de “primers” direto (F) e reverso (R) para os marcadores utilizados na PCR e sequenciamento.....	40
Tabela 6: Ciclos de PCR utilizados para a amplificação dos marcadores moleculares.....	40
Tabela 7: Sequências presentes no banco de dados GenBank do marcador UPA utilizadas nas análises de agrupamento NJ.....	43
Tabela 8: Sequências presentes no banco de dados GenBank do marcador <i>cox1</i> utilizadas nas análises de agrupamento NJ.....	44
Tabela 9: Sequências presentes no banco de dados GenBank do marcador <i>rbcl</i> utilizadas nas análises filogenéticas.....	45
Tabela 10: Sequências brasileiras de <i>Hypnea</i> obtidas por Guimarães (2011) utilizadas neste trabalho.....	45
Tabela 11: Resumo das amostras provenientes da Região Nordeste.....	48
Tabela 12: Resumo das amostras provenientes da Região Sudeste.....	52
Tabela 13: Resumo das amostras provenientes da Região Sul.....	56
Tabela 14: Amostras de outros países do gênero <i>Hypnea</i>	57
Tabela 15: Variação intraespecífica encontrada para os marcadores moleculares <i>cox1</i> , UPA e <i>rbcl</i> para os espécimes brasileiros do gênero <i>Hypnea</i>	59
Tabela 16: Valores de divergência interespecífica para o marcador UPA.....	59
Tabela 17: Valores de divergência interespecífica para o marcador <i>cox1</i>	60
Tabela 18: Valores de divergência interespecífica para o marcador <i>rbcl</i>	60
Tabela 19: Valores de divergência para a espécie <i>H. musciformis</i> entre os espécimes brasileiros e os espécimes de outros países para o marcador <i>cox1</i>	61
Tabela 20: Valores de divergência para a espécie <i>H. musciformis</i> entre os espécimes brasileiros e os espécimes de outros países para o marcador <i>rbcl</i>	62
Tabela 21: Divergências interespecíficas e intraespecíficas para os marcadores <i>cox1</i> , UPA e <i>rbcl</i> entre as amostras do gênero <i>Hypnea</i> sequenciadas para este estudo.....	73

Tabela 22. Listagem das amostras brasileiras utilizadas nas análises morfológicas.....	75
Tabela 23. Resumo das características morfológicas dos espécimes brasileiros do gênero <i>Hypnea</i> obtidas neste trabalho.....	121
Tabela 24. Comparação entre a divergência intraespecífica para os marcadores <i>cox1</i> , UPA e <i>rbcl</i> entre os estudos moleculares do gênero <i>Hypnea</i> e de Rhodophyta.....	130
Tabela 25. Comparação entre a divergência interespecífica para os marcadores <i>cox1</i> , UPA e <i>rbcl</i> entre os estudos moleculares do gênero <i>Hypnea</i> e de Rhodophyta.....	130
Tabela 26: Espécies do gênero <i>Hypnea</i> de ocorrência na costa brasileira citados anteriormente e por este trabalho.....	142

Figura 1: Histórico da classificação das algas vermelhas.....	19
Figura 2: Posição da ordem Gigartinales dentro de classe Florideophyceae e representação dos gêneros presentes na família Cystocloniaceae.....	21
Figura 3: Exemplar de <i>Hypnea</i> epifitando uma Rhodophyta.....	28
Figura 4: População de <i>Hypnea</i> sobre uma rocha em costão rochoso batido.....	28
Figura 5: Histórico de vida de <i>Hypnea</i> resumido.....	30
Figura 6: Filogenia do gênero <i>Hypnea</i> , evidenciando as três seções propostas por J. Agardh (1852).....	34
Figura 7: Mapa do Brasil destacando os Estados que foram obtidas amostras de <i>Hypnea</i> e a sua quantidade.....	47
Figura 8: Detalhamento dos pontos de coleta no Estado do Ceará.....	49
Figura 9: Detalhamento dos pontos de coleta no Estado da Paraíba.....	50
Figura 10: Detalhamento dos pontos de coleta no Estado da Bahia.....	51
Figura 11: Detalhamento dos pontos de coleta no Estado do Espírito Santo.....	52
Figura 12: Detalhamento dos pontos de coleta no litoral norte do Rio de Janeiro.....	53
Figura 13: Detalhamento dos pontos de coleta no litoral sul do Rio de Janeiro.....	54
Figura 14: Detalhamento dos pontos de coleta no Estado de São Paulo.....	55
Figura 15: Detalhamento dos pontos de coleta no Estado de Santa Catarina.....	56
Figura 16: Árvore de Neighbor-Joining (NJ) para as sequências do marcador <i>cox1</i> para o gênero <i>Hypnea</i>	63
Figura 17: Árvore de Neighbor-Joining (NJ) para as sequências do marcador <i>cox1</i> para a espécie <i>Hypnea musciformis</i>	66
Figura 18: Árvore de Neighbor-Joining (NJ) para as sequências do marcador UPA para o gênero <i>Hypnea</i>	68
Figura 19: Árvore da análise bayesiana (MB) para as sequências de <i>rbcl</i> mostrando as relações filogenéticas das espécies de <i>Hypnea</i> e a subdivisão do gênero nas três seções propostas por J. Agardh (1852).....	72
Figura 20: <i>Hypnea cervicornis</i>	80
Figura 21: <i>Hypnea</i> cf. <i>flexicaulis</i>	86
Figura 22: Variação morfológica de <i>Hypnea</i> cf. <i>musciformis</i> com relação a zonation nos costões rochosos.....	93

Figura 23: <i>Hypnea</i> cf. <i>musciformis</i> . Exemplos na natureza.....	94
Figura 24: <i>Hypnea</i> cf. <i>musciformis</i> . Variação morfológica.....	96
Figura 25: <i>Hypnea</i> cf. <i>musciformis</i> . Detalhes morfo-anatômicos.....	98
Figura 26: <i>Hypnea musciformis</i> , Trieste, Itália.....	100
Figura 27: <i>Hypnea spinella</i>	103
Figura 28: <i>Hypnea</i> cf. <i>stellulifera</i>	107
Figura 29: <i>Hypnea</i> sp.1.....	111
Figura 30: <i>Hypnea</i> sp.2.....	114
Figura 31: <i>Hypnea</i> sp.3.....	117
Figura 32: <i>Hypnea</i> sp.4.....	120
Figura 33: Espécimes brasileiros de <i>Hypnea</i> da seção <i>Virgatae</i>	124
Figura 34: Espécimes brasileiros de <i>Hypnea</i> da seção <i>Spinuligerae</i>	125
Figura 35: Hábitos de <i>Hypnea</i>	137
Figura 36: Variação dos principais caracteres morfo-anatômicos em <i>Hypnea</i>	138
Figura 37: Distribuição das espécies de <i>Hypnea</i> ao longo da costa brasileira.....	140

O presente trabalho utiliza marcadores moleculares para auxiliar na caracterização e filogenia das espécies de macroalgas vermelhas do gênero *Hypnea* na costa do Brasil. O gênero *Hypnea* Lamouroux (1813) apresenta cerca de 67 espécies descritas e possui distribuição geográfica em águas quentes ao redor do mundo. Além disso, o gênero possui grande importância econômica como matéria prima para a produção industrial de carragenana, e ecológica, como fonte de alimento. Porém, a identificação das espécies de *Hypnea* com base exclusivamente em dados morfológicos é dificultada em virtude da plasticidade fenotípica presente no grupo, de sua morfologia relativamente simples e da ampla distribuição geográfica de suas espécies. Em vista disso, utilizamos a técnica de “DNA barcoding” que permite a análise de um grande número de amostras. Neste trabalho foram utilizados dois “DNA barcodes” (a região 5’ do gene mitocondrial *cox1* e o “universal plastid amplicon” UPA), e para as análises filogenéticas foi utilizado o gene plastidial *rbcL*. Além disso, estudos morfológicos foram feitos a fim de delimitar o real valor dos caracteres morfo-anatômicos citados na literatura para a separação de espécies do gênero *Hypnea*. Ao todo, foram obtidas 230 amostras brasileiras de *Hypnea*, provenientes de 11 estados brasileiros, e 10 amostras de outros países. Um total de 367 sequências de marcadores moleculares foi obtido neste trabalho. Confirmamos a ocorrência de nove espécies para o gênero: *H. cervicornis*, *Hypnea* cf. *flexicaulis*, *Hypnea* cf. *musciiformis*, *Hypnea* cf. *spinella*, *Hypnea* cf. *stellulifera*, *Hypnea* sp. 1, *Hypnea* sp. 2, *Hypnea* sp. 3 e *Hypnea* sp. 4. As amostras coletadas e previamente identificadas em campo como *H. cornuta* revelaram-se, pelos estudos da biologia molecular, serem *Hypnea* cf. *stellulifera*. As espécies *H. musciiformis*, *H. nigrescens*, *H. valentiae* foram consideradas variações morfológicas de uma mesma espécie, denominada de *Hypnea* cf. *musciiformis*. A identificação das espécies com base apenas em características morfológicas mostrou-se insatisfatória, devido principalmente a plasticidade fenotípica presente no grupo, além da existência de espécies com morfologias convergentes. A técnica de “DNA barcode”, principalmente com relação ao marcador *cox1*, mostrou-se essencial na identificação e delimitação das espécies, revelando cenários que passariam despercebidos com o uso apenas da morfologia.

This study uses molecular markers to aid in the characterization and phylogeny of species of the genus *Hypnea*, a red macroalgae, on the coast of Brazil. The genus *Hypnea* Lamouroux (1813) presents about 67 described species and has geographical distribution in warm waters around the world. Furthermore, the genus has great economic importance as source of industrial production of carrageenan, and ecological importance as a source of food. However, the identification of the species of *Hypnea* based solely on morphological data is difficult due to phenotypic plasticity present in this group, its relatively simple morphology and broad geographical distribution of its species. In view of this, we use the technique of "DNA barcoding" that allows the analysis of a large number of samples. In this work we used two "DNA barcodes" (the 5' region of the mitochondrial gene *cox1* and universal plastid amplicon UPA), and for phylogenetic analysis the plastid gene *rbcL* was used. In addition, morphological studies were made in order to delimit the actual value of morpho-anatomical characters cited in the literature for the separation of species of *Hypnea*. Altogether, 230 *Hypnea* samples were obtained from 11 Brazilian states, and 10 samples from other countries. A total of 367 sequences of molecular markers were obtained in this study. We confirm the occurrence of nine species of the genus: *H. cervicornis*, *Hypnea* cf. *flexicaulis*, *Hypnea* cf. *musciformis*, *H. spinella*, *Hypnea* cf. *stellulifera*, *Hypnea* sp. 1, *Hypnea* sp. 2, *Hypnea* sp. 3 and *Hypnea* sp. 4. Samples collected in the field and previously identified as *H. cornuta* based on molecular data, proved to be *Hypnea* cf. *stellulifera*. The species *H. musciformis*, *H. nigrescens* and *H. valentiae* were considered morphological variations of the same species, named *Hypnea* cf. *musciformis*. The identification of species based on morphological characteristics proved unsatisfactory, mainly due to phenotypic plasticity in this group and the existence of species with convergent morphologies. The technique of "DNA barcode", especially with respect to *cox1* marker, was essential for the identification and definition of species, revealing scenarios that would go unnoticed by using only morphology.

5.1. Por que estudar a Biodiversidade?

O termo “biodiversidade” é um conceito-chave para o conhecimento da natureza que diz respeito à variedade de espécies presente em determinado ecossistema (Barros 2011). O tema passou a ser relevante em noticiários e discursos políticos nos anos 1980 e, desde então, a ideia da preservação da diversidade biológica se transformou em uma questão discutida por toda a sociedade. O trabalho de Mora *et al.* (2011) apresenta uma estimativa de que existam aproximadamente 8,7 milhões de espécies de organismos eucarióticos no planeta, sendo que desse valor, 2,2 milhões de espécies são marinhas. Os autores ressaltam que nos últimos 250 anos de classificação taxonômica, foram catalogados cerca de 1,2 milhões de espécies, ou seja, estima-se que 91% das espécies existentes ainda não foram descritas.

A biodiversidade necessita de atenção por duas razões principais: i) é fonte de imenso valor econômico para o homem, fornecendo produtos para atividades agrícolas, pecuárias, pesqueiras, florestais e para a fabricação de remédios, cosméticos, enzimas industriais e outros, e ii) paradoxalmente, as atividades humanas contribuem para a perda de biodiversidade à taxas imprescendentes, o que ameaça o equilíbrio e continuidade dos ecossistemas e, conseqüentemente, do fornecimento de produtos e serviços para humanos (Nunes & Van den Bergh 2001). A diversidade biológica possui ainda valor ecológico, genético, social, científico, educacional, cultural e recreativo (Worm *et al.* 2006). Portanto, a perda de espécies danifica o ecossistema e, conseqüentemente, ameaça à sobrevivência humana. Dado o lento processo de descrição de espécies, organismos desconhecidos podem ser extintos antes mesmo de terem sido descobertos (Mora *et al.* 2011).

5.2. Filogenia e o conceito filogenético de espécie

A sistemática filogenética é a ciência que lida com a identificação e entendimento das relações entre as espécies que resultam da evolução, partindo da premissa que as espécies evoluem de um ancestral comum; entende-se que as espécies mais próximas possuem mais características em comum do que as mais distantes (Buso 2005). Porém, para se obter melhores resultados em estudos filogenéticos, primeiro é preciso entender o conceito de espécie. Partindo de Platão, passando por Aristóteles, Lineu, Darwin e outros, a definição do que vem a ser uma espécie ainda é um problema. Na idade Clássica (séculos XVII – XVIII), Lineu advogou que a classificação dos seres vivos em categorias taxonômicas deveria ser baseada numa rede de comparações entre eles, através da observação cuidadosa dos organismos (Pereira e Soares-Gomes 2009). É deste período, também, o primeiro conceito de espécie propriamente dito, que incluía, além da simples semelhança, a ideia de continuidade através de gerações, o que ficou conhecido como Conceito Biológico de Espécie. Posteriormente, no século XIX, com as ideias de Darwin, é que a Taxonomia e a Sistemática passaram a ter responsabilidade em refletir a Filogenia em suas classificações. Foi nesse período que a espécie passou a ser considerada uma unidade evolutiva (Pereira e Soares-Gomes 2009).

Devido a problemas de aplicação do Conceito Biológico de Espécie para alguns grupos de organismos, conceitos alternativos têm sido propostos e, atualmente, existem dezenas de conceitos de espécies diferentes, todos eles com suas vantagens e desvantagens. O conceito filogenético de espécie foi proposto originalmente por Joel Cracraft, da Universidade de Illinois, em 1983, onde espécie seria “um grupo irreduzível de organismos que pode ser distinguido de outros grupos e dentro do qual existe um padrão de parentesco do tipo ancestral e descendente”. Para o conceito filogenético de espécie, as espécies devem representar linhagens evolutivas monofiléticas. O status de espécie é decidido baseado principalmente na coesão fenotípica dentro dos grupos contra a descontinuidade fenotípica entre os grupos. Portanto, o conceito dá ênfase ao aspecto mais geral da diversidade biológica, o processo de diferenciação, não importando se este é seguido ou não de isolamento reprodutivo. A maior vantagem deste conceito é a sua universalidade, podendo ser

usado para espécies de reprodução assexuada e fósseis (Pereira e Soares-Gomes 2009).

Caracteres morfológicos são usados para definir espécies, contudo é um desafio definir quais caracteres morfológicos são importantes e filogeneticamente informativos. Isto significa que a variação fenotípica dentro de grupos pode ser interpretada de maneira diversa, sendo, portanto, subjetiva a decisão sobre o que é importante ou não. Além disto, o número de espécies reconhecidas pode ser dependente dos métodos usados e seu poder de resolução para identificar caracteres. No ambiente marinho, por exemplo, grupos taxonômicos como algas, esponjas e corais apresentam um número restrito de caracteres pelos quais podem ser classificados. Como consequência, grande número de espécies nestes grupos foi definido no passado como sendo cosmopolita (com distribuição geográfica e ecológica extensas). Atualmente, com o desenvolvimento das técnicas moleculares, estas classificações vêm sendo revistas (Pereira e Soares-Gomes 2009).

5.3. As Algas Vermelhas (Filo Rhodophyta)

Do ponto de vista filogenético, “alga” é um termo artificial, pois abrange um conjunto de organismos que nem sempre são relacionados filogeneticamente. As algas vermelhas (Rhodophyta), por sua vez, formam um grupo monofilético, compartilhando um ancestral comum. Esses organismos fotossintetizantes, junto com as algas verdes e glaucófitas, foram originados através de um evento de endossimbiose primária de um eucarionte heterótrofo com uma cianobactéria autótrofa, originando o plastídeo desse grupo, que é envolvido por duas membranas (Bhattacharya & Medlin 1995, Delwiche & Palmer 1995, Cavalier-Smith 1998, McFadden 1999, Bhattacharya *et al.* 2004, Rodríguez-Ezpeleta *et al.* 2005).

As algas vermelhas são em sua maioria organismos multicelulares marinhos e possuem a capacidade de crescer em diferentes substratos consolidados ou ainda sobre outras algas, na zona entremarés até grandes profundidades (há registros de algas vermelhas coralináceas vivendo em uma profundidade de 268 metros, onde

chega apenas 0,0005% da quantidade de luz disponível na superfície), desde regiões tropicais até regiões polares do globo (Littler & Littler 2000, Graham & Wilcox 2009).

O principal pigmento fotossintetizante é clorofila a, mas são os pigmentos acessórios que ajudam a distinguir as algas vermelhas das demais algas. Esses pigmentos acessórios compreendem carotenos (betacaroteno) e ficobilinas (ficoeritrina, ficocianina e aloficocianina) e são localizados em tilacóides não empilhados. Outras características diagnósticas do grupo referem-se à parede celular, que consiste em uma camada interna de celulose e uma camada externa constituída por galactanas (ágar-ágar ou carragenanas) e o material de reserva, que é um composto chamado de amido das florídeas, armazenado no citoplasma (Ragan *et al.* 1994, Freshwater *et al.* 1994). Porém, a principal característica que diferencia as rodófitas das demais algas é a completa ausência de flagelos ou centríolos em qualquer fase de seu ciclo de vida (Garbary & Gabrielson 1990, Graham & Wilcox 2009).

Existem cerca de 6.200 espécies de rodofíceas conhecidas atualmente, divididas em 600 gêneros (Guiry & Guiry 2013), representando mais de 60% das espécies de macroalgas presentes no ambiente marinho. Entretanto, o número de espécies crípticas é elevado e estima-se que a diversidade de algas vermelhas seja de 20.000 espécies, constituindo o filo mais diverso entre as algas marinhas bentônicas (Norton *et al.* 1996). A biodiversidade de algas vermelhas no Brasil também é alta, correspondendo a cerca de 60% da diversidade de macroalgas presentes no país. Segundo Horta *et al.* (2001), existem aproximadamente 388 espécies de algas vermelhas de um total de 642 espécies de algas marinhas. Já Fujii *et al.* (2010) elevam esse número para 482 espécies de um total 774 espécies conhecidos para o Brasil.

As macroalgas vermelhas têm um papel ecológico fundamental nos ambientes marinhos, particularmente nos substratos consolidados dentro da zona eufótica, atuando na produção primária de matéria orgânica via fotossíntese e participando dos ciclos de carbono e nitrogênio na natureza. Além disso, são elementos estruturadores de comunidades marinhas, servindo de substrato para fixação, alimento e refúgio para uma série de animais e microorganismos (Pereira e Soares-Gomes 2009, Graham & Wilcox 2009). Para o homem, as algas vermelhas são utilizadas como alimentos e desempenham grande papel na indústria química por serem fontes exclusivas de

hidrocolóides como ágar-ágar e carragenanas. Os produtos e derivados de algas vermelhas estão presentes no cotidiano das pessoas e sua economia movimenta uma indústria de cerca de seis bilhões de dólares por ano (Critchley & Ohno 1998, Zhemke-White & Ohno 1999, McHugh 2003).

A classificação e sistemática do Filo Rhodophyta é problemática e vêm sofrendo modificações e revisões conforme dados moleculares ficam disponíveis, porém ainda não foram totalmente resolvidas. Por muito tempo o filo era tradicionalmente dividido em duas classes ou subclasses: Bangiophyceae (Bangiophycidae) e Florideophyceae (Florideophycidae) (Gabrielson *et al.* 1985, Freshwater *et al.* 1994, Ragan *et al.* 1994). A primeira grande mudança ocorreu somente em 2004, com o trabalho de Saunders & Hommersand, que propôs a elevação da ordem Cyanidiales (antes pertencente a subclasse Bangiophyceae) para o filo Cyanidiophyta. As algas vermelhas abrangeriam então, não um, mas dois filios. A justificativa dos autores foi de que as Cyanidiales seriam as rodofíceas que divergiram primeiro na história evolutiva do grupo e, com base em dados moleculares, formam um grupo ancestral e irmão a todas as demais linhagens de Rhodophyta. Os dois filios ficariam unidos, então, sob um novo sub-reino, que chamaram de Rhodoplantae.

Yoon *et al.* (2006), entretanto, questionaram essas mudanças e realizaram um estudo baseado em dois marcadores moleculares presentes no genoma do cloroplasto (*psaA* e *rbcl*), mostrando a existência de sete linhagens distintas. Os autores defenderam a classificação das algas vermelhas em apenas um filo, Rhodophyta, porém com dois subfilios: Cyanidiophytina (antiga ordem Cyanidiales) e Rhodophytina (demais rodófitas). Yoon *et al.* (2006) afirmaram que não haveria necessidade de separar Rhodophyta em dois filios, já que as duas grandes linhagens dentro do grupo estão intimamente relacionadas e formam uma linhagem filogenética distinta dentro dos eucariotos. Além disso, Cyanidiophytina e Rhodophytina compartilham características bioquímicas importantes como a biossíntese do amido das florídeas (acumulado no citoplasma) e a pigmentação e a ultraestrutura do cloroplasto. Dentro da classificação proposta por Yoon *et al.* (2006), Cyanidiophytina é composta por apenas uma única classe, Cyanidiophyceae, já Rhodophytina é composta por seis classes: Bangiophyceae, Compsopogonophyceae, Florideophyceae, Porphyridiophyceae, Rhodellophyceae e Stylonematophyceae (Figura 1).

Figura 1: Histórico da classificação das algas vermelhas (modificado de Yoon *et al.* 2006).

Apesar de dividida em sete classes, 99% das espécies de Rhodophyta (cerca de 6.000 espécies) pertencem a classe Florideophyceae (Oliveira & Bhattacharya 2000, Graham & Wilcox 2009). Essa classe é caracterizada por algas vermelhas multicelulares que atingiram grande complexidade em termos de morfologia e de histórico de vida (Saunders & Hommersand 2004). O talo das florideofíceas cresce por meio de células apicais e consiste inteiramente de filamentos pseudoparenquimatosos ramificados, no qual a ligação entre as células é feita por “pit-connections”, estruturas que conectam duas células adjacentes e que é preenchida por um tampão de proteínas ou “pit-plugs” (Graham & Wilcox 2009). Segundo Le Gall & Saunders (2006) a classe compreende cinco subclasses: Hildenbrandiophycidae, Nemaliophycidae, Corallinophycidae, Rhodimeniophycidae e Ahnfeltiophycidae. O número de ordens está em constante mudança, variando de 17 (Frederiq *et al.* 1996) à 23 ordens (Le Gall & Saunders 2007) conforme a classificação adotada, e apresentam diferenças no histórico de vida, no modo de reprodução sexuada e na constituição química da parede celular (Frederiq *et al.* 1996).

Dentro de Florideophyceae está a ordem Gigartinales, proposta inicialmente por Schmitz em 1892 e revisada no trabalho de Kylin (1956), que sugeriu a união das ordens Gigartinales e Cryptonemiales. A ordem Gigartinales foi considerada parafilética por Kraft & Robins (1985), que delimitaram a ordem Gigartinales *sensu lato* (s.l.), abrangendo 40 famílias, mas afirmaram que mais estudos eram necessários. Diversos trabalhos subsequentes em relação à morfologia e anatomia deste grupo foram realizados (Pueschel & Cole 1982, Silva & Johansen 1986, Fredericq & Hommersand 1989, Maggs & Pueschel 1989), mas foi somente com o auxílio de ferramentas moleculares que o entendimento da ordem e de sua real composição foi melhor elucidado (Freshwater *et al.* 1994, Saunders & Kraft 1994, 1996, 2002). Saunders *et al.* (2004) sequenciaram o gene nuclear que codifica para o RNA da subunidade pequena do ribossomo, SSU rDNA, para representantes das 40 famílias incluídas na ordem *sensu lato* e delinearam Gigartinales *sensu stricto* (s.s.), com 29 famílias.

Em Gigartinales a família Hypneaceae foi proposta por J. Agardh em 1851 e constava tradicionalmente de três gêneros: *Caulacanthus* Kützinger, *Acanthococcus* Hooker & Harvey e *Hypnea* J.V. Lamouroux. Trabalhos posteriores como o de Womersley (1994) e Chiovitti *et al.* (1998) destacaram a semelhança de Hypneaceae com Cystocloniaceae e questionaram o critério morfológico utilizado para a separação das duas famílias diferenciadas pela estrutura do carposporófito. Enquanto Cystocloniaceae o carposporófito é ereto e ramificado, Hypneaceae apresenta um ramo composto por três células alongadas onde o carpogônio se desenvolve. Trabalhos antigos já indicavam problemas com a distinção das duas famílias, como exemplo, Kylin (1930) que incluiu o gênero *Calliblepharis* Kützinger em Hypneaceae, porém, em 1932, o transferiu para Cystocloniaceae (=Rhodophyllidaceae).

A íntima relação entre as duas famílias também foi revista por Saunders *et al.* (2004) em seu trabalho sobre a ordem Gigartinales. Combinando os dados do marcador SSU rDNA com os dados para marcador do gene plastidial que codifica para a subunidade grande da enzima ribulose-1, 5-bisfosfato carboxilase-oxigenase (Rubisco), *rbcL*, sequenciados por Fredericq *et al.* (1996a), os autores propuseram, então, a união das duas famílias dentro de Cystocloniaceae. Em 2013, Guiry & Guiry representaram a família Cystocloniaceae com 13 gêneros (figura 2) dos quais seis gêneros são citados

para o Atlântico ocidental por Wynne (2011): *Calliblepharis*, *Craspedocarpus* F. Schmitz in Schmitz & Hauptfl., *Cystoclonium* Kützing, *Hypnea*, *Hypneocolax* Børgesen e *Rhodophyllis* Kützing.

Figura 2: Posição da ordem Gigartinales dentro de classe Florideophyceae e representação dos gêneros presentes na família Cystocloniaceae (modificado de *Tree of Life Web Project*: tolweb.org/tree).

5.4. O gênero *Hypnea*: diversidade e importância econômica

O gênero *Hypnea* foi criado por Lamouroux (1813) com a transferência de cinco espécies do gênero *Fucus* Linnaeus para um novo gênero que se assemelhava ao musgo *Hypnum* Linnaeus (Tanaka 1941). Posteriormente, Papenfuss (1958) propôs *H. musciformis* como lectótipo do gênero *Hypnea* em substituição à *H. hamulosa*, espécie que o autor sugere ser tratada como *nomen nudum* (Jesus 2012). Atualmente, o gênero possui cerca de 67 espécies descritas (Geraldino *et al.* 2010, Guiry & Guiry 2013), cuja ampla distribuição geográfica abrange mares tropicais e subtropicais do globo. O oceano Índico destaca-se por deter o maior número de espécies do gênero, seguido pelo oceano Pacífico e em terceiro lugar pelo Atlântico (Mshigeni & Chapman

1994). Na revisão literária feita por Lucio (2006) são reconhecidas para o Oceano Atlântico, Mar Mediterrâneo e Caribe, cerca de 14 espécies aceitas taxonomicamente (Tabela 1). Já Wynne (2011) reconhece nove espécies de *Hypnea* para o Atlântico ocidental (Tabela 2). No Brasil, em 1977, Oliveira-Filho indicava a citação de quatro espécies: *H. cervicornis*, *H. cornuta*, *H. musciformis* e *H. spinella*.

Schenkman (1986) fez a primeira citação das espécies *H. nigrescens* e *H. valentiae* para a costa brasileira, porém a salientou que essas duas espécies poderiam ser facilmente confundidas com a espécie *H. musciformis* e, somente a análise conjunta do habitat, morfologia, anatomia e crescimento permitiriam a correta identificação dessas espécies. Em 2011, Guimarães realizou um estudo do gênero para a costa do estado de São Paulo com base nos marcadores moleculares *cox1*, *UPA* e *rbcL* e em estudos morfológicos. A autora apontou que as amostras identificadas como *H. nigrescens* para o estado de São Paulo seriam, na verdade, uma variação morfológica de *H. musciformis*. Nesse trabalho também foi feita a primeira citação da espécie *H. flexicaulis* Y. Yamagishi & M.Masuda para o país, além de mencionar a existência de duas novas espécies não identificadas, *Hypnea* sp.1 e *Hypnea* sp.2.

Outra revisão regional do gênero foi feita por Jesus (2012) para o estado da Bahia. Em seu trabalho, feito com base apenas na morfologia das espécies, a autora corroborou os dados de Schenkman (1986) na separação de *H. musciformis* e *H. nigrescens* como espécies distintas e citou um táxon não identificado como *Hypnea* sp., de ocorrência rara para o gênero, possivelmente novo para a ciência. Posteriormente, esse táxon foi publicado como uma espécie nova, *H. platyclada* Jesus & Nunes (Jesus *et al.* 2013). No Brasil, considerando os trabalhos taxonômicos do gênero nos últimos anos existem ao todo 13 espécies de *Hypnea* citadas para a costa do país (Tabela 2).

O gênero *Hypnea* é um importante recurso marinho por ser fonte de kappa carragenana (Oliveira 1998, Yamagishi *et al.* 2000), um polissacarídeo sulfatado componente da parede celular externa da alga que é largamente utilizado na indústria alimentícia, de cosméticos e farmacêutica como agente espessante, estabilizante e gelificante (Knutsen *et al.* 1995). Além disso, a carragenana apresenta atividades antivirais, inibindo, por exemplo, o vírus HSV e o vírus HIV (Neushul 1990).

Tabela 1: Espécies de *Hypnea* citadas para o Oceano Atlântico (Retirado de Lúcio 2006).

Espécies citadas para o Oceano Atlântico	Status das espécies citadas
<i>H. alopecuroides</i> Kützting	Sinônimo de <i>H. musciformis</i> (Wulfen) J.V. Lamouroux
<i>H. arborescens</i> P. L. Crouan & H.L. Crouan	Sinônimo de <i>H. musciformis</i>
<i>H. arbuscula</i> P.J.L. Dangeard	Aceita
<i>H. armata</i> (C. Agardh) J. Agardh	Nome ilegítimo
<i>H. benguelensis</i> Palminha, Torres & Granger	Necessita revisão taxonômica
<i>H. cenomyce</i> J. Agardh	Aceita
<i>H. ceramioides</i> Kützting	Sinônimo de <i>H. ecklonii</i> Suhr
<i>H. cervicornis</i> J. Agardh	Aceita
<i>H. cinerescens</i> Zanardini	Nome inválido
<i>H. coccinea</i> (S.R. Clemente) J. Cremades	Aceita
<i>H. compressa</i> Papenfuss	Nome inválido
<i>H. conferta</i> (Montagne) Kützting	Sinônimo de <i>Gracilaria conferta</i> (Montagne) Montagne
<i>H. confervoides</i> (C. Agardh) J. Agardh	Nome ilegítimo
<i>H. congesta</i> Papenfuss	Nome inválido
<i>H. corimbosa</i> P.L. Crouan & H.L. Crouan	Nome inválido
<i>H. cornuta</i> (Kützting) J. Agardh	Aceita
<i>H. denudata</i> Kützting	Necessita revisão taxonômica
<i>H. divaricata</i> (C. Agardh) Greville	Necessita revisão taxonômica
<i>H. divergens</i> (C. Agardh) J. Agardh	Basinônimo de <i>Gracilaria divergens</i> (C. Agardh) J. Agardh
<i>H. ecklonii</i> Suhr	Aceita
<i>H. erecta</i> Kützting	Necessita revisão taxonômica
<i>H. flagelliformis</i> Greville ex J. Agardh	Aceita
<i>H. fruticulosa</i> Kützting	Necessita revisão taxonômica
<i>H. furnariana</i> Cormaci, Alongi & Dinaro	Aceita
<i>H. gracilarioides</i> P.L. Crouan & H.L. Crouan	Sinônimo de <i>H. valentiae</i> (Turner) Montagne
<i>H. hamulosa</i> (Esper) J.V. Lamouroux	Necessita revisão taxonômica
<i>H. harveyi</i> Kützting	Sinônimo de <i>H. spicifera</i> (Suhr) Harvey in J. Agardh
<i>H. krugiana</i> Hauck	Necessita revisão taxonômica
<i>H. musciformis</i> (Wulfen) J.V. Lamouroux	Aceita
<i>H. nigrescens</i> Greville ex J. Agardh	Aceita
<i>H. pannosa</i> J. Agardh	Necessita revisão taxonômica
<i>H. reptans</i> Papenfuss	Nome inválido
<i>H. rissoana</i> (C. Agardh) J. Agardh	Nome ilegítimo
<i>H. robusta</i> Harvey	Nome inválido
<i>H. rosea</i> Papenfuss	Aceita
<i>H. secundiramea</i> Montagne	Basinônimo de <i>Ochtodes secundiramea</i> (Montagne) M. Howe
<i>H. setacea</i> Kützting	Necessita revisão taxonômica
<i>H. spicifera</i> (Suhr) Harvey in J. Agardh	Aceita
<i>H. spongiaeformis</i> Zanardini	Sinônimo de <i>Gelidium miniatum</i> Kützting
<i>H. spinella</i> (C. Agardh) Kützting	Aceita
<i>H. spinella</i> (C. Agardh) J. Agardh	Nome ilegítimo
<i>H. tenella</i> Papenfuss	Nome inválido
<i>H. tenuis</i> Kylin	Aceita
<i>H. unilateralis</i> P.J.L. Dangeard	Necessita revisão taxonômica
<i>H. ustulata</i> (Turner) Montagne	Sinônimo de <i>Caulacanthus ustulatus</i> (Turner) Kützting
<i>H. valentiae</i> (Turner) Montagne	Aceita
<i>H. volubilis</i> Searles	Aceita

Estudos têm mostrado que *H. musciformis* produz lectinas, que são importantes substâncias utilizadas como agentes pró e anti-inflamatórios (Bitencourt *et al.* 2008) e no diagnóstico e terapia em cancerologia (Nagano *et al.* 2002). Outras investigações demonstraram ainda que algumas espécies de *Hypnea* apresentam propriedades fungicidas (Melo *et al.* 1997) e que delas também pode-se obter proteínas e ácidos graxos não saturados que podem ser utilizados como fertilizantes em plantações de arroz (Selvan & Kannan 1990). O conteúdo de k-carragenana de *Hypnea* se situa entre 25 e 48% de seu peso seco, sendo que a carragenana obtida é de excelente qualidade (Reis & Yoneshigue-Valentin 1998).

Tabela 2: Espécies do gênero *Hypnea* citadas para a costa brasileira. “X” representa as espécies presentes segundo a fonte citada.

Espécie	Schenkman (1986)	Guimarães (2011)*	Jesus (2012)*	Wynne (2011)*
<i>H. cenomyce</i> J. Agardh	-	-	X	X
<i>H. cervicornis</i> J. Agardh	X	X	X	X
<i>H. cornuta</i> (Kützing) J. Agardh	X	-	X	X
<i>H. flexicaulis</i> Y.Yamagishi & M. Masuda	-	X	-	-
<i>H. musciformis</i> (Wulfen) J. V. Lamouroux	X	X	X	X
<i>H. nigrescens</i> (Wulfen) J. V. Lamouroux	X	-	X	X
<i>H. platyclada</i> Jesus & Nunes ^{*1} (como <i>H. sp.</i>)	-	-	X	-
<i>H. spinella</i> (C. Agardh) Kützing	X	X	X	X
<i>H. valentiae</i> (Turner) Montagne	X	-	X	X
<i>H. volubilis</i> Searles	-	-	-	X
<i>Hypnea</i> sp.1	-	X	-	-
<i>Hypnea</i> sp.2	-	X	-	-

*Guimarães (2011) trabalhou no estado de São Paulo e Jesus (2012) no estado da Bahia. Wynne (2011) fornece citações para o Atlântico ocidental, incluindo a costa brasileira. ^{*1} Jesus *et al.* (2013).

Em 1999, o Brasil importou cerca de 1.000 toneladas de carragenana e produziu uma tonelada por mês (Furtado 1999). Em 2004, o consumo de carragenana passou para 100 toneladas por mês e a produção para 10 toneladas por mês, a partir

de bancos naturais de *H. musciformis* da região nordeste do país (Furtado 2004). Estudos de maricultura realizados no Brasil (Berchez & Oliveira 1989, Reis *et al.* 2006) demonstram que *Hypnea musciformis* é a única espécie do gênero utilizada como matéria-prima para extração de *k*-carragenana, devido a grande biomassa dessa espécie presente na costa do país. Segundo Jesus (2012), *H. musciformis* foi utilizada por duas empresas nacionais para a produção carragenana: a AgarGel, fundada em 1973 no distrito de João Pessoa (Paraíba), como exportadora de algas marinhas para indústrias japonesas; e a Ondas Biomar, inaugurada em 2004, no estado do Rio de Janeiro. Atualmente, ambas atuam no cultivo, extração e processamento da carragenana de *H. musciformis*, além de outras espécies.

A preocupação com a diminuição da matéria algácea no ambiente levou a realização de estudos com populações naturais de *H. musciformis* nos estados de São Paulo (Schenkman 1980, 1989, Faccini & Berchez 2000), Rio de Janeiro (Reis & Yoneshigue-Valentin 1998) e Bahia (Wallner *et al.* 1992). Esses estudos constataram que há uma ampla variação na biomassa e no teor de carragenanas ao longo do ano, algumas vezes relacionada à sazonalidade (Schenkman 1989, Faccini & Berchez 2000, Ramos *et al.* 2006). Uma vez que a produção de carragenana a partir de populações naturais é muito variável e com a finalidade de diminuir a exploração de populações naturais, foram realizados estudos para determinar a viabilidade da maricultura de *H. musciformis* em cultivos extensivos nos estados de São Paulo (Oliveira-Filho & Berchez 1987, Berchez & Oliveira-Filho 1990, Berchez *et al.* 1993) e Rio Grande do Norte (Lima *et al.* 1981, Câmara-Neto 1987).

Reis & Yoneshigue-Valentin (2000) revelaram que a reprodução vegetativa predomina sobre a reprodução sexual na espécie *H. musciformis*. A reprodução vegetativa talvez seja uma estratégia para se manter em condições ambientais desfavoráveis. Porém, existe muito pouca informação sobre a biologia e fisiologia do gênero *Hypnea*. Schenkman (1980) estudou, entre outros fatores, a fenologia e o crescimento em diferentes condições de maricultura de *Hypnea musciformis*. Em seu trabalho de 1986, aprofundou o estudo em relação à frequência da fase tetrasporofítica e gametofítica e à ausência de plantas masculinas na natureza. Estudou os aspectos de reprodução em condições de laboratório e tentou esclarecer as dúvidas taxonômicas e o número de espécies existentes no Estado de São Paulo. Em

sua discussão, Schenkman (1986) concluiu que algumas dificuldades taxonômicas do grupo são evidentes, como a plasticidade fenotípica, causando confusão na identificação das espécies, as quais são separadas por diferenças tênues.

5.5. Morfologia e Problemas taxonômicos

Apesar da importância do gênero, a maioria das informações taxonômicas e sistemáticas sobre *Hypnea* é proveniente de levantamentos de floras regionais, de listagem de espécies, sendo que os únicos trabalhos taxonômicos realizados no país com o gênero foram listados na Tabela 2. Após os trabalhos de Lamouroux (1813) com a designação do gênero *Hypnea*, muitas outras espécies foram incluídas no gênero. No entanto, o primeiro arranjo sistemático foi feito por J. Agardh em 1852, que descreveu vinte espécies e as classificou dentro de três seções com base no hábito do talo: Seção ***Virgatae***, Seção ***Spinuligeræ*** e Seção ***Pulvinatae***. Porém, com exceção de De Toni (1897) e Tanaka (1941), essas seções do gênero não foram aceitas por outros ficologistas (Jesus 2012).

Os caracteres anatômicos úteis na distinção de espécies do gênero foram inicialmente levantados por Kutzing (1868), Okamura (1909) e Setchell (1924). Porém, o primeiro estudo anatômico extensivo foi realizado por Tanaka (1941), que utilizou o corte transversal do talo em suas análises, considerando características internas tais como as células do eixo principal e a presença de espessamento lenticular nas paredes das células medulares para descrever as espécies japonesas de *Hypnea*. Os caracteres morfo-anatômicos e reprodutivos mais utilizados ao longo do tempo nos estudos taxonômicos do gênero *Hypnea* foram resumidos por Masuda *et al.* (1997) (Tabela 3).

Espécies de *Hypnea* são caracterizadas por possuírem talo ereto ou prostrado, abundantemente ramificado com râmulos curtos muitas vezes espinescentes, ou até mesmo em forma de estrela. Essas algas são fixas ao substrato através de discos de fixação, estolões ou ramos rizoidais. Algumas espécies apresentam um aspecto de talo emaranhado devido à presença de anastomoses entre os ramos; o mesmo acontece quando numerosos discos de fixação secundários ocorrem nos eixos prostrados e nos ramos laterais. Neste caso o talo aparenta formar tufo ou almofadas que crescem sobre o substrato.

Tabela 3: Caracteres úteis na separação de espécies de *Hypnea*, resumidos por Masuda *et al.* (1997).

Caracteres taxonômicos morfo-anatômicos
1. Sistema basal e hábito da alga;
2. Tamanho do talo;
3. Textura do talo;
4. Cor das algas herborizadas e recém-coletadas;
5. Iridescência;
6. Eixo principal distinto;
7. Forma dos eixos principais em seção transversal;
8. Abundância de ramos laterais e proliferações;
9. Largura dos eixos e ramos;
10. Presença de ramos e râmulos especiais;
11. Direção da ramificação;
12. Frequência de espessamento lenticular na parede das células;
13. Presença de pequenas células ao redor da célula axial;
14. Posição dos soros tetrasporangiais nos râmulos férteis.

A cor da planta é uma característica bastante variável, *Hypnea musciformis*, por exemplo, apresenta uma grande plasticidade pigmentar, sendo que na natureza podem ser encontradas plantas de coloração roxa, vermelha, marrom claro, marrom enegrecida e esverdeada com diferentes tonalidades. A altura do talo é variável com a espécie e as condições ambientais, mas há registros de espécies variando de 0,5 a 50 centímetros de comprimento. O talo usualmente é cilíndrico, mas há registros de espécies de talo achatado, como exemplo *H. platyclada*. O crescimento se dá por uma célula apical, mas o formato dos ápices dos ramos é bastante variável. A espécie *H. musciformis* é a espécie mais abundante do gênero, cujas populações podem atingir uma biomassa bastante elevada, seus ápices muitas vezes apresentam ganchos e gavinhas que essas algas utilizam para se enroscar e crescer de forma epifítica sobre outras algas (Figura 3). Em geral as *Hypnea* são frequentes na região entremarés, crescendo sobre substratos consolidados (Figura 4). Poucas espécies são encontradas na região do infralitoral.

Figura 3: Exemplar de *Hypnea* epifitando uma Rhodophyta. Note o padrão irregular de ramificação e a presença de gavinhas nos ápices dos ramos, além da grande abundância de râmulos espinescentes.

Figura 4: População de *Hypnea* sobre uma rocha em costão rochoso batido. Espécimes do gênero podem ser encontrados formando extensas populações de grande biomassa, sendo muitas vezes o organismo dominante no ambiente. Foto tirada na Praia do Éden, Guarujá, SP.

Masuda *et al.* (1997) afirmaram que a forma do eixo principal em seção transversal pode se apresentar como uma importante característica taxonômica. Os

autores relatam que o tipo de eixo está fortemente relacionado com o padrão de ramificação: frondes cilíndricas ou subcilíndricas ramificam-se de maneira espiral-alterna, enquanto frondes comprimidas a achatadas ramificam-se de maneira alternadística. Esta característica tem sido utilizada de maneira consistente por diversos autores a exemplo de Okamura (1909), Setchell (1924), Tanaka (1941), Schneider & Searles (1976, 1991), Mshigeni (1978), Wynne (1995), Geraldino *et al.* (2009, 2010).

Bodard (1968) distingue anatomicamente as espécies de *Hypnea* do Senegal em dois grupos com base em cortes transversais do talo: no primeiro grupo incluem-se as espécies cuja célula axial é muito menor do que as periaxiais, a exemplo de *H. cervicornis* e, no segundo grupo, estão as que apresentam célula axial igual ou maior do que as periaxiais como *H. musciformis*.

Outra característica considerada na taxonomia e observada em corte transversal do talo são os espessamentos lenticulares, que ocorrem na parede celular das células medulares, principalmente nas células periaxiais, e são visíveis mesmo sem o auxílio de corantes. Apesar de serem usados na caracterização de espécies de *Hypnea*, Ogawa & Lewmanomont (1981) afirmam que a presença destes espessamentos pode depender de diferenças nas condições ecológicas nos vários ambientes onde ocorrem.

O histórico de vida do gênero é diplobionte trifásico, típico das Florideofíceas, que se constitui em três fases: duas fases diplóides e uma fase haplóide (Figura 5). Gametófitos e esporófitos são isomórficos. O tetrasporófito contém tetrasporângios zonados, formados na região cortical dos râmulos produzindo soros escuros e proeminentes. Os tetrasporângios podem ser encontrados envolvendo completamente ou parcialmente a base, o ápice ou o meio dos râmulos laterais. Os tetrásporos são produzidos através de meiose (meiose espórica) e liberados no ambiente. Os tetrásporos germinam dando origem a gametófitos haplóides masculinos e femininos. No gametófito masculino, os espermatângios são organizados em cadeia na região cortical dos râmulos e produzem espermácios por mitose. Já no gametófito feminino são produzidos carpogônios por mitose. Os espermácios são transportados passivamente até a tricogine no gametófito feminino e a fecundação é realizada no carpogônio. O zigoto desenvolve-se na terceira fase do ciclo, o carposporófito.

O carposporófito cresce no interior do gametófito feminino e é tido como uma fase parasita, formando estruturas chamadas cistocarpos, onde o carposporófito diplóide é envolvido por uma camada de células haplóides do gametófito feminino, o pericarpo. Os cistocarpos das espécies de *Hypnea* são protuberantes e estão situados nos ramos e râmulos do gametófito feminino quase sempre visíveis a olho nú, podendo ser globosos ou subesféricos. Carpósporos diplóides são produzidos pelo carposporófito por mitose, que quando liberados originam o tetrasporófito, completando o histórico de vida (Masuda *et al.* 1997, Graham & Wilcox 2009).

Figura 5: Histórico de vida de *Hypnea* resumido. 1. No gametófito masculino, os espermácios são produzidos por mitose e liberados no ambiente. 2. No gametófito feminino, carpogônios são produzidos por mitose e ficam retidos no interior da planta. 3. Os espermácios quando atingem a tricogine no gametófito feminino, fecundam o carpogônio, gerando um zigoto diplóide. 4. O zigoto desenvolve-se na fase do carposporófito, que cresce no interior do corpo do gametófito feminino, gerando uma estrutura chamada cistocarpo. 5. Carpósporos diplóides são produzidos pelo carposporófito por mitose e liberados no ambiente, originando o tetrasporófito. 6. No tetrasporófito ocorre a meiose para formação de tetrásporos haplóides que são liberados e germinam dando origem a gametófitos haplóides masculinos e femininos.

Os problemas encontrados na discriminação das espécies de *Hypnea* devem-se ao fato dessas algas possuírem uma morfologia simples, com alto grau de plasticidade fenotípica entre os indivíduos de uma mesma espécie, fortemente influenciada pelas condições ambientais. Masuda *et al.* (1997) apontam que o real valor taxonômico dos caracteres morfológicos utilizados para identificação e separação de espécies ainda não está bem estabelecido, o que pode levar a erros de identificação. Como consequência, existem diferentes descrições fornecidas na literatura para uma mesma espécie, além do fato de que algumas descrições do século 19 não apresentam uniformidade (Masuda *et al.* 1997, Yamagishi & Masuda 2000). A questão da variação morfológica presente no gênero aliada com a falta de estudos em grandes áreas biogeográficas levaram a muitos erros de identificação ao longo do tempo (Price *et al.* 1992, Abbott 1999, Dawes & Mathieson 2008).

Devem existir vários prováveis sinônimos, já que a descrição das espécies são tão vagas e dúbias que muitas delas são, possivelmente, formas distintas de uma mesma espécie (Jesus 2012). Como possível solução, esses trabalhos apontam a necessidade de se fazer uma análise crítica dos caracteres atuais que são utilizados para diagnosticar cada espécie, além da análise dos materiais-tipo, como também do material procedente das localidades de onde os tipos foram descritos, para que se ampliem as descrições de cada uma das espécies com a maior exatidão possível.

Por outro lado, algumas espécies possuem uma morfologia tão próxima e de difícil separação que foram tratadas como complexos de espécie, como é o caso do complexo *H. charoides-valentiae* e *H. cervicornis-spinella* (Womersley 1994). Yamagishi e Masuda (2000) utilizaram o gene *rbcL* para identificação e separação de espécies do complexo *H. charoides-valentiae* do Japão e concluíram que se tratavam de duas espécies distintas, confirmando a presença de *H. charoides* no país e descrevendo uma espécie nova, *H. flexicaulis*. Com relação ao segundo complexo, Haroun & Prud'Homme van Reine (1993) afirmaram que *H. cervicornis* seria uma variação morfológica de *H. spinella*, que crescia sob ação das ondas, ou seja, influenciada pelas condições ambientais. Posteriormente, muitos autores seguiram essa sinonimização (Chiang 1997, Yamagishi & Masuda 1997, Wynne 1998, 2005), porém outros não a aceitaram (Bangmei & Yongqiang 1997, Abbot 1999).

No Brasil, Guimarães (2006), em seu estudo com as algas do estado do Espírito Santo, apontou que *H. cervicornis* e *H. spinella* possuíam morfologias distintas e não aceitou a sinonimização. Wynne (2011), em sua última revisão para o Atlântico ocidental, acatou os argumentos de Guimarães (2006) aceitando a independência específica das duas espécies. Em 2011, Guimarães em seu estudo do gênero para a costa do estado de São Paulo demonstrou pela primeira vez com dados moleculares que *H. cervicornis* e *H. spinella* constituem duas espécies distintas. Sobre a morfologia dessas duas espécies, Guimarães relatou que *H. spinella* apresenta talo em forma de tapete emaranhado, sem um eixo principal distinto, com anastomoses abundantes, enquanto *H. cervicornis* apresenta um eixo principal distinto e ramificações levemente curvadas em relação ao eixo principal e anastomoses raras ou ausentes. Embora os dados moleculares levantados por Guimarães (2011) tenham elucidado a questão *H. cervicornis-spinella* para o Estado de São Paulo, eles apontaram outro problema, a questão *H. musciformis-nigrescens* e, nesse caso, o problema foi a variação morfológica de uma mesma espécie sendo identificada como espécies distintas.

A difícil identificação a nível específico não está restrita apenas ao gênero *Hypnea*. A identificação de algas, de um modo geral, com base apenas em estudos morfológicos e anatômicos é dificultada pela simplicidade desses organismos e pela sua grande plasticidade fenotípica, além do mais, a presença de estruturas reprodutivas é muitas vezes necessária para a identificação, e, na ausência dessas, a determinação da espécie e até mesmo do gênero fica impossibilitada. Portanto, pesquisadores têm utilizado cada vez mais ferramentas moleculares para auxílio na taxonomia e biogeografia de algas (Saunders 2005).

5.6. Marcadores moleculares e “DNA barcode”

Os marcadores moleculares são locos gênicos que apresentam alguma variabilidade, de modo que podem ser usados para inferências a respeito dos padrões de diversidade espaço-temporais dos organismos (Silva & Russo 2000). Entre os marcadores moleculares filogenéticos já testados para o gênero *Hypnea* estão os genes SSU rDNA e *rbcl*. Nas algas vermelhas ambos os genes *rbcl* e *rbcS* codificantes respectivamente para as subunidades grande e pequena da rubisco estão localizados

no genoma do cloroplasto e são separados por uma pequena região espaçadora (Hagopian *et al.* 2004), que devido a uma maior variabilidade é empregada em análises de isolados de diferentes regiões biogeográficas ou em identificações de espécies de algas (Maggs *et al.* 1992, Goff *et al.* 1994, Zuccarello & West 1997). Trabalhos com espécimes de *Hypnea* da Ásia e da África do Sul utilizaram o *rbcL* (Yamagishi & Masuda 2000, Fredericq & Hommersand 2003, Geraldino *et al.* 2006). Yamagishi *et al.* (2003) utilizaram esse marcador do cloroplasto para elevar *H. cornuta* var. *stellulifera* J. Agardh à categoria de espécie: *H. stellulifera* J. Agardh. O trabalho de Guimarães (2011) foi o primeiro trabalho filogenético do gênero para o Atlântico.

Os marcadores SSU rDNA e *rbcL* são eficientes para análises filogenéticas, porém seu tamanho relativamente grande exige o uso de diversos “primers” para o sequenciamento e, conseqüentemente, um elevado custo de recursos e de tempo para análise de um grande número de amostras. Uma alternativa foi proposta por Herbert *et al.* (2003) de usar como marcador molecular a região 5’ do gene que codifica para a citocromo c oxidase subunidade 1 (*cox1*), um fragmento de cerca de 700 pares de bases que se mostrou eficiente na identificação de espécies animais e ficou conhecida como técnica “DNA barcode”, em analogia ao sistema de código de barras usado em produtos manufaturados. Essa técnica é baseada na amplificação por PCR (“Polymerase Chain Reaction”) de um segmento de DNA relativamente curto (~400-700 pb) que pode ser inteiramente sequenciado com os mesmos “primers” utilizados na PCR, diminuindo seu custo de produção, e permitindo a detecção de espécies crípticas, além de gerar dados com grande utilidade em levantamentos da biodiversidade e em conservação.

Os marcadores moleculares utilizados como “DNA barcode” devem conter regiões bem conservadas para que “primers” relativamente universais possam ser usados e regiões divergentes para que possam solucionar problemas com espécies proximamente relacionadas (Stoeckle 2003). Saunders (2005) sequenciou o marcador *cox1* para cerca de 250 indivíduos de 15 famílias diferentes da classe Florideophyceae e validou a técnica para o estudo das algas vermelhas. O autor indicou que essa região apresenta níveis de divergência intra e interespecífica suficientes para delimitação de espécies. No estudo das *Hypnea*, esse marcador foi utilizado pela primeira vez por Geraldino *et al.* (2006) em um estudo com a espécie *H. flexicaulis*. Esses autores

concluíram que este gene mitocondrial é eficiente na identificação das espécies de *Hypnea*. Posteriormente, Geraldino *et al.* (2009) utilizaram três marcadores moleculares (SSU rDNA, *rbcL* e *cox1*) para espécimes do gênero de diferentes localidades da Ásia (Coreia, Japão e Taiwan). Geraldino *et al.* (2010) usaram novamente esses marcadores em um estudo filogenético do gênero e encontraram três clados que corresponderam com as três seções propostas por J. Agardh (1852): Seção *Virgatae*, *Spinuligerae* e *Pulvinatae* (Figura 6).

Figura 6. Filogenia do gênero *Hypnea* baseada nos marcadores *rbcL* e *psaA*, evidenciando as três seções propostas por J. Agardh (1852). Retirada de Geraldino *et al.* (2010).

Outro marcador proposto como “DNA barcode” é uma região do gene codificante para a subunidade 23S do ribossomo – p23SrV ou UPA (“Universal Plastid Amplicon”), presente no genoma do cloroplasto (Presting 2006). Sherwood & Presting (2007) utilizaram o UPA para diferenciar espécies dos diferentes grupos de algas, incluindo cianobactérias e diatomáceas. Para o Brasil, Guimarães (2011) validou a técnica “DNA barcoding” para o gênero, concluindo que os marcadores moleculares *cox1* e UPA são adequados para a separação a nível específico de espécies do gênero que ocorrem no Estado de São Paulo. A autora também aponta a necessidade da realização de estudos com maior cobertura geográfica, a fim de detectar as variações morfológicas das espécies e seus limites geográficos.

Hipótese

Devido a sua morfologia simples, a plasticidade fenotípica e a falta de estudos para o país, devem existir um número relevante de espécies crípticas para o gênero *Hypnea* na costa brasileira. Espécies que podem ser detectadas com o uso da ferramenta molecular “DNA barcode”.

Objetivos

Geral: Investigar a diversidade de espécies do gênero *Hypnea* de ocorrência na costa do Brasil, baseado em marcadores moleculares.

Específicos:

- Obter amostras georeferenciadas das espécies do gênero *Hypnea*, formando um banco de material preservado para análises moleculares e exsiccatas para incorporação no herbário;
- Extração de DNA, amplificação, sequenciamento e análises de marcadores moleculares do tipo “DNA barcode” (*cox1* e UPA) para as amostras coletadas;
- Amplificação, sequenciamento e análises filogenéticas para o gene *rbcl* para representantes dos agrupamentos formados com base nos “DNA barcodes” ;
- Análise e descrição da morfologia das espécies presentes na costa brasileira.

8.1. Material biológico

Espécimes do gênero *Hypnea* foram obtidos de duas maneiras: i) através de colaboração com outros pesquisadores no país e no exterior e ii) coletados em diversos pontos do litoral brasileiro, tendo como limite norte o estado do Piauí e como limite sul o estado de Santa Catarina. Majoritariamente, as coletas foram feitas na região entremarés de costões rochosos em maré baixa e, adicionalmente, em infralitoral com o uso de mergulho autônomo, sempre que possível. As amostras coletadas em campo (Apêndice I) foram triadas e secas em papel absorvente, sendo uma parte preservada em silica-gel para estudo da biologia molecular e outra parte fixada em formol a 4% em água do mar para identificação taxonômica, estudo morfológico e herborização.

8.2. Estudos Morfológicos

Para a análise morfológica foram utilizados os caracteres morfo-anatômicos considerados por Masuda *et al.* (1997), descritos na Tabela 3. Trabalhos de Schenkman (1986), Guimarães (2011) e Jesus (2012) também foram levados em consideração. Um protocolo guia dos caracteres morfológicos foi montado e preenchido para cada espécime analisado (Tabela 4), dividido em duas partes: características morfológicas e características anatômicas. Cortes foram feitos logo a baixo da região apical à mão livre utilizando-se lâmina de barbear, sob microscópio estereoscópio e posteriormente corados com azul de anilina a 0,5%, acidificada com HCl 1N, quando se julgou necessário para observações de estruturas (Tsuda & Abbott 1985).

Foram escolhidos no mínimo de 10 espécimes para cada espécie, com pelo menos um representante para cada estado coletado. Todo o material disponível foi analisado para espécies com menos de 10 espécimes coletados. A foto-documentação dos exemplares foi feita com câmera digital Canon PowerShot SD800. Detalhes dos caracteres morfológicos e das características diagnósticas foram registrados com a câmera digital acoplada ao microscópio estereoscópico Leica Wild M3C e ao

microscópio óptico Nikon Eclipse E-200. Após os estudos morfológicos, exsiccatas foram confeccionadas e incluídas no acervo do herbário ficológico do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (SPF).

Tabela 4: Características observadas para o estudos morfológicos.

Características Morfológicas e Anatômicas
1. Sistema basal e hábito da planta;
2. Altura e cor do talo;
3. Eixo principal (presente x ausente);
4. Forma do eixo principal (cilíndrico x achatado);
5. Padrão de ramificação (irregular, alterno, espiralado, etc.);
6. Ângulo das ramificações (agudo, reto, obtuso);
7. Diâmetro do eixo principal;
8. Diâmetro dos ramos laterais;
9. Forma dos ápices (agudo, recurvado, bifurcado, gavinha, etc.);
10. Presença de râmulos especiais (espinescentes, estrelados, etc.);
11. Posição dos soros tetrasporangiais nos râmulos férteis;
12. Diâmetro dos ramos férteis;
13. Comprimento e diâmetro dos tetrasporângios;
14. Comprimento e diâmetro dos cistocarpos;
15. Número de camadas de células no córtex e medula;
16. Diâmetro e forma das células do córtex e medula;
17. Comprimento e diâmetro da célula axial;
18. Número, comprimento e diâmetro das células periaxiais.

8.3. Estudos Moleculares

Os materiais separados para estudos moleculares foram envoltos em papel absorvente, acondicionados em frascos plásticos contendo sílica-gel e mantidos em temperatura ambiente. A amplificação dos marcadores moleculares foi feita majoritariamente com o “kit” de PCR direta Phire Plant Direct PCR Kit, da empresa Thermo Scientific, onde a etapa de extração de DNA é suprimida e a reação em cadeia da polimerase (PCR) é feita com pedaços de algas destacados e inseridos no próprio

tubo da PCR. Quando o kit não se encontrava disponível, as algas foram maceradas em nitrogênio líquido para a lise das células. A extração de DNA, então, foi feita com o “kit” de extração NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel), de acordo com o protocolo do fornecedor.

8.4. Marcadores Moleculares

Como “DNA barcode” foram utilizados os marcadores *cox1*, região 5’ do gene que codifica para a citocromo c oxidase subunidade 1, presente no genoma mitocondrial (Saunders 2005), e o marcador codificante para a subunidade 23S do ribossomo – p23SrV ou UPA, presente no genoma do cloroplasto (Sherwood & Presting 2007). Para análises filogenéticas, foi utilizado o marcador codificante para a subunidade grande (*rbcL*) da enzima ribulose-1, 5-bisfosfato carboxilase-oxigenase (Rubisco), também presente no genoma do cloroplasto (Freshwater *et al.* 1994). O marcador *cox1* foi sequenciado para todas as amostras obtidas, enquanto o marcador UPA foi sequenciado para cerca de metade das amostras. Já marcador *rbcL* foi sequenciado para representantes dos agrupamentos formados pelo marcador *cox1*.

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

Os “primers” utilizados na PCR para a amplificação dos marcadores moleculares são listados na Tabela 5. Para amplificação e sequenciamento do marcador *rbcL* foram utilizados três combinações de “primers”: FrbcLS-R753, F492-R1150, F993-RrbcS, gerando três fragmentos sobrepostos. Para amplificação do marcador *cox1* foram utilizados os “primers” GazF1 e GazR1, já para a amplificação do marcador UPA, os “primers” P23SrV F1 e P23SrV R1 foram utilizados. Quando utilizado o Phire Plant Direct PCR Kit, as condições da PCR foram seguidas segundo o protocolo do fornecedor. Quando o DNA foi extraído através do kit de extração NucleoSpin Plant II, as condições de amplificação para um volume final de 50 µL foram: 38,75µL de água, 1µL de cada amostra de DNA total, 5µL de tampão 10X, 2µL de MgCl₂ 50mM, 1µL de dNTP 100mM, 1µL de cada primer 50mM e 0,25µL de *Taq* Polimerase da Promega (Madison, WI – EUA). As reações de PCR foram feitas nos termocicladores Techne TC-

512 e Techne TC-4000 (Bibby Scientific Ltd., Staffordshire, UK). Para garantir a pureza dos reagentes nas PCR, foram feitos controles negativos contendo todos os reagentes menos o DNA, ou fragmento da planta no caso da PCR direta. Os ciclos de PCR utilizados para todos os marcadores estão detalhados na Tabela 6.

Tabela 5. Relação de “primers” direto (F) e reverso (R) para os marcadores utilizados na PCR e sequenciamento.

“Primer”	Sequência	Marcador	Referência
GazF1	5'-TCA ACA AAT CAT AAA GAT ATT GG-3'	<i>cox1</i> (~710 pb)	Saunders (2005)
GazR1	5'-ACT TCT GGA TGT CCA AAA AAY CA-3'		
Frbcl Start	5'-ATG TCT AAC TCT GTA GAA G-3'	<i>rbcl</i> (~1500 pb)	Freshwater <i>et al.</i> (1994)
R753	5'-GCT CTT TCA TAC ATA TCT TCC-3'		
F492	5'-CGT ATG GAT AAA TTT GGT CG-3'		
R1150	5'-GCA TTT GTC CGC AGT GAA TAC C-3'		
F993	5'-GGT ACT GTT GTA GGT AAA TTW GAA GG-3' (w=a/t)		
Rrbcs Start	5'-GTT CTT GTG TTA ATC TCA C-3'	UPA (~ 400 pb)	Sherwood & Presting (2007)
P23SrV F1	5'-GGA CAG AAA GAC CCT ATG AA-3'		
P23SrV R1	5'-TCA GCC TGT TAT CCC TAG AG-3'		

Tabela 6. Ciclos de PCR utilizados para a amplificação dos marcadores moleculares. O ciclo de *cox1* foi modificado de Saunders (2005), o ciclo de *rbcl* foi modificado de Freshwater *et al.* (1994) e o ciclo de UPA foi utilizado de Sherwood & Presting (2007).

Marcador	Desnaturação inicial	Desnaturação	Anelamento	Extensão	Extensão final	Ciclos
cox1	95°C por 5'	94°C por 30''	52°C por 1'	72°C por 2'	72°C por 1'	35x*
rbcl	95°C por 4'	94°C por 1'	45°C por 2'	72°C por 3'	72°C por 5'	35x*
UPA	94°C por 2'	94°C por 20''	55°C por 30''	72°C por 30''	72°C por 10'	35x*

*Etapa de extensão para a etapa de desnaturação.

Após a reação os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 0,7% e tampão tris-borato-EDTA (TBE: tris-HCl 50 Mm, borato 50Mm, EDTA 2Mm) corados com corante GelRed na concentração 1:500 para verificar os tamanhos dos fragmentos amplificados. O marcador de tamanho utilizado foi o 1Kb DNA Ladder (Invitrogen). O DNA no gel foi visualizado através de um transluminador de UV.

8.6. Purificação e quantificação do produto de PCR

Os produtos da PCR foram, então, purificados em colunas GTX™ PCR DNA and Gel Band Purification Kit (GE Healthcare) de acordo com o protocolo do fornecedor. A quantificação do DNA amplificado foi feita por uma estimativa visual, comparando-se a concentração do DNA amplificado e purificado com a concentração de DNA da banda de 1,6Kb do marcador “1Kb DNA ladder” (Invitrogen) seguindo as especificações fornecidas pelo fabricante.

8.7. Sequenciamento

O sequenciamento foi feito com aproximadamente 10 a 40 ng de produto de PCR purificado e com o “kit” de sequenciamento “BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction” (Applied Biosystems, Foster City, EUA) utilizando-se os mesmos “primers” da reação de PCR descritos na Tabela 5. O “kit” de sequenciamento é composto por: dNTP, dideoxinucleosídeos (ddNTP) com marcadores fluorescentes, tampão, cloreto de magnésio e a enzima *Taq* polimerase. As reações de amplificação foram feitas nos mesmos termocicladores utilizados na PCR, com 40 ciclos a 96°C por 10 seg, 54°C por 20 seg e 60°C por 4 min. Os produtos da PCR contendo os ddNTPs marcados foram precipitados em EDTA 125mM, Acetato de Sódio 3M e etanol 100%, seguido de lavagem em etanol 70%, segundo recomendação da Applied Biosystems para a remoção de resíduos não incorporados que podem afetar a qualidade das sequências. As amostras foram sequenciadas nos sequenciadores automáticos ABI PRISM™ 3100 ou ABI PRISM™ 3730 Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

8.8. Montagem e análise de sequências

As sequências obtidas foram primeiramente comparadas com as sequências existentes no banco de dados GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) através do algoritmo BlastN afim de verificar se pertenciam ao gênero *Hypnea*. As sequências direta e reversa foram então manualmente alinhadas através do programa BioEdit (Hall 1999). As sequências-consenso foram geradas através do programa ClustalW, presente no BioEdit. Incongruências nas sequências foram revistas manualmente com a análise dos cromatogramas. Foi gerada uma sequência consenso para cada marcador, por amostra.

8.9. Análises filogenéticas

Alinhamentos das sequências-consenso obtidas e das sequências disponíveis no banco de dados GenBank foram construídos para os três marcadores. Para o marcador UPA, foram utilizadas 12 sequências do banco de dados (Tabela 7) alinhadas com as sequências geradas nesse trabalho para montagem da matriz de 135 sequências de 369 nucleotídeos. Para o marcador *cox1*, foram utilizadas 44 sequências do banco de dados (Tabela 8) que, juntamente com as sequências deste trabalho, geraram uma matriz de 277 sequências de 465 nucleotídeos. Por fim, 56 sequências do marcador *rbcl* do banco de dados (Tabela 9) foram incluídas com as sequências desse trabalho em uma matriz consenso de 97 sequências e 1355 nucleotídeos. Para construção das árvores de agrupamento e filogenéticas, as sequências dos primers foram cortadas das matrizes.

Além das sequências disponíveis no GenBank, também foram utilizadas sequências obtidas por Guimarães (2011) que ainda não estão disponíveis no banco de dados (Tabela 10). Vale ressaltar que todas as sequências disponíveis no Genbank foram utilizadas para os respectivos marcadores, exceto em casos onde havia muitas sequências idênticas para uma mesma espécie. Nas análises dos marcadores *cox1* e UPA, foi utilizada uma sequência de *Chondracanthus teedei* (Mertens ex Roth) Kützinger (Gigartinaceae, Gigartinales) como grupo externo a *Hypnea*. Para a análise do

marcador *rbcL*, foi utilizada uma sequencia de *Calliblepharis ciliata* (Hudson) Kützing (Cystocloniaceae, Gigartinales – Genbank AF385653) como grupo externo.

Para os “DNA barcodes”, *cox1* e UPA, foram construídas árvores de agrupamento utilizando-se o método de distância (Neighbour-Joining, NJ) com o uso do programa MEGA5 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis, Tamura *et. al.* 2011) com 2000 replicatas de bootstrap. Para as análises filogenéticas utilizando o marcador *rbcL*, o modelo de evolução foi selecionado usando o MrModeltest 2.2 (Posada 1998; Nylander 2004) usando Akaike Information Criterion (AIC). As árvores filogenéticas foram construídas no MrBayes v3.1.2. (Huelsenbeck & Ronquist 2001, utilizando-se de 2 corridas com 4 cadeias de Markov, 4.000.000 de gerações com amostragens a cada 100, as gerações iniciais correspondentes ao “burnin” foram descartadas) e no PAUP 4.0b8 (Swofford 2002) com 2000 replicatas de bootstrap: Neighbor-joining (NJ; com modelo de substituição Tamura & Nei 1993); máxima parcimonia (MP com busca heurística). “Gaps” foram considerados dados faltantes e todas as posições foram consideradas com o mesmo peso.

Tabela 7. Sequências de *Hypnea* presentes no banco de dados GenBank do marcador UPA utilizadas nas análises de agrupamento NJ.

Espécie	Autor	Acesso GenBank	Local	Referência
<i>H. cervicornis</i>	J.Agardh, 1851	HQ421284	Havaí	Sherwood <i>et al.</i> (2010)
<i>H. chordacea</i>	Kützing, 1847	HQ421521	Havaí	Sherwood <i>et al.</i> (2010)
<i>H. musciformis</i>	(Wulfen)	HQ421580	Havaí	Sherwood <i>et al.</i> (2010)
<i>H. musciformis</i>	J.V.Lamouroux, 1813	HQ421453	Havaí	Sherwood <i>et al.</i> (2010)
<i>H. nidifica</i>	J.Agardh, 1852	HQ421469	Havaí	Sherwood <i>et al.</i> (2010)
<i>H. pannosa</i>	J.Agardh, 1847	HQ421470	Havaí	Sherwood <i>et al.</i> (2010)
<i>H. spinella</i>	(C.Agardh) Kützing, 1847	HQ421582	Havaí	Sherwood <i>et al.</i> (2010)
<i>H. stellulifera</i>	(J.Agardh) Yamagishi & Masuda, 2003	HQ421577	Havaí	Sherwood <i>et al.</i> (2010)
<i>H. valentiae</i>	(Turner) Montagne, 1841	HQ421583	Havaí	Sherwood <i>et al.</i> (2010)
<i>H. valentiae</i>		HQ421584	Havaí	Sherwood <i>et al.</i> (2010)
<i>Hypnea</i> sp.	-	HQ421419	Havaí	Sherwood <i>et al.</i> (2010)
<i>Hypnea</i> sp.	-	HQ421193	Havaí	Sherwood <i>et al.</i> (2010)

Tabela 8. Sequências de *Hypnea* presentes no banco de dados GenBank do marcador *cox1* utilizadas nas análises de agrupamento NJ.

Espécie	Autor	Acesso GenBank	Local	Referência
<i>H. asiatica</i>	P.J.L.Geraldino, E.C.Yang	EU240815	Japão	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. asiatica</i>	& S.M.Boo, 2009	EU245981	Taiwan	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. boergesenii</i>	T.Tanaka,1941	EU345983	Coréia	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. caespitosa</i>	P.J.L.Geraldino &	FJ694906	Filipinas	Geraldino <i>et al.</i> 2010
<i>H. caespitosa</i>	S.M.Boo, 2010	FJ694899	Malásia	Geraldino <i>et al.</i> 2010
<i>H. caespitosa</i>		FJ694898	Indonésia	Geraldino <i>et al.</i> 2010
<i>H. cervicornis</i>	J.Agardh, 1851	HQ422674	Havaí	Sherwood. <i>et al.</i> 2010
<i>H. charoides</i>	J.V.Lamouroux,1813	EU240821	Austrália	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. charoides</i>		EU240823	Austrália	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. chordacea</i>	Kützing,1847	HQ422029	Havaí	Sherwood <i>et al.</i> 2010
<i>H. chordacea</i>		HQ422468	Havaí	Sherwood <i>et al.</i> 2010
<i>H. cornuta</i>		GQ141878	Coréia	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H.cornuta var. stellulifera</i>	(Kützing) J.Agardh,1851	HQ422721	Havaí	Sherwood <i>et al.</i> 2010
<i>H. flexicaulis</i>		EF136611	Coréia	Geraldino <i>et al.</i> 2006
<i>H. flexicaulis</i>		EF136606	Coréia	Geraldino <i>et al.</i> 2006
<i>H. flexicaulis</i>	Y.Yamagishi &	EF136608	Coréia	Geraldino <i>et al.</i> 2006
<i>H. flexicaulis</i>	M.Masuda, 2000	EF136591	Coréia	Geraldino <i>et al.</i> 2006
<i>H. flexicaulis</i>		FN823052	Itália	Wolf <i>et al.</i> 2011
<i>H. japonica</i>	T. Tanaka, 1941	EU345987	Coréia	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. japonica</i>		EU345989	Coréia	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. musciformis</i>		HQ422876	Havaí	Sherwood <i>et al.</i> 2010
<i>H. musciformis</i>	(Wulfen) J.V.Lamouroux,	HQ422683	Havaí	Sherwood <i>et al.</i> 2010
<i>H. musciformis</i>	1813	HQ422646	Havaí	Sherwood <i>et al.</i> 2010
<i>H. musciformis</i>		GQ141881	Coréia	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. nidifica</i>	J.Agardh, 1852	GQ141879	Coréia	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. nidulans</i>		FJ694913	Filipinas	Geraldino <i>et al.</i> 2010
<i>H. nidulans</i>	Setchell, 1924	FJ694907	Filipinas	Geraldino <i>et al.</i> 2010
<i>H. nidulans</i>		FJ694900	Filipinas	Geraldino <i>et al.</i> 2010
<i>H. pannosa</i>		FJ694912	Filipinas	Geraldino <i>et al.</i> 2010
<i>H. pannosa</i>	J.Agardh, 1847	FJ694909	Filipinas	Geraldino <i>et al.</i> 2010
<i>H. pannosa</i>		FJ694892	México	Geraldino <i>et al.</i> 2010
<i>H. pannosa</i>		HQ422908	Havaí	Sherwood <i>et al.</i> 2010
<i>H. rosea</i>	Papenfus 1947	GQ141883	Coréia	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. spinella</i>	(C.Agardh) Kützing, 1847	EU240818	Vietnã	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. spinella</i>		HQ422681	Havaí	Sherwood <i>et al.</i> 2010
<i>H. stellulifera</i>	(J.Agardh) Yamagishi &	EU345984	Filipinas	Geraldino <i>et al.</i> 2006
<i>H. stellulifera</i>	Masuda, 2003	EU345985	Coréia	Geraldino <i>et al.</i> 2006
<i>H. tenuis</i>	Kylin, 1938	GQ141880	Coréia	Geraldino <i>et al.</i> 2010
<i>H. valentiae</i>		HQ422901	Havaí	Sherwood <i>et al.</i> 2010
<i>H. valentiae</i>	(Turner) Montagne,	HQ422680	Havaí	Sherwood <i>et al.</i> 2010
<i>H. valentiae</i>	1841	GQ141882	Coréia	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. viridis</i>	Papenfuss, 1947	FJ694908	África do Sul	Geraldino <i>et al.</i> 2010
<i>Hypnea</i> sp.	-	HQ422958	Havaí	Sherwood <i>et al.</i> 2010
<i>Hypnea</i> sp.	-	HQ422951	Havaí	Sherwood <i>et al.</i> 2010
<i>Hypnea</i> sp.	-	FJ694911	Coréia	Geraldino <i>et al.</i> 2010

Tabela 9. Sequências de *Hypnea* presentes no banco de dados GenBank do marcador *rbcl* utilizadas nas análises filogenéticas.

Espécie	Autor	Acesso GenBank	Local	Referência
<i>H. asiatica</i>		EU345997	Taiwan	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. asiatica</i>		EU346008	Taiwan	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. asiatica</i>	P.J.L.Geraldino, E.C.Yang	EU240826	Coréia	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. asiatica</i>	& S.M.Boo, 2009	EU240830	Coréia	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. asiatica</i>		AB033159	Japão	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. asiatica</i>		EU240839	Japão	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. boergesenii</i>		EU346010	Coréia	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. boergesenii</i>	T.Tanaka,1941	AF385634	Taiwan	Hommersand & Fredericq 2005
<i>H. caespitosa</i>		FJ694943	Malásia	Geraldino <i>et al.</i> 2010
<i>H. caespitosa</i>	P.J.L.Geraldino &	FJ694945	Indonésia	Geraldino <i>et al.</i> 2010
<i>H. caespitosa</i>	S.M.Boo, 2010	FJ694942	Filipinas	Geraldino <i>et al.</i> 2010
<i>H. charoides</i>		EU240843	Austrália	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. charoides</i>	J.V.Lamouroux,1813	EU240844	Austrália	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. charoides</i>		AB033159	Japão	Yamagishi & Masuda 2000
<i>H. chordacea</i>	Kützing,1847	AB033160	Japão	Yamagishi & Masuda 2000
<i>H. cornuta</i>		EU345993	Indonésia	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. cornuta</i>		AB095911	Japão	Yamagishi <i>et al.</i> 2006
<i>H. cornuta</i>		AB095912	Itália	Yamagishi <i>et al.</i> 2006
<i>H. cornuta</i>	(Kützing) J.Agardh,1851	EU345992	Austrália	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. cornuta</i>		EU345990	Austrália	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. cornuta</i>		EU345991	Indonésia	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. cornuta</i>		AB033161	Japão	Yamagishi & Masuda 2000
<i>H.flagelliformis</i>	Greville ex J.Agardh, 1851	AB033162	Japão	Yamagishi & Masuda 2000
<i>H. flexicaulis</i>		EF136628	Filipinas	Geraldino <i>et al.</i> 2006
<i>H. flexicaulis</i>		EF136632	Filipinas	Geraldino <i>et al.</i> 2006
<i>H. flexicaulis</i>	Y.Yamagishi & M.Masuda,	EF136612	Taiwan	Geraldino <i>et al.</i> 2006
<i>H. flexicaulis</i>	2000	EF136630	Coréia	Geraldino <i>et al.</i> 2006
<i>H. flexicaulis</i>		DQ095823	Japão	Kim <i>et al.</i> 2005
<i>H. flexicaulis</i>		EF136631	Coréia	Geraldino <i>et al.</i> 2006
<i>H. japonica</i>		EU346003	Coréia	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. japonica</i>	T. Tanaka, 1941	AB033164	Japão	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. japonica</i>		EU345996	Taiwan	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. musciformis</i>		EU346012	França	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. musciformis</i>	(Wulfen) J.V.Lamouroux,	EU346013	França	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. musciformis</i>	1813	EU346014	França	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. musciformis</i>		HMU04179	EUA	Freshwater 1994
<i>H. nidifica</i>	J.Agardh, 1852	FJ694932	Indonésia	Geraldino <i>et al.</i> 2010
<i>H. nidulans</i>	Setchell, 1924	FJ694948	Filipinas	Geraldino <i>et al.</i> 2010
<i>H. pannosa</i>		AB033165	Japão	Yamagishi & Masuda 2000
<i>H. pannosa</i>	J.Agardh, 1847	FJ694957	México	Geraldino <i>et al.</i> 2010
<i>H. pannosa</i>		FJ694959	México	Geraldino <i>et al.</i> 2010
<i>H. pannosa</i>		FJ694951	Filipinas	Geraldino <i>et al.</i> 2010
<i>H. rósea</i>	Papenfuss, 1947	FJ694935	África do Sul	Geraldino <i>et al.</i> 2010
<i>H. spinella</i>		AF385635	EUA	Hommersand & Fredericq 2005
<i>H. spinella</i>	(C.Agardh) Kützing, 1847	EU240848	Vietnã	Geraldino <i>et al.</i> 2009

<i>H. spinella</i>		EU240849	Vietnã	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. spinella</i>		AB033166	Japão	Yamagishi & Masuda 2000
<i>H. stellulifera</i>		EU346004	Filipinas	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. stellulifera</i>	(J.Agardh) Yamagishi &	EU345999	Filipinas	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. stellulifera</i>	Masuda, 2003	EU345914	Malásia	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. stellulifera</i>		EU345913	Malásia	Geraldino <i>et al.</i> 2009
<i>H. tenuis</i>	Kylin, 1938	FJ694934	África do Sul	Geraldino <i>et al.</i> 2010
<i>H. valentiae</i>	(Turner) Montagne, 1841	FJ694933	Indonésia	Geraldino <i>et al.</i> 2010
<i>H. viridis</i>	Papenfuss, 1947	FJ694930	África do Sul	Geraldino <i>et al.</i> 2010
<i>H. volubilis</i>	Searles, 1976	AF385636	EUA	Hommersand & Fredericq 2005
<i>H. yamadae</i>	Tanaka, 1960	AB095916	Japão	Geraldino <i>et al.</i> 2010

Tabela 10. Sequências brasileiras de *Hypnea* obtidas por Guimarães (2011) utilizadas.

Identificação	Espécie	Local	Marcador		
BOT001	<i>H. musciformis</i>	Manguinhos, Espírito Santo	cox1	-	-
BOT003	<i>Hypnea</i> sp. 2	São Sebastião, São Paulo	cox1	UPA	rbcl
BOT004	<i>H. cervicornis</i>	Ubatuba, São Paulo	cox1	-	-
IBC0028	<i>H. cervicornis</i>	Ubatuba, São Paulo	-	UPA	rbcl
IBC0040	<i>H. musciformis</i>	Ubatuba, São Paulo	cox1	UPA	rbcl
IBC0041	<i>H. spinella</i>	Ubatuba, São Paulo	cox1	-	-
IBC0064	<i>H. cervicornis</i>	Ubatuba, São Paulo	-	-	rbcl
IBC0098	<i>H. musciformis</i>	Ubatuba, São Paulo	-	-	rbcl
IBC0129	<i>H. spinella</i>	São Sebastião, São Paulo	-	UPA	rbcl
IBC0185	<i>H. musciformis</i>	Ubatuba, São Paulo	-	-	rbcl
IBC0187	<i>H. musciformis</i>	Itanhaém, São Paulo	cox1	-	-
IBC0190	<i>H. flexicaulis</i>	Paraty, Rio de Janeiro	cox1	UPA	rbcl
IBC0211	<i>Hypnea</i> sp. 1	Ubatuba, São Paulo	cox1	-	-
IBC0212	<i>Hypnea</i> sp. 1	São Sebastião, São Paulo	-	UPA	rbcl
IBC0217	<i>H. cervicornis</i>	Ilha das Couves, São Paulo	cox1	-	-
IBC0245	<i>H. cervicornis</i>	Cananéia, São Paulo	-	-	rbcl

8.10. Depósito de Sequências nos Bancos de Dados

A fim de concentrar os dados obtidos através da técnica “DNA barcode” para os mais diversos grupos de organismos, foi criado um banco de dados internacional de consulta pública, o BOLD, Barcoding of Life Data System (<http://www.boldsystems.org>; Ratnasinghan & Hebert 2007). Todos os dados para os espécimes coletados do gênero *Hypnea* gerados nesse trabalho foram depositados nesse banco. As amostras foram numeradas com um código (número IBC), o que permitirá a recuperação desses dados em consulta no BOLD. Na publicação dos dados, as sequências geradas para os três marcadores moleculares também serão depositadas no GenBank.

9.1. Locais de Coleta

Ao todo, foram obtidas 230 amostras de *Hypnea*, provenientes de 11 estados brasileiros (Apêndice I): Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Bahia, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina (Figura 7), coletadas em 40 pontos de coleta distribuídos em 18 municípios e oito ilhas. De 13 táxons previamente citadas para o país, verificamos a ocorrência de nove táxons, denominados de: *H. cervicornis*, *Hypnea* cf. *flexicaulis*, *Hypnea* cf. *musciformis*, *H. spinella*, *Hypnea* cf. *stellulifera*, *Hypnea* sp. 1, *Hypnea* sp.2, *Hypnea* sp.3 e *Hypnea* sp.4.

Figura 7. Mapa do Brasil destacando os Estados para os quais amostras de *Hypnea* foram obtidas e seus respectivos números (Mapa elaborado a partir da base cartográfica do IBGE).

9.2. Região Nordeste

Foram obtidas 89 amostras da Região Nordeste, provenientes de sete estados (Tabela 11).

Tabela 11: Resumo das amostras provenientes da Região Nordeste.

Espécie	Piauí	Ceará	R. G. do Norte	Paraíba	Pernambuco	Alagoas	Bahia
<i>H. cervicornis</i>	-	3		6	4	2	5
<i>H. cf. flexicaulis</i>	-	1	1	-	2	1	1
<i>H. cf. musciformis</i>	1	17	6	9	8	2	9
<i>H. spinella</i>	-	-	-	-	-	-	2
<i>H. cf. stellulifera</i>	-	-	-	-	-	-	7
<i>Hypnea</i> sp. 1	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hypnea</i> sp. 2	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hypnea</i> sp. 3	-	-	-	-	-	-	2
<i>Hypnea</i> sp. 4	-	-	-	-	-	-	-
Total	1	21	7	15	14	5	26

Coletas foram realizadas no Estado do Ceará (Figura 8), no Estado da Paraíba (Figura 9) e no Estado da Bahia (Figura 10). As amostras provenientes dos Estados do Piauí, Rio Grande do Norte, Pernambuco e Alagoas foram obtidas por meio de colaborações com outros pesquisadores. A amostra do Piauí é proveniente da praia Peito de Moça, do município Luíz Correia. As amostras do Rio Grande do Norte são provenientes das praias de Ponta Negra, Tabatinga e Camurupim dos municípios de Natal, Nísia Floresta e Rio do Fogo, respectivamente. As amostras de Pernambuco são provenientes das praias de Tamandaré, do Toquinho e Enseada dos Corais nos municípios de Tamandaré, Ipojuca e Recife, respectivamente. As amostras de Alagoas são provenientes da praia do Francês e da praia de Jequitá, dos municípios Marechal Deodoro e Jequiá da Praia, respectivamente.

Trairi	Beberibe
1-Mundaú	8-Praia de Morro Branco
2-Praia de Guajiru	9-Praia das Fontes
3-Flecheiras	Aracati
4-Praia Embuaca	10-Canoa Quebrada
Paraipaba	11-Praia da Lagoa do Mato
5-Praia da Lagoinha	12-Praia de Ponta Grossa
Paracuru	
6-Praia Ronco do Mar	
7-Praia da Pedra Rachada	

Figura 8: Detalhamento dos pontos de coleta no Estado do Ceará. (Mapa elaborado a partir do Google Maps).

Figura 9: Detalhamento dos pontos de coleta no Estado da Paraíba. (Mapa elaborado a partir do Google Maps).

Figura 10: Detalhamento dos pontos de coleta no Estado da Bahia. (Mapa elaborado a partir do Google Maps).

9.3. Região Sudeste

Foram obtidas 109 amostras para a Região Sudeste do país (Tabela 12). O mapa de coletas do Espírito Santo pode ser encontrado na Figura 11 e do Rio de Janeiro nas Figuras 12 e 13. Com relação ao Estado de São Paulo, as amostras são provenientes de locais que complementassem o trabalho realizado por Guimarães (2011) nessa região, visando principalmente a coleta em ilhas e no infralitoral (Figura 14).

Tabela 12: Resumo das amostras provenientes da Região Sudeste.

Espécie	Espírito Santo	Rio de Janeiro	São Paulo
<i>H. cervicornis</i>	8	9	16
<i>H. cf. flexicaulis</i>	2	5	3
<i>H. cf. musciformis</i>	6	20	11
<i>H. spinella</i>	11	1	3
<i>H. cf. stellulifera</i>	-	-	-
<i>Hypnea</i> sp. 1	1	2	1
<i>Hypnea</i> sp. 2	1	-	2
<i>Hypnea</i> sp. 3	-	4	1
<i>Hypnea</i> sp. 4	-	2	-
Total	29	43	37

Meaípe

- 1-Enseada Azul
- 2-Enseada dos Padres

Guarapari

- 3-Praia dos Namorados
- 4-Praia de Setiba

Anchieta

- 5-Praia de Parati
- 6-Praia dos Castelhanos

Itapemirim

- 7-Praia de Itaoca

Piúma

- 8-Praia do Aghá

Marataízes

- 9-P. das Arraias/P. da Cruz

Figura 11: Detalhamento dos pontos de coleta no Estado do Espírito Santo. (Mapa elaborado a partir do Google Maps).

Armação dos Búzios

- 1-Praia de João Fernandes
- 2-Praia Azedinha
- 3-Praia do Forno
- 4-Praia da Ferradura
- 5-Praia Brava

Arraial do Cabo

- 6-Prainha
- 7-Praianhas do Atalaia
- 8-Praia do Farol/Ilha do Farol

Figura 12: Detalhamento dos pontos de coleta no litoral norte do Rio de Janeiro. (Mapa elaborado a partir do Google Maps).

Figura 13: Detalhamento dos pontos de coleta no litoral sul do Rio de Janeiro. (Mapa elaborado a partir do Google Maps).

Figura 14: Detalhamento dos pontos de coleta no Estado de São Paulo. (Mapa elaborado a partir do Google Maps).

9.4. Região Sul

Foram obtidas 32 amostras para a Região Sul do país (Tabela 13). A coleta na região limitou-se ao Estado de Santa Catarina, cujo mapa de coleta pode ser encontrado na Figura 15.

Tabela 13: Resumo das amostras provenientes da Região Sul.

Espécie	Santa Catarina
<i>H. cervicornis</i>	7
<i>H. cf. flexicaulis</i>	4
<i>H. cf. musciformis</i>	18
<i>H. spinella</i>	2
<i>H. cf. stellulifera</i>	-
<i>Hypnea</i> sp. 1	-
<i>Hypnea</i> sp. 2	-
<i>Hypnea</i> sp. 3	1
<i>Hypnea</i> sp. 4	-
Total	32

Balneário Camburiú

- 1-Praia de Laranjeiras
- Praia de Taquaras

Bombinhas

- 2-Praia da Sepultura
- 3-Bombas

Governador Celso Ramos

- 4-Canto dos Ganchos
- 5-Ganchos de Fora

- 6-Praia de Palmas

- 7-Ilha do Arvoredo

Florianópolis

- 8-Ponta das Canas
- 9-Praia do Sambaqui
- 10-Canal da Barra da Lagoa
- 11-Ilha do Xavier
- 12-Praia do Molhe
- 13-Praia da Armação

Figura 15: Detalhamento dos pontos de coleta no Estado de Santa Catarina. (Mapa elaborado a partir do Google Maps).

9.5. Amostras de outros países

Além das amostras brasileiras, foram obtidas 10 amostras de outros países, sendo oito do Oceano Atlântico, incluindo o Mar do Caribe, e duas do Mar Adriático (Tabela 14). As duas amostras de *H. musciformis* são provenientes da localidade tipo da espécie, em Trieste, na Itália. A amostra de *H. spinella* da ilha de Barbados também é proveniente da localidade tipo, o Mar do Caribe. A listagem detalhada dos dados de coleta de todas as amostras brasileiras pode ser encontrada no Apêndice I.

Tabela 14: Amostras de outros países do gênero *Hypnea*.

Espécie	NºIBC	Localidade/País	Coletor	Voucher
<i>H. spinella</i>	IBC0736	Bridgetown, Barbados	M. C. Oliveira	SPF57446
<i>H.cf. musciformis</i>	IBC0737	Needham's Point, Barbados	M. C. Oliveira	SPF57447
<i>H cf. musciformis</i>	IBC0903	Punta Cana, República Dominicana	F. Nauer	SPF57585
<i>H cf. flexicaulis</i>	IBC0913	Bocas del Toro, Panamá	M. Sissini & C. A. Azevedo	SPF57592
<i>H. musciformis</i>	IBC0914	Bocas del Toro, Panamá	M. Sissini & C. A. Azevedo	SPF57593
<i>H. musciformis</i>	IBC0915	Trieste, Itália	F. Rindi	SPF57594
<i>H. musciformis</i>	IBC0916	Trieste, Itália	F. Rindi	SPF57595
<i>H. musciformis</i>	IBC0917	Namíbia	M. H. Hommersand	SPF57596
<i>H. musciformis</i>	IBC0918	Flórida, EUA	M. H. Hommersand	SPF57597
<i>H. musciformis</i>	IBC0919	Carolina do Norte, EUA	M. H. Hommersand	SPF57598

9.6. Dados Moleculares

Foram obtidas 367 sequências de marcadores moleculares neste trabalho para o gênero *Hypnea*. O marcador *cox1* foi sequenciado para todas as 240 amostras, porém 223 sequências (92,9%) funcionaram e/ou apresentaram boa qualidade (Apêndice II). O marcador UPA foi sequenciado para 115 amostras (~50%) (Apêndice III). Após a análise dos agrupamentos formados pelos marcadores moleculares do tipo “DNA barcode”, foram selecionados amostras representantes de cada agrupamento e seus haplótipos para o sequenciamento do marcador filogenético *rbcl*. Ao todo 29 sequências de boa qualidade do marcador *rbcl* foram obtidas (Apêndice IV). O detalhamento das amostras processadas pode ser encontrado no Apêndice I.

Para análise da variação intraespecífica, foram utilizadas somente sequências brasileiras obtidas neste trabalho em uma matriz de sequências-consenso. A matriz do marcador UPA possuía 410 pb, a matriz do marcador *cox1* possuía 710 pb e do marcador *rbcl*, 1355 pb. Para o marcador UPA, a variação intraespecífica encontrada foi de 0 a 3 pb (0 – 0,8%). Para o marcador *cox1*, a variação intraespecífica foi de 0 a 14 pb (0 – 1,7%). Já para o marcador *rbcl*, a variação intraespecífica foi de 0 a 11 pb (0 – 0,7%). Os valores da variação intraespecífica para os três marcadores para cada espécie pode ser encontrado na Tabela 15.

A variação interespecífica foi calculada utilizando-se uma mesma matriz somente com sequências brasileiras de *Hypnea*. Para o marcador UPA, a variação interespecífica encontrada foi de 7 a 28 pb (1,8 – 6,9%). Para o marcador *cox1*, a variação interespecífica foi de 69 a 130 pb (9,8 – 18,2%). Para o marcador *rbcl*, a variação interespecífica encontrada foi de 48 a 92 pb (3,6 – 6,8%). Nos três casos não houve, portanto, sobreposição da variação intraespecífica com a variação interespecífica. Os dados da variação interespecífica para os marcadores moleculares UPA, *cox1* e *rbcl* podem ser encontrados nas tabelas 16, 17 e 18, respectivamente.

Tabela 15: Variação intraespecífica encontrada para os marcadores moleculares *cox1*, UPA e *rbcl* para os espécimes brasileiros do gênero *Hypnea*, representadas pela porcentagem (var.) e quantidade de pares de base (pb). A quantidade de sequências obtidas para cada espécie encontrada por marcador molecular também está indicada (nº). Os espaços com “-” representam aquelas espécies com apenas uma sequência para aquele marcador.

Táxons	<i>cox1</i>			UPA			<i>rbcl</i>		
	nº	var.	pb	nº	var.	pb	nº	var.	pb
<i>H. cervicornis</i>	59	0 - 0,5%	0 - 3	34	0 - 0,3%	0 - 1	4	0 - 0,3%	0 - 4
<i>H.cf. flexicaulis</i>	17	0 - 0,3%	0 - 2	6	0%	0	1	-	-
<i>H.cf. musciformis</i>	109	0 - 1,7%	0 - 14	48	0 - 0,3%	0 - 1	12	0 - 0,7%	0 - 11
<i>H. spinella</i>	18	0 - 0,3%	0 - 2	8	0 - 0,8%	0 - 3	4	0 - 0,2%	0 - 2
<i>H. cf. stellulifera</i>	4	0 - 0,5%	0 - 3	7	0 - 0,8%	0 - 3	2	0 - 0,3%	0 - 4
<i>Hypnea</i> sp. 1	4	0%	0	3	0 - 0,3%	0 - 1	1	-	-
<i>Hypnea</i> sp. 2	3	0%	0	2	0 - 0,3%	0 - 1	1	-	-
<i>Hypnea</i> sp. 3	7	0%	0	4	0%	0	3	0 - 0,4%	0 - 6
<i>Hypnea</i> sp. 4	2	0%	0	2	0%	0	1	-	-

Tabela 16: Valores de divergência interespecífica para o marcador UPA. Porcentagem de identidade está indicada na porção inferior e o número de nucleotídeos divergentes está na porção superior. Os valores mínimo e máximo estão destacados em negrito.

Táxons	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. <i>H. cervicornis</i>	ID	11	15	9	13	15	9	9	20
2. <i>H.cf. flexicaulis</i>	2,7%	ID	17	10	14	16	10	10	24
3. <i>H.cf. musciformis</i>	2,5%	2,7%	ID	16	15	20	11	16	26
4. <i>H. spinella</i>	2,5%	2,5%	3,2%	ID	16	16	7	7	21
5. <i>H.cf. stellulifera</i>	3,2%	3,5%	3,2%	4,2%	ID	23	16	16	28
6. <i>Hypnea</i> sp. 1	3,7%	4%	4,7%	3%	5,7%	ID	16	16	24
7. <i>Hypnea</i> sp. 2	2,2%	2,5%	2,7%	2%	4%	4%	ID	7	21
8. <i>Hypnea</i> sp. 3	2,2%	2,5%	4%	1,8%	4%	4%	4%	ID	18
9. <i>Hypnea</i> sp. 4	4,9%	5,9%	5,7%	4,9%	6,9%	5,9%	5,2%	4,4%	ID

Tabela 17: Valores de divergência interespecífica para o marcador *cox1*. Porcentagem de identidade está indicada na porção inferior e o número de nucleotídeos divergentes está na porção superior. Os valores mínimo e máximo estão destacados em negrito.

Táxons	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. <i>H. cervicornis</i>	ID	99	102	84	116	82	83	78	111
2. <i>H.cf. flexicaulis</i>	13,1%	ID	84	83	103	87	94	83	115
3. <i>H.cf. musciformis</i>	14,4%	11,9%	ID	91	89	95	107	101	124
4. <i>H. spinella</i>	11,9%	11,7%	13%	ID	106	69	72	72	101
5. <i>H.cf. stellulifera</i>	16,4%	14,6%	12,6%	15%	ID	98	114	104	130
6. <i>Hypnea</i> sp. 1	11,6%	12,3%	13,4%	9,8%	13,9%	ID	78	77	104
7. <i>Hypnea</i> sp. 2	11,7%	13,3%	15,1%	10,2%	16,1%	11%	ID	74	112
8. <i>Hypnea</i> sp. 3	11%	11,7%	14,6%	10,2%	14,7%	10,1%	10,5%	ID	99
9. <i>Hypnea</i> sp. 4	15,6%	16,1%	17,2%	14,2%	18,2%	14,6%	15,7%	13,9%	ID

Tabela 18: Valores de divergência interespecífica para o marcador *rbcl*. Porcentagem de identidade está presente na porção inferior e o número de nucleotídeos divergentes está porção superior. Os valores mínimo e máximo estão destacados em negrito.

V. Interespecífica	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. <i>H. cervicornis</i>	ID	82	76	51	78	64	56	62	69
2. <i>H.cf. flexicaulis</i>	6,1%	ID	73	82	77	90	86	78	90
3. <i>H.cf. musciformis</i>	5,7%	5,4%	ID	88	54	92	88	85	79
4. <i>H. spinella</i>	3,8%	6,1%	6,5%	ID	84	59	48	67	80
5. <i>H.cf. stellulifera</i>	5,8%	5,7%	4%	6,2%	ID	88	82	78	85
6. <i>Hypnea</i> sp. 1	4,8%	6,7%	6,8%	4,4%	6,5%	ID	48	70	79
7. <i>Hypnea</i> sp. 2	4,2%	6,4%	6,5%	3,6%	6,1%	3,6%	ID	68	83
8. <i>Hypnea</i> sp. 3	4,6%	5,8%	6,3%	5%	5,9%	5,2%	5,1%	ID	80
9. <i>Hypnea</i> sp. 4	5,1%	6,7%	5,9%	6%	6,3%	5,9%	6,2%	6%	ID

As amostras brasileiras da espécie *Hypnea* cf. *musciformis* apresentaram uma divergência significativa com relação às amostras de outros países obtidas neste trabalho, descritas previamente na Tabela 14. A divergência dessas amostras para o marcador *cox1* está descrita na Tabela 19, já para o marcador *rbcl* está descrita na Tabela 20. Para o marcador *cox1*, a divergência entre os espécimes brasileiros e o

italiano foi de 29 a 33 pb (6,2 – 7,1%). Para o marcador *rbcL*, a divergência encontrada foi de 24 a 30 pb (1,7 - 2,3%). Esses valores são significativamente maiores do que os valores encontrados para a variação intraespecífica e por isso as amostras brasileiras estão representadas como *Hypnea* cf. *musciiformis*. Não houve divergência entre a amostra da Ilha de Barbados, no mar do Caribe, da espécie *H. spinella* e as amostras brasileiras para nenhum marcador, indicando que são a mesma espécie. Com relação a amostra da espécie *H. flexicaulis* do Panamá, só foi possível obter sequência para o marcador UPA onde também nenhuma divergência foi encontrada com relação as amostras brasileiras.

Tabela 19: Valores de divergência para a espécie *H. musciiformis* entre os espécimes brasileiros e os espécimes de outros países para o marcador *cox1*. Porcentagem de identidade está indicada na porção inferior e o número de nucleotídeos divergentes está na porção superior.

<i>H. musciiformis</i>	1	2	3	4	5	6	7
1. Brasil (IBC0731)	ID	35	39	40	40	44	43
2. Barbados (IBC0737)	4,8%	ID	6	23	23	23	22
3. Rep. Dominicana (IBC0903)	5,4%	0,9%	ID	21	21	21	20
4. Florida EUA (IBC0918)	5,8%	3,3%	3%	ID	0	8	7
5. C. do Norte EUA (IBC0919)	5,8%	3,3%	3%	0%	ID	8	7
6. Namíbia AFR (IBC0917)	6,4%	3,3%	3%	1,2%	1,2%	ID	1
7. Itália* (IBC0916)	6,2%	3,1%	2,9%	1%	1%	0,2%	ID

* Amostra da localidade tipo: Trieste, Itália (Mar Adriático).

As Figuras 16 e 18 mostram, respectivamente, as árvores consenso de Neighbour Joining (NJ) para os marcadores *cox1* e UPA. A topologia das árvores para ambos os marcadores é semelhante, onde as sequências brasileiras de *Hypnea* formaram nove grupos distintos, cada um representando uma entidade taxonômica distinta. A árvore de *cox1* foi construída com base em uma matriz de 277 sequências com 465 pb. A árvore de UPA foi construída com base em uma matriz de 135 sequências com 369 pb. A Figura 17 mostra uma árvore consenso de NJ para o marcador *cox1* somente com as amostras de *Hypnea* cf. *musciiformis*. Para tanto, foi utilizada uma matriz com 117 sequências com 465 pb.

Tabela 20: Valores de divergência para a espécie *H. musciformis* entre os espécimes brasileiros e os espécimes de outros países para o marcador *rbcL*. Porcentagem de identidade está indicada na porção inferior e o número de nucleotídeos divergentes está na porção superior.

<i>H. musciformis</i>	1	2	3	4	5	6	7
1. Brasil (CE) - IBC0875	ID	4	36	22	27	30	26
2. Brasil (SP) - IBC0731	0,4%	ID	29	22	25	22	19
3. Barbados - IBC0737	2,7%	2,2%	ID	20	21	22	22
4. Florida EUA - IBC0918	1,7%	1,7%	1,5%	ID	3	6	4
5. C. do Norte EUA - IBC0919	1,9%	1,8%	1,6%	0,3%	ID	5	3
6. Itália* - IBC0916	2,3%	1,7%	1,7%	0,5%	0,4%	ID	3
7. França – EU346011	1,7%	2,1%	1,4%	0,4%	0,3%	0,3%	ID

* Amostra da localidade tipo: Trieste, Itália (Mar Adriático).

A árvore de NJ para o marcador *cox1* (Figura 16) apresenta 23 espécies do gênero *Hypnea*, incluindo as nove espécies da flora brasileira. As sequências obtidas do GenBank correspondem a diversos trabalhos (Tabela 8). Na árvore foram plotados apenas os valores de bootstrap maiores que 70, agrupamentos com valores abaixo desse número se apresentam na forma de uma politomia. Nessa árvore todas os espécimes brasileiros formam clados monofiléticos com alto valor de suporte de bootstrap.

Os agrupamentos formados pelas espécies *H. cervicornis* (verde claro), *Hypnea* sp. 3 (laranja) e *Hypnea* sp. 2 (rosa) não se apresentam proximamente relacionados a nenhuma outra sequência de *cox1* disponível no banco de dados até o momento. O clado *Hypnea* sp.1 (vermelho) formou um agrupamento com *H. spinella* e *Hypnea* sp. ambas do Havaí das quais divergem em 1,3% (9 pb). As sequências de *H. spinella* (roxo) se agrupam com uma sequência de *H. valentiae* da Coreia, das quais divergem de 6,5 a 6,9% (45 a 50 pb) para o *cox1*. As sequências de *Hypnea* sp. 4 (amarelo) se agrupam com *H. cornuta* var. *stellulifera* do Havaí da qual divergem em 0,5% (5 pb) para o *cox1*, indicando se tratarem da mesma espécie.

Figura 16. Árvore de Neighbor-Joining (NJ) para as sequências do marcador *cox1* para o gênero *Hypnea*. Os valores de bootstrap (2000 réplicas) estão representados nos ramos, apenas os valores maiores que 70 foram plotados. As nove espécies brasileiras estão representadas em cores diferentes na árvore. As sequências utilizadas do trabalho de Guimarães (2011) estão destacadas com um círculo vermelho. As sequências retiradas do GenBank estão seguidas do número de acesso e da localidade de coleta. Como grupo externo foi utilizada uma sequência de *Chondracanthus teedei*.

As sequências brasileiras de *Hypnea* cf. *flexicaulis* (azul escuro) formam um clado irmão com alto suporte com as sequências da Ásia e da Itália, além de duas sequências do Havaí identificadas como *H. valentiae* e *H. cervicornis* e uma sequência da Coréia identificada como *H. boergesenii*. A localidade tipo da espécie é o Japão. A divergência das sequências brasileiras para as três sequências coreanas é de 2,8 a 3,1%.

As sequências de *Hypnea* cf. *stellulifera* (verde escuro) aparecem na árvore como um clado monofilético, no qual a sequência IBC0933 apresenta uma variação intraespecífica para o *cox1* de apenas 0,5% com as demais sequências brasileiras da espécie. Esse clado forma um clado irmão com as duas sequências de *H. stellulifera* do Genbank, com 99 de bootstrap. A localidade tipo da espécie é as Filipinas, representada pela sequência EU345984. Porém a divergência da sequência da localidade tipo para as sequências brasileiras é de 5,9% (IBC931, IBC0935, IBC0936) a 6,1% (IBC0933) indicando que possivelmente se tratam de espécies distintas. A espécie *H. cornuta* está representada na árvore pela sequência GQ14878 da Coréia. A divergência das sequências brasileiras de *Hypnea* cf. *stellulifera* para a sequência de *H. cornuta* do Genbank é de 6,6% a 6,7%.

As sequências brasileiras de *Hypnea* cf. *musciiformis* formaram um clado monofilético com valor de bootstrap igual a 100. Dentro desse clado, se formou um agrupamento com a maioria das sequências nordestinas com valor de bootstrap igual a 97. A divergência dessas sequências nordestinas para as demais sequências é 1,7%. A Figura 17 mostra uma análise de NJ para o marcador *cox1* somente com as sequências de *H. musciiformis* para melhor visualização.

A topologia da Figura 17 mostra dois grandes agrupamentos com alto suporte de bootstrap, um formado pelas sequências brasileiras e o outro pelas sequências obtidas, nesse trabalho e a partir do GenBank, de espécimes de outros países. As sequências brasileiras de *Hypnea* cf. *musciiformis* formam um clado monofilético subdividido em dois outros clados, um formado por sequências da região nordeste do país (verde) com alto suporte de bootstrap (94) e o outro formado majoritariamente por sequências da região sudeste e sul (azul), mas que também inclui algumas amostras coletadas no nordeste.

A morfologia típica da espécie, epífita com inúmeras gavinhas nos ápices dos ramos, está destacada por um círculo laranja claro. Os espécimes inicialmente identificados pela morfologia como *H. valentiae* estão destacados por um triângulo verde. As sequências desses espécimes estão espalhados pela árvore no subclado azul e não apresentam divergência intraespecífica com a variante morfológica típica. Esses espécimes só foram encontradas na região Sudeste e Sul do país. Os espécimes inicialmente identificados como *H. nigrescens* estão representados por um retângulo azul na topologia. As sequências desses espécimes também estão espalhados na topologia e não apresentam variação intraespecífica com a variante típica. Com base nesses dados moleculares, os espécimes brasileiros de *H. valentiae* e *H. nigrescens* são variações morfológicas da espécie *Hypnea* cf. *musciiformis* e, provavelmente, essas duas espécies não ocorrem na costa brasileira.

A sequência da localidade tipo de *H. musciiformis* está grafada em vermelho, essa amostra italiana forma um clado com uma amostra da Namíbia, na costa do Atlântico, na África e esse clado por sua vez se agrupa com uma amostra coreana (ver Tabela 19 para os valores de divergência do *cox1*). As duas sequências do Atlântico ocidental se agrupam e, juntamente com o clado da localidade tipo, formam um clado com valor de suporte de bootstrap igual a 96. Embora a sequência da República Dominicana se agrupe com este grande clado, o valor de bootstrap é baixo, 60. Por fim, também pelo marcador *cox1*, as duas sequências do Havaí se agrupam com a sequência de Barbados.

A divergência das sequências brasileiras de *Hypnea* cf. *musciiformis* para a sequência da localidade tipo de *H. musciiformis* é de 6,0% a 6,2% para o marcador *cox1*, indicando que não se tratam da mesma espécie. Por sua vez, a sequência caribenha de Barbados possui divergência de 1,7% com a sequência italiana e sua divergência com as sequências brasileiras é de 2,5% a 2,7%, indicando que esse espécime de Barbados talvez corresponda a uma terceira espécie. Com base nesses dados, os espécimes globalmente conhecidos como *H. musciiformis* podem tratar-se de um complexo de espécimes proximamente relacionadas ao invés de uma única espécie cosmopolita.

Figura 17. Árvore de Neighbor-Joining (NJ) para as sequências do marcador *cox1* para a espécie *Hypena musciformis*. Os valores de bootstrap (2000 réplicas) estão representados nos ramos. A sequência da localidade tipo da espécie está grafada em vermelho. As sequências utilizadas do trabalho de Guimarães (2011) estão destacadas com um círculo vermelho. As sequências brasileiras formam dois subclados, o subclado composto apenas por amostras nordestinas está destacado em verde, o subclado das demais sequências está em azul. Amostras identificadas morfológicamente como *H. valentiae* estão destacadas com um triângulo verde. Amostras identificadas morfológicamente como *H. nigrescens* estão destacadas com um retângulo azul. Amostras com morfologia típica da espécie (epífita com gavinhas) estão destacadas com um círculo amarelo. As sequências retiradas do GenBank

estão seguidas do número de acesso e da localidade de coleta. Como grupo externo foi utilizado uma sequência de *Chondracanthus teedei*.

A árvore de NJ para o marcador UPA (Figura 18) representa 15 espécies do gênero *Hypnea*, com nove espécies da flora brasileira e seis espécies da flora do Havaí (Sherwood *et al.* 2011) retiradas do GenBank (Tabela 7). As espécies *H. cervicornis* (verde claro), *Hypnea* sp. 3 (laranja), *Hypnea* sp. 4 (amarelo), *Hypnea* sp. 2 (rosa), *H. spinella* (roxo), *Hypnea* cf. *stellulifera* (verde escuro) e *Hypnea* cf. *flexicaulis* (azul escuro) formam clados monofiléticos que não são proximamente relacionados a nenhuma das sequências de UPA disponíveis até o momento. Os agrupamentos formados para as sequências de *Hypnea* cf. *stellulifera* e *Hypnea* cf. *flexicaulis*, embora monofiléticos, se apresentam com um baixo suporte de bootstrap. A variação intraespecífica para *Hypnea* cf. *stellulifera* é de 0 a 0,8% e a variação entre as sequências de UPA das amostras brasileiras de *Hypnea* cf. *flexicaulis* e da amostra obtida no Panamá é de 1%.

A espécie *Hypnea* sp.1 (laranja) forma um clado monofilético com um suporte de 98 de bootstrap incluindo uma sequência do Havaí (HQ421582). Este clado, por sua vez, é proximamente relacionado a uma outra sequência (HQ421419) também do Havaí com uma divergência de 1,3 a 1,9%.

As amostras brasileiras de *Hypnea* cf. *musciiformis* (azul claro) formam um clado monofilético com valor de bootstrap de 85. As sequências de algumas das amostras de outros países se agrupam com sequências brasileiras, mas com baixo suporte de bootstrap, enquanto que outras sequências identificadas como *H. musciiformis* formam uma politomia. A sequência de Barbados formou um clado com as duas sequências do Havaí, com 0% de identidade entre elas, o que é interessante do ponto de vista geográfico, já que o Havaí se encontra no Oceano Pacífico e a ilha de Barbados no Mar do Caribe, no oceano Atlântico. As sequências de UPA dos espécimes brasileiros divergem da sequência italiana da localidade tipo de *H. musciiformis* em até 3,2%.

Figura 18. Árvore de Neighbor-Joining (NJ) para as sequências do marcador UPA para o gênero *Hypnea*. Os valores de bootstrap (2000 réplicas) estão representados nos ramos. As nove espécies brasileiras estão representadas em cores diferentes na árvore. As sequências utilizadas do trabalho de Guimarães (2011) estão destacadas com um círculo vermelho. As sequências retiradas do GenBank estão seguidas do número de acesso e da localidade de coleta. Como grupo externo foi utilizada uma sequência de *Chondracanthus teedei*.

A Figura 19 apresenta a topologia construída com a análise bayesiana para sequências do marcador *rbcl*, juntamente com os valores de suporte de bootstrap encontrados nas análises de NJ e MP para os mesmos ramos. Para tanto foi utilizada uma matriz de 97 sequências com 1355 nucleotídeos. Essa topologia representa a filogenia do gênero *Hypnea* com 23 espécies. O grupo externo utilizado foi uma espécie do gênero *Calliblepharis*, também pertencente à Cystocloniaceae. Desconsiderando a sequência do banco de dados AF385653 identificada como *H. spinella*, o gênero se mostrou monofilético, com alto suporte de probabilidade *a posteriori* (acima de 0.9), porém baixo suporte de bootstrap para NJ e MP. A sequência AF385653 presente no Genbank e identificada como *H. spinella* da Flórida, EUA, agrupou-se fora do gênero. Esse fato pode ter acontecido devido a três razões: 1) uma possível baixa qualidade da sequência, 2) um possível erro na identificação do material ou 3) a necessidade de inclusão de mais terminais dentro do gênero ou mesmo a escolha de um grupo externo mais adequado.

A espécie *Hypnea* sp. 4 aparece isolada numa posição mais basal nessa árvore. As demais sequências de *Hypnea* formaram três agrupamentos. O primeiro agrupamento é composto por espécies que possuem o hábito do talo em forma de “tufos”, de crescimento intricado que corresponde à seção *Spinuligerae* proposta por J. Agardh (1852). O suporte desse agrupamento, entretanto, é baixo. Dentro desse agrupamento, a espécie *H. spinella* aparece monofilética com alto suporte, onde as amostras brasileiras agrupam-se com a amostra do Mar do Caribe, localidade tipo da espécie (sem divergência na sequência de *rbcl*). *Hypnea spinella*, por sua vez, forma um pequeno agrupamento com uma espécie não identificada do Japão e com *H. valentiae* da Indonésia. A espécie *Hypnea* sp. 1 é monofilética com alto suporte e forma um grupo irmão de espécimes coletados no Vietnã e Japão que foram identificados como *H. spinella*. Considerando que o material coletado no Brasil e identificado morfológicamente como *H. spinella* (ver item 9.12 adiante), se agrupa sem divergência com um espécime também identificado como *H. spinella* obtido da localidade tipo para a espécie (Caribe), acreditamos que esse material identificado como *H. spinella* da Ásia é possivelmente uma nova espécie.

A espécie *Hypnea* sp. 2 forma um agrupamento monofilético dentro de *Spinuligerae*. *Hypnea cervicornis* forma um agrupamento monofilético distinto de *H.*

spinella, evidenciando que se tratam de duas espécies diferentes e não proximamente relacionadas. *Hypnea cervicornis* forma um grupo irmão do clado formado por *H. asiatica* e *H. nidifica*. Ainda na seção *Spinuligerae*, a espécie ainda não identificada *Hypnea* sp. 3 forma um grupo monofilético com uma sequência de *H. volubilis* norte americana (Oceano Pacífico) e que é irmão de outro clado que agrupa *H. yamadae* e *H. rosea*. *Hypnea* sp. 3, porém, diverge quanto aspectos da morfologia em comparação com a descrição original de *H. volubilis* (discutida mais adiante). Além disso, a localidade tipo de *H. volubilis* é o estado norte americano da Carolina do Norte (Oceano Atlântico) e a única sequência disponível para essa espécie no banco de dados é proveniente do Oceano Pacífico.

O segundo agrupamento é formado por espécies que podem ser incluídas na seção *Virgatae* (J. Agardh 1852) pelo hábito do talo. A seção *Virgatae* possui suporte nas três análises. A espécie *Hypnea* cf. *flexicaulis* forma um agrupamento monofilético com as sequências asiáticas de *H. flexicaulis* e *H. boergesenii* e com uma sequência de *H. tenuis* da África do Sul. A localidade tipo de *H. flexicaulis* é o Japão e a divergência para o *rbcl* entre os espécimes de *Hypnea* cf. *flexicaulis* brasileiros e o espécime japonês é de apenas 0,6%, já a divergência para o marcador *cox1* é de 3,1%, um valor relativamente elevado. Os espécimes brasileiros apresentam diferenças morfológicas significativas com a descrição original de *H. flexicaulis* (discutidos mais adiante), além de a questão taxonômica entre *H. flexicaulis* e *H. boergesenii* não estar plenamente esclarecida. Por esses motivos, os exemplares brasileiros estão entre aspas, indicando a possibilidade de pertencerem a uma espécie distinta.

O espécime brasileiro de Parati aparece como um grupo irmão dos espécimes asiáticos e o espécime brasileiro da Ilha das Cabras forma um grupo irmão desse segundo grupo. O interessante aqui é a presença das espécies identificadas como *H. boergesenii* e *H. tenuis* indicando que esses espécimes possivelmente seriam *H. flexicaulis*. Se este for o caso, o nome *H. flexicaulis* não seria válido, uma vez que *H. boergesenii* foi descrita por Tanaka em 1941. Não existem muitas sequências no banco de dados para essas duas espécies, o que dificulta saber se foi apenas uma identificação errônea ou se, de fato, *H. flexicaulis* é uma variação morfológica de *H. boergesenii*.

As demais espécies de *Virgatae* formam um grande agrupamento monofilético irmão de *H. flexicaulis* e com suporte nas três análises. Esse agrupamento, por sua vez, é subdividido em dois outros. Um subgrupo é formado pelo complexo de espécies *H. cornuta* e *H. stellulifera*, esta última anteriormente considerada uma variedade de *H. cornuta*. Yamagishi *et al.* (2003) comprovaram a independência da variedade *stellulifera* elevando-a à categoria de espécie, o que é evidente na topologia apresentada. A localidade tipo da espécie *H. stellulifera* é as Filipinas, onde as amostras dessa região agrupam-se com as amostras da Malásia. O interessante é que, com base na morfologia, os espécimes brasileiros inicialmente foram identificados como *H. cornuta*, entretanto a biologia molecular mostrou serem mais proximamente relacionados com *Hypnea stellulifera*.

Os espécimes brasileiros de *Hypnea cf. stellulifera* repetem o mesmo cenário encontrado nos espécimes brasileiros de *Hypnea cf. flexicaulis*, onde as sequências brasileiras separam-se das sequências asiáticas, apesar de formarem um grupo monofilético de alto suporte em todas as análises. A divergência encontrada entre os espécimes brasileiros e os espécimes das Filipinas de *H. stellulifera* é de apenas 0,5% para o *rbcl*, enquanto que a divergências com os espécimes de *H. cornuta* do Genbank é de significativos 2,9%. Entretanto, devido à alta divergência encontrada no marcador *cox1* entre o material do Brasil e da Ásia (5,9 a 6,1%), consideramos que os espécimes brasileiros possivelmente são uma espécie distinta de *H. stellulifera*, por esse motivo, os exemplares brasileiros são descritos como *Hypnea cf. stellulifera*.

O segundo subgrupo dentro da seção *Virgatae* é formado pelas espécies *H. chordacea* Kützinger, *H. flageliformis* Greville ex J.Agardh e pelo complexo *H. musciformis*. As amostras brasileiras identificadas como *H. musciformis* formam um grupo monofilético com alto suporte em todas as análises. As amostras de *H. musciformis* de outros países, incluindo da localidade tipo, Trieste, na Itália, formam outro grupo monofilético também com alto suporte em todas as análises. Esses dois grupos são grupos irmãos, e por sua vez também formam um grupo monofilético em todas as análises. A divergência dos espécimes brasileiros e dos espécimes italianos é de 2,3% para o marcador *rbcl* (Tabela 20), sendo que a divergência intraespecífica máxima encontrada para esse marcador foi de 0,7%, comprovando que as amostras brasileiras são, de fato, representantes de uma espécie distinta de *H. musciformis*.

Figura 19. Árvore da análise bayesiana (MB) para as sequências de *rbcL* mostrando as relações filogenéticas das espécies de *Hypnea* e a subdivisão do gênero nas três seções propostas por J.

Agardh (1852). Nos ramos estão plotados os valores de bootstrap para análise de Neighbor-Joining (NJ) e Máxima Parcimônia (MP) - NJ/MP. As probabilidades *a posteriori* (pp) estão representadas na espessura dos ramos, segundo a legenda na figura. As sequências em negrito foram geradas nesse trabalho. As sequências utilizadas do trabalho de Guimarães (2011) estão destacadas por um círculo vermelho. As sequências retiradas do GenBank estão precedidas do nº de acesso e seguidas do local de coleta.

Por fim, o terceiro agrupamento monofilético é formado por espécies asiáticas dentro da seção *Pulvinatae* que não possuem ocorrência no Atlântico. Esta seção é subdividida em dois em dois grupos irmãos, um formado por *H. japonica* e *H. nidulans* e o outro formado por *H. caespitosa*, *H. pannosa* e *H. viridis*.

A tabela 21 fornece um resumo das divergências intraespecíficas e interespecíficas encontradas para as amostras brasileiras do gênero *Hypnea* para os três marcadores estudados. O marcador *cox1* se mostrou o mais variável e eficiente na separação das espécies, com até 18,2% de divergência interespecífica. Os marcadores UPA e *rbcl*, apesar de possuírem tamanhos distintos, possuem taxa de divergência interespecífica próximas, com até 6,9% e 6,8%, respectivamente.

Tabela 21. Divergências interespecíficas e intraespecíficas para os marcadores *cox1*, UPA e *rbcl* entre as amostras do gênero *Hypnea* sequenciadas para este estudo.

Marcador	Intraespecífica	Interespecífica
UPA	0 – 3 pb	7 – 28 pb
	(0 – 0,8%)	(1,8 - 6,9 %)
<i>cox1</i>	0 – 14 pb	69 – 130 pb
	(0 – 1,7%)	(9,8 – 18,2%)
<i>rbcl</i>	0 – 11 pb	48 – 92 pb
	(0 – 0,7%)	(3,6 – 6,8%)

9.7. Morfologia e Chave de identificação das espécies encontradas

Chave de identificação de espécies do gênero *Hypnea* para a costa brasileira:

- 1a. Planta formando tufos densamente intrincados.....2
- 1b. Planta formando tufos com eixos não intrincados.....7
- 2a. Talo com até 1 cm de altura, talo com porções achatadas, tetrasporângios podendo estar localizados no ápice dos ramos.....*Hypnea* sp. 4
- 2b. Talo com mais de 1 cm de altura, talo cilíndrico, tetrasporângios localizados nas porções medianas e/ou basais do talo.....3
- 3a. Anastomoses abundantes, discos de fixação secundários raros ou ausentes.....4
- 3b. Anastomoses raras ou ausentes, discos de fixação secundários abundantes.....5
- 4a. Anastomoses presentes em toda extensão do talo.....*H. spinella*
- 4b. Anastomoses presentes nas porções basais do talo, ápices livres.....*Hypnea* sp.2
- 5a. Ápices bifurcados, ramificação em forma de galhada de cervo, râmulos espinescentes abundantes.....*H. cervicornis*
- 5b. Ápices simples, ramificação de forma diferente, râmulos espinescentes esparsos.....6
- 6a. Ramificações secundárias raras*Hypnea* sp. 3
- 6b. Ramificações secundárias presentes e abundantes.....*Hypnea* sp.1
- 7a. Parede celular espessa, râmulos estrelados presentes.....*Hypnea* cf. *stellulifera*
- 7b. Parede celular fina, râmulos estrelados ausentes.....8
- 8a. Ápices retos e/ou recurvados, ramos espinescentes de base alargada e ápice fino, célula axial menor do que as periaxiais.....*Hypnea* cf. *flexicaulis*
- 8b. Ápice em forma de gavinhas, reto e/ou recurvados, ramos espinescentes de base e ápice com mesmo diâmetro, célula axial maior ou igual às células periaxiais.....*Hypnea* cf. *musciiformis*

Corroborados pelos marcadores moleculares, foram encontrados nove agrupamentos representando nove entidades taxonômicas dentro do gênero *Hypnea* coletados na costa brasileira. Amostras representantes de cada agrupamento foram selecionadas para a análise morfológica de acordo com os critérios listados na Tabela 4. A seleção foi feita com base nos indivíduos melhor preservados ou que estivessem férteis, e que refletissem a distribuição geográfica da espécie, com pelo menos uma amostra de cada estado. A Tabela 22 fornece uma lista das amostras que tiveram a morfologia analisada para cada espécie e a Tabela 23 resume os dados morfológicos observados.

Tabela 22. Listagem das amostras brasileiras utilizadas nas análises morfológicas.

Espécie	Amostras analisadas	Total
<i>H. cervicornis</i>	IBC0253, IBC0707, IBC0711, IBC0718, IBC0744, IBC0749, IBC0794, IBC0796, IBC0814, IBC0826, IBC0839, IBC0857, IBC0860, IBC0882, IBC0889, IBC0892, IBC0900, IBC0920.	18
<i>Hypnea</i> cf. <i>flexicaulis</i>	IBC0701, IBC0703, IBC0730, IBC0733, IBC0801, IBC0803, IBC0811, IBC0833, IBC0834, IBC0956, IBC0968, IBC0970.	12
<i>Hypnea</i> cf. <i>musciiformis</i>	IBC0709, IBC0713, IBC0716, IBC0729, IBC0748, IBC0751, IBC0768, IBC0778, IBC0786, IBC0795, IBC0805, IBC0830, IBC0835, IBC0840, IBC0847, IBC0848, IBC0863, IBC0865, IBC0869, IBC0877, IBC0878, IBC0883, IBC0890, IBC0895, IBC0898, IBC0899, IBC0901, IBC0937, IBC0938, IBC0940, IBC0944, IBC0945.	32
<i>H. spinella</i>	IBC0708, IBC0728, IBC0789, IBC0832, IBC0837, IBC0844, IBC0852, IBC0854, IBC0909, IBC0927.	10
<i>H.cf. stellulifera</i>	IBC0931, IBC0933, IBC0939.	3
<i>Hypnea</i> sp. 1	IBC0777, IBC0779, IBC0851 e IBC0910.	4
<i>Hypnea</i> sp. 2	IBC0746, IBC0842, IBC0906.	3
<i>Hypnea</i> sp. 3	IBC0791, IBC0823, IBC0828, IBC0829, IBC0928.	5
<i>Hypnea</i> sp. 4	IBC0824, IBC0825.	2

9.8. *Hypnea cervicornis* J. Agardh (1851: 451-452)

Origem do epíteto: Latim: *cervi*- cervo + *cornis*- galho, chifre = em forma de galhada de cervo (Stearn 2000).

Lectótipo: Museu Botânico, Lund, Suécia (LD 33878, Herb. Agardh), (Prud'Homme & Haroun 1993: 122).

Localidade tipo: Bahia, Brasil (Prud'Homme & Haroun 1993: 122), localidades síntipas: Brasil, Índias Ocidentais, México e Ilhas Maurícios (J. Agardh 1851).

Fig. 20 A-J

Planta epilítica ou epífita formando tufos de coloração amarelo-amarronzado ou vermelho-róseo. Talo cilíndrico de consistência membranosa, fixo ao substrato por ramos rizoidais portando discos de fixação, do qual partem múltiplos eixos principais de 2-10 cm de altura e 430-750 µm de diâmetro. Discos de fixação secundários presente nas porções basais do talo. Ramificação variando de irregular a dicotômica ou subdicotômica com aspecto de chifres ou galhada de cervo. Ramificações com até 4 ordens de ramos inseridos no talo em ângulo agudo ou reto. Anastomoses raras ou ausentes. Ramos primários com 1,5-3,5 cm de comprimento e 400-600 µm de diâmetro. Ramificações de ordens superiores decrescem em tamanho, com ramos secundários variando de 0,6-1,5 cm de comprimento e 250-375 µm de diâmetro a quartenários com até 0,5 cm de comprimento e 120 µm de diâmetro. Ramos terminando em ápices retos, sem gavinhas. Râmulos espinescentes abundantes, inseridos em diversos planos, com até 750 µm de comprimento e 250 µm de diâmetro. Ramos laterais e râmulos espinescentes, frequentemente bifurcados com dicotomias de tamanho desigual, às vezes, portanto ramificações jovens abaixo das dicotomias. Em corte transversal, camada do córtex formada por apenas uma fileira de células pequenas, pigmentadas, arredondadas a alongadas com 10-15 µm de comprimento e 10-15 µm de diâmetro. Medula formada por uma ou duas camadas de células incolores, arredondadas a ovaladas, com 27,5-80 µm de comprimento e 32,5-100 µm de diâmetro. Célula axial pequena, arredondada, com 37,5-57,5 µm de comprimento e 25-52,5 µm de diâmetro. Células periaxiais grandes, arredondadas a elípticas, variando

em número de 5 a 6, com 90-212,5 µm de comprimento e 62,5-200 µm de diâmetro. Espessamentos lenticulares presentes. Ramos tetrasporangiais distribuídos ao longo do talo, principalmente no seu terço superior, com 400-900 µm de comprimento e 250-400 µm de diâmetro. Soros tetrasporangiais circundando completamente a base dos ramos. Tetrasporângios zonados, com 27,5-32,5 µm de comprimento e 15-20 µm de diâmetro. Gametófitos masculinos e femininos não foram observados.

Material examinado: BRASIL. CEARÁ. Praia de Canoa Quebrada, Aracati, 06. VI. 2012, F. Nauer (SPF57567). Praia Ronco do Mar, Paracuru, 01. VI. 2012, F. Nauer (SPF57550). **PARAÍBA.** Praia de Carapibus, Conde, 19.VII.2012, F. Nauer & C. A. Azevedo (SPF57572). Praia de Coqueirinhos, Conde, 19.VII.2012, F. Nauer & C. A. Azevedo (SPF57575). Praia de Tambaba, Conde, 19.VII.2012, F. Nauer & C. A. Azevedo (SPF57583). **BAHIA.** Praia de Mutá, Porto Seguro, 14. IX. 2012, F. Nauer & C. A. Azevedo (SPF57599). **ESPÍRITO SANTO.** Praia do Aghá, Piúma, 06. V. 2012, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57529). Enseada Azul, Meaípe, 09. V. 2012, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57547). **RIO DE JANEIRO.** Praia do Forno, Arraial do Cabo, 28. IX. 2011, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57422). Praia do Forno, Armação dos Búzios, 25. IX. 2011, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57425). Praia da Ferradura, Armação dos Búzios, 25. IX. 2011, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57432). Ilha Grande, Angra dos Reis, 18. IV. 2012, F. Nauer (SPF57517). **SÃO PAULO.** Ilha da Queimada Grande, Itanhaém, 02. V. 2011, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57411). Praia Branca, Guarujá, 11. IX. 2011, F. Nauer, C. Iha & A. Medeiros (SPF57452). Praia do Éden, Guarujá, 12. IX. 2011, F. Nauer, C. Iha & A. Medeiros (SPF57457). **SANTA CATARINA.** Ilha do Arvoredo, Bombinhas, 25. II. 2012, F. Nauer, C. A. Azevedo & B. Torrano-Silva (SPF57491). Praia de Sambaqui, Florianópolis, 26. II. 2012, F. Nauer, C. A. Azevedo & B. Torrano-Silva (SPF57493). Praia da Sepultura, Bombinhas, 28. II. 2012, F. Nauer, C. A. Azevedo & B. Torrano-Silva (SPF57511).

Comentários: *Hypnea cervicornis* pode ser encontrada praticamente em toda costa brasileira, habitando a região entremáres e o infralitoral até uma profundidade de 11 metros. A espécie pode ser epífita ou epilítica e, neste caso, é comumente encontrada

formando tapetes, misturada com outras algas vermelhas, principalmente com algas calcárias articuladas dos gêneros *Jania* J. V. Lamouroux e *Amphiroa* J. V. Lamouroux. Foram observadas principalmente duas variações morfológicas na costa brasileira entre espécimes coletados nas regiões sudeste e sul do país e espécimes coletados na região nordeste. Os espécimes encontrados nas regiões sudeste e sul apresentaram menor tamanho, até 5 cm de comprimento e 600 µm de diâmetro, e râmulos bifurcados menos frequentes. Por outro lado, os espécimes da região nordeste apresentaram talos maiores, variando de 5 a 10 cm de comprimento e com até 750 µm de diâmetro. Nesses espécimes, os râmulos bifurcados foram mais frequentes do que o observado na variação morfológica das regiões sudeste e sul do país. Jesus (2012) reporta exemplares nordestinos com até 24 cm de altura e 1.036 µm de diâmetro do talo.

Morfológicamente, a espécie pode ser confundida com outras espécies que formam tufo densamente intrincados, como *H. spinella*, *Hypnea* sp.1, *Hypnea* sp.2, *Hypnea* sp. 3 e *Hypnea* sp. 4. A principal característica diagnóstica da espécie é o padrão cervicórneo de ramificação, aliado aos ápices bifurcados dos ramos laterais e râmulos. Schenkman (1986) relata a dificuldade na separação de *H. cervicornis* e *H. spinella* quanto à morfologia, mas as mantém como espécies distintas. Devido à confusão entre essas duas espécies morfológicamente relacionadas, Haroun & Prud'Homme van Reine (1993), com base no estudo dos materiais-tipo das duas espécies, questionaram a independência específica de *H. cervicornis* e a reduziram a um sinônimo de *H. spinella*, considerando-a uma variação morfológica desta última, que habitava locais com menor impacto de ondas. Lucio (2006), também com base na análise morfológica dos espécimes-tipo das duas espécies, defendeu a sinonimização proposta por Haroun & Prud'Homme van Reine (1993).

Guimarães (2006), com base na análise de materiais do Espírito Santo, defendeu a separação das duas espécies, argumentando que *H. cervicornis* formava emaranhados com eixos livres, enquanto que *H. spinella* possuía eixos densamente intrincados devido à presença de anastomoses entre os ramos. Segundo Guimarães (2006), *H. cervicornis* e *H. spinella* são perfeitamente reconhecíveis, uma vez que não há um contínuo de variação morfológica entre as duas espécies. Jesus (2012) corroborou os resultados de Guimarães (2006) com base na análise morfológica dos

espécimes da Bahia. Guimarães (2011), porém, foi o primeiro trabalho a provar a independência das duas espécies baseado em dados moleculares, a partir de espécimes coletados em São Paulo. Esse resultado foi corroborado no presente estudo com base em um maior número de amostras do litoral brasileiro, incluindo comparação com sequências das localidades-tipo de *H. cervicornis* (Bahia, Brasil) e *H. spinella* (Caribe).

Hypnea cervicornis e *H. spinella* formaram clados distintos com os três marcadores estudados e, molecularmente, a divergência entre espécimes de *H. spinella* e espécimes da localidade tipo de *H. cervicornis* (Bahia) pode chegar a 11,9% com base no marcador *cox1*. Morfologicamente, as duas espécies são distintas quanto ao hábito, onde *H. cervicornis* forma tufos intrincados na região basal e apresenta seus ápices livres. Já *H. spinella* apresenta tufos densamente intrincados, formando um emaranhado com aspecto de almofada, como descrito por Guimarães (2006). Isso se deve ao fato de as anastomoses e discos de fixação secundários serem mais abundantes na região basal de *H. cervicornis*, enquanto que em *H. spinella* anastomoses são mais abundantes e estão presentes ao longo de todo o talo da alga.

Figura 20: *Hypnea cervicornis*. A. Exemplar na natureza, note o emaranhado de ramos. B. Variação morfológica da região nordeste. C. Exemplar tetrasporofítico. D. Morfotipo da região sudeste e sul. E. Detalhe do ápice reto. F. Detalhe dos râmulos mostrando ápices bifurcados (setas vermelhas). G. Porção do talo com ramos portando tetrasporângios (setas azuis). Note râmulos bifurcados. H. Corte transversal do talo. I. Detalhe da região medular com célula axial (a) e periaxiais (p). J. Corte transversal de um ramo portando tetrasporângios.

9.9. *Hypnea* cf. *flexicaulis* Y. Yamagishi & M. Masuda (1997: 135-162)

Fig. 21 A-J

Planta epilítica de coloração amarela-amarronzada a vermelho-rosado, de consistência cartilaginosa rígida. Talo ereto, cilíndrico, fixo ao substrato por estolão, ramos rizoidais entrelaçados e discos de fixação primários. Talo formando emaranhados na sua porção basal dando aparência de tufos. Múltiplos eixos centrais partem da base do tufo com até 7 cm em altura e 1.750 µm de diâmetro. Anastomoses ausentes. Padrão de ramificação irregular na base e alterno-espiralado nas porções terminais. Ramificações abundantes, com até 2 ordens de ramos, inseridos em ângulo agudo ou reto. Ramos primários podendo chegar até 4 cm de comprimento e 750 µm de diâmetro. Ramos secundários com até 2 cm de comprimento e 500 µm de diâmetro. Ápices retos ou recurvados, gavinhas ausentes. Râmulos espinescentes presentes, pequenos, direcionados para cima e dispostos espiraladamente, mais frequentes nos ramos laterais e porções terminais dos ramos; pouco frequentes e mais esparsos nas porções medianas e basais. Em corte transversal, córtex formado por uma camada de células pequenas, pigmentadas, arredondadas a alongadas, com 7,5-12,5 µm de comprimento e 7,5-10 µm de diâmetro. Medula formada por duas camadas de células incolores, arredondadas a ovaladas, com 22,5-137,5 µm de comprimento e 32,5-112,5 µm de diâmetro. Célula axial pequena, de formato arredondado, variando de 30-87,5 µm de comprimento e 37,5-62,5 µm de diâmetro. Células periaxiais muito maiores que a axial, variando em número de 4-6, com 150-237,5 µm de comprimento e 125-237,5 µm de diâmetro. Espessamentos lenticulares presentes. Ramos tetrasporangiais distribuídos ao longo do talo, principalmente no seu terço superior, variando de tamanho, podendo chegar até 950 µm de comprimento e 350 µm de diâmetro. Soros tetrasporangiais circundando completamente a base dos ramos ou parcialmente a porção mediana dos ramos. Tetrasporângios zonados, com 45-50 µm de comprimento e 15-25 µm de diâmetro. Gametófitos masculino e feminino não foram encontrados.

Material examinado: BRASIL. RIO GRANDE DO NORTE. Praia de Rio do Fogo, Rio do Fogo, 12.I.2013, C. A. Azevedo (SPF57641). PERNAMBUCO. Praia do Toquinho, Ipojuca,

14.III.2013, N. S. Yokoya (SPF57643). **ALAGOAS**. Praia do Francês, Marechal Deodoro, 10.III.2013 (SPF57631). **ESPÍRITO SANTO**. Praia de Parati, Anchieta, 05.V.2012, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57524, SPF57525). **RIO DE JANEIRO**. Prainhas do Atalaia, Arraial do Cabo, 28. IX. 2011, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57416). Praia do Farol, Ilha do Farol, 28.IX.2011, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57418). Praia de João Fernandes, Armação dos Búzios, 27. IX. 2011, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57440). **SÃO PAULO**. Ilha das Cabras, Ubatuba, 05.IX.2011. A. Medeiros, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57443). **SANTA CATARINA**. Praia de Palmas, Governador Celso Ramos, 27.II.2012., F. Nauer, C. A. Azevedo & B. Torrano-Silva (SPF57500); Ponta das Canas, Florianópolis, 26.II.2012, F. Nauer, C. A. Azevedo & B. Torrano-Silva (SPF57498); Praia de Taquáras, Balneário Camburiú. 28.II.2012, F. Nauer, C. A. Azevedo & B. Torrano-Silva (SPF57508).

Comentários: *Hypnea flexicaulis* foi descrita por Yamagishi & Masuda (2000) com base em estudos moleculares do complexo *Hypnea charoides-valentiae* do Japão. Os autores relataram que, embora morfologicamente os espécimes coletados fossem semelhantes à *H. cervicornis*, eles foram resolvidos como um táxon independente com base no marcador *rbcl* e, assim, determinaram uma nova espécie. Em sua descrição original, *H. flexicaulis* é reconhecida por possuir eixos principais percurrentes não conspicuos crescendo flexuosamente, ângulo de ramificação agudo (maiores que 150°), presença de ramos e râmulos com acentuada curvatura abaxial, chegando alguns râmulos a formar ganchos, e presença de ramos em forma de chifre. Entretanto, no material brasileiro, há vários eixos principais que são evidentes, o talo não é flexuoso, a ramificação é em ângulo agudo, não passando de 90°, os ápices de podem ser ligeiramente recurvados, mas não formam ganchos e nem ramificação em forma de chifre.

No Brasil, a espécie foi citada pela primeira vez por Guimarães (2011) com base em análises moleculares de apenas uma amostra de Parati, Rio de Janeiro. A sequência do marcador *rbcl* do espécime brasileiro possuía alta identidade (99%) com três espécies asiáticas de *Hypnea*: *Hypnea boergesenii*, *Hypnea flexicaulis* e *Hypnea japonica*. A determinação da espécie como *H. flexicaulis* foi feita com base na morfologia. De fato, os espécimes brasileiros de *Hypnea* cf. *flexicaulis* são

morfologicamente distintos de *H. japonica*. Espécimes brasileiros pertencem a Seção *Virgatae*, enquanto que *H. japonica* pertence a Seção *Pulvinatae* (Figura 19). Chiang (1997) descreve *H. japonica* como morfologicamente semelhante a *H. musciformis*, devido a presença de ganchos e gavinhas que a alga utiliza-se para epifitar outras algas e organismos. Já Yamagishi & Masuda (1997) apontam que *H. japonica* apresenta muitas camadas de diminutas células medulares e são distribuídas de forma descentralizada.

Geraldino *et al.* (2006) realizaram um denso estudo molecular com a espécie *H. flexicaulis*. Nesse estudo eles apontam *H. boergesenii* como táxon irmão de *H. flexicaulis* e afirmam que estudos taxonômicos entre essas duas espécies deveriam ser realizados para melhor entendimento dessas espécies. Na filogenia apresentada em Geraldino *et al.* (2009), *H. flexicaulis* e *H. boergesenii* aparecem novamente intimamente relacionadas, porém os autores não fazem nenhuma menção quanto a divergência entre as sequências ou qualquer comentário sobre o fato. Segundo Tanaka (1941) e Chiang (1997), *H. boergesenii* pode ser descrita como formando tufos eretos, não intrincados. Múltiplos eixos principais com râmulos em formato de curtos espinhos abundantes da região mediana aos ápices do talo, mas raros em direção as porções basais. Tanaka (1941) descreve que os eixos principais partem de pequenos estolões, porém Chiang (1997) aponta que a porção basal é prostrada, formando ramos rizoidais entrelaçados, mas não necessariamente estolões. Morfologicamente os espécimes brasileiros se aproximam mais das descrições de *H. boergesenii* do que de *H. flexicaulis*.

Com relação aos dados moleculares, as sequências brasileiras de *Hypnea* cf. *flexicaulis* divergem da sequência da localidade-tipo de *H. flexicaulis* (Japão) em 0,6% para o marcador *rbcl*. Para o marcador *cox1*, a divergência é de 2,8 a 3,1% entre as sequências brasileiras e as da Coreia. A localidade tipo de *H. boergesenii* é Taiwan, representada pela sequência de *rbcl* AF385634. Com base nesse marcador, a divergência entre essa sequência e as de *Hypnea* cf. *flexicaulis* do Brasil é de 1,2 a 1,5%, e a divergência dessa sequência de *H. boergesenii* das sequências asiáticas de *H. flexicaulis* é de 0,6 a 0,9%. Com base no marcador *cox1*, a divergência entre a sequência de *H. boergesenii* (EU345983) e as sequências de *Hypnea* cf. *flexicaulis* é também de 2,8 a 3,1%, e a divergência da sequência de *H. boergesenii* e das

sequências asiáticas de *H. flexicaulis* é de apenas 0,5 a 0,7%. Se *H. boergesenii* e *H. flexicaulis* constituírem a mesma espécie, o nome *H. flexicaulis* será reduzido a um sinônimo de *H. boergesenii* que possui prioridade por ser mais antigo, de acordo com as normas de nomenclatura botânica. Extensos estudos taxonômicos, porém, devem ser realizados a fim de verificar se este é o cenário correto, como apontado por Geraldino *et al.* (2006).

No Brasil, os espécimes de *Hypnea* cf. *flexicaulis* são muito semelhantes a variação morfológica epilítica de *Hypnea* cf. *musciformis* e a distinção das duas espécies pode ser bastante confusa. Porém, em *Hypnea* cf. *flexicaulis* gavinhas são raras ou ausentes, o talo possui consistência mais rígida, as ramificações de última ordem são usualmente em ângulo reto e os râmulos espinescentes possuem formato de pequenos e curtos espinhos voltados para cima, enquanto que em *Hypnea* cf. *musciformis* gavinhas podem ser abundantes, o talo é mais flexível, cartilaginoso, e os râmulos espinescentes são mais longos e finos. As medidas encontradas nos espécimes estudados correspondem às aquelas encontradas por Guimarães (2011).

A morfologia dos espécimes brasileiros de *Hypnea* cf. *flexicaulis* também coincide, em parte, com descrições brasileiras de *H. valentiae*. Jesus (2012), por exemplo, descreve *H. valentiae* como fixa ao substrato por ramos rizoidais entrelaçados e râmulos espinescentes dispostos espiraladamente, sempre direcionados para cima, características observadas em *Hypnea* cf. *flexicaulis*. Isso indica que *Hypnea* cf. *flexicaulis* pode ter sido confundida com outras espécies do gênero ao longo dos anos, o que explicaria o fato de uma espécie de ampla distribuição na costa brasileira não ter aparecido em estudos e levantamentos florísticos prévios.

Guimarães (2011) levantou a hipótese da espécie ser introduzida no país. Porém, no presente trabalho, *Hypnea* cf. *flexicaulis* foi encontrada em sete estados, podendo então estar presente em todo o litoral brasileiro. Wolf *et al.* (2011) relataram a ocorrência de *H. flexicaulis* no Mar Mediterrâneo, o que só foi possível com o uso dos marcadores moleculares *rbcl* e *cox1*. Morfologicamente, a descrição Wolf *et al.* (2011) assemelha-se mais as descrições de *H. boergesenii* e os espécimes brasileiros assemelham-se aos encontrados no Mar Mediterrâneo quanto à aparência e disposição dos râmulos espinescentes e ramificação do talo.

Figura 21: “*Hypnea flexicaulis*”. A. Exemplar na natureza de coloração marrom. B. Exemplar na natureza de coloração enegrecida. C. Exemplar tetrasporofítico. D. Exemplar não fértil. E. Região basal com numerosos discos de fixação (setas vermelhas). F. Porção do talo com ramos portando tetrasporângios (setas azuis). G. Corte transversal do talo. H. Região medular com célula axial (a) e células periaxiais (p). I. Corte transversal de um ramo portando tetrasporângios. J. Detalhe de um espessamento lenticular.

9.10. *Hypnea* cf. *musciformis* (Wulfen) J.V.Lamouroux (1813: 21-47, 115-139, 267-293)

Figs 23 A-H, 24 A-H e 25 A-M

Plantas epilíticas, epífitas ou epizóicas formando tufos de até 16 cm de altura, de coloração vermelho-enegrecida, vermelho-vinácea, amarronzada, verde ou negro-esverdeada. Talos eretos, cilíndricos de textura cartilaginosa, fixos ao substrato por apressório discóide, ramos rizoidais ou estolão ou ainda fixos secundariamente por apressórios menores formados nas regiões superiores do talo ou gavinhas no ápice de ramos e râmulos. Ramificação irregular em vários planos em ângulo agudo ou reto com até 3 ordens de ramos. Râmulos espinescentes numerosos, dispostos irregularmente sobre todo o talo com 225-1200 µm de comprimento. Anastomoses ausentes. Presença de pelos hialinos por toda a superfície do talo visível sob microscópio estereoscópico. Aspecto geral do talo altamente variável, dependendo do hábitat. Talos epífitos do mesolitoral inferior fixos à planta hospedeira por meio de gavinhas ou por discos de fixação e estolão, com 2,5-16 cm de altura e 600-1750 µm de diâmetro. Talos crescendo em emaranhados, com ramos enroscados uns aos outros por meio de gavinhas de uma mesma planta ou de plantas diferentes da mesma espécie. Diâmetro do talo praticamente uniforme por todo seu comprimento. Do eixo principal partem inúmeras ramificações com 1,5-9 cm de comprimento e 300-800 µm de diâmetro. Em alguns casos o diâmetro das ramificações primárias pode ser próximo ao do eixo principal, porém nunca igual. Gavinhas abundantes nas terminações de ramos e râmulos, que podem também apresentar ápices retos ou recurvados. Talos epilíticos do mesolitoral superior formando tufos aderidos ao substrato por discos de fixação e ramos rizoidais, de onde partem inúmeros eixos eretos, com 1-11 cm comprimento e 500-1700 µm de diâmetro. Geralmente todos os eixos principais atingem o mesmo comprimento ou comprimento próximo, com eixos mais longos inseridos na porção central dos tufos. A disposição e comprimento dos eixos lembram cerdas de um pincel. Ramificações comuns na porção basal, inseridas em ângulo agudo ou reto. Gavinhas raras. Terminações apicais dos ramos principais e laterais geralmente retas ou recurvadas.

Em corte transversal na região subapical, talo com uma a duas camadas de células corticais pigmentadas e duas a três camadas de células medulares incolores, que diminuem de tamanho em direção ao córtex. Células corticais pequenas, alongadas, com 7,5-12,5 μm de comprimento e 5-12,5 μm de diâmetro. Células medulares grandes, em sua maioria arredondada; célula axial oval-arredondada com 42,5-125 μm de comprimento e 37,5-137,5 μm de diâmetro, frequentemente menor ou igual às células periaxiais, ou raramente maiores. Cada célula axial origina 5 a 7 células periaxiais com contorno arredondado a ovalado, com 37,5-175 μm de comprimento e 37,5-137,5 μm de diâmetro. Células medulares normalmente com parede uniformemente espessada e com espessamentos lenticulares frequentes nas células periaxiais e nas demais células medulares. Ramos tetrasporangiais distribuídos desde a região basal até a região apical dos ramos, com 600-2000 μm de comprimento e 225-625 μm em diâmetro. Soros tetrasporangiais circundando completamente a região basal de râmulos espinescentes ou circundando parcialmente a porção mediana dos râmulos. Tetrasporângios zonados com 25-50 μm de comprimento e 15-55 μm de diâmetro. Cistocarpos globosos, reunidos em grupos ou solitários, encontrados nas porções apicais dos ramos, medindo até 150 μm de comprimento e até 187,5 μm de diâmetro. Gametófitos masculinos não foram encontrados.

Material examinado: BRASIL. CEARÁ. Praia da Lagoinha, Paraipaba, 02. VI. 2012, F. Nauer (SPF57553). Praia da Lagoinha, Paraipaba, 02. VI. 2012, F. Nauer (SPF57555). Praia de Flecheiras, Trairi, 03. VI. 2012, F. Nauer (SPF57556). Praia de Ponta Grossa, Icapuí, 05. VI. 2012, F. Nauer (SPF57562). Praia de Ponta Grossa, Icapuí, 05. VI. 2012, F. Nauer (SPF57563). Praia de Morro Branco, Beberibe, 06. VI. 2012, F. Nauer (SPF57568). **PARAÍBA.** Praia de Carapibus, Conde, 20. VII. 2012, F. Nauer & C. Azevedo (SPF57573). Praia de Tabatinga, Conde, 21. VII. 2012, F. Nauer & C. Azevedo (SPF57578). Praia de Tambaba, Conde, 23. VII. 2012, F. Nauer & C. Azevedo (SPF57581, SPF57582, SPF57584). **BAHIA.** Praia de Coroa Vermelha, Santa Cruz de Cabralia, 15. IX. 2012, F. Nauer & C. Azevedo (SPF57615, SPF57616). Ponta Grande, Porto Seguro, 16. IX. 2012, F. Nauer & C. Azevedo (SPF57618). Praia de Guaiú, Santa Cruz de Cabralia, 17. IX. 2012, F. Nauer & C. Azevedo (SPF57622). Praia de Apuã, Santa Cruz de Cabralia, 17. IX. 2012, F. Nauer & C. Azevedo (SPF57623). **ESPÍRITO SANTO.** Praia dos Castelhanos, Anchieta,

05. V. 2012, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57521). Praia de Itaoca, Itapemirim, 06. V. 2012, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57526). Ponta das Arraías, Marataízes, 07. V. 2012, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57530). Praia de Setiba, Guarapari, 08. V. 2012, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57537). Praia dos Namorados, Guarapar,. 08. V. 2012, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57538). **RIO DE JANEIRO**. Prainha, Arraial do Cabo, 29.IX.2012, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57424). Praia do Forno, Armação dos Búzios, 25.IX.2012, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57427). Praia da Ferradura, Armação dos Búzios, 25.IX.2012, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57430). Praia de João Fernandes, Armação dos Búzios, 27.IX.2012, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57439). Ponta do Costa, Saco do Mamanguá, Parati, 10.XII.2011, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57478). Praia Grande da Cajaíba, Saco do Mamanguá, Parati. 10. XII. 2011, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57485). **SÃO PAULO**. Praia do Éden, Guarujá, 12. IX. 2011, F. Nauer. C. Iha & A. Medeiros (SPF57456, SPF57459). Praia da Lagoinha, Ubatuba, 22. X. 2011, F. Nauer & F. Kino (SPF57473). **SANTA CATARINA**. Praia da Armação, Florianópolis, 26. II. 2012, F. Nauer. C. Azevedo & B. Torrano-Silva (SPF57492). Praia Ganchos de Fora, Governador Celso Ramos, 27. II. 2012, F. Nauer. C. Azevedo & B. Torrano-Silva (SPF57502).

Material adicional examinado: ITÁLIA. Trieste, Itália, F. Rindi (SPF57594, SPF57595).

Comentários: Esta espécie é a mais abundante na costa brasileira em número de indivíduos e biomassa. Encontrada na região do mesolitoral, em costões rochosos batidos e protegidos, e recifes de arenito próximos a praia. Ausente na região do infralitoral, sendo encontrada epifitando *Sargassum* C. Agardh no limite entre o meso e o infralitoral raso (no máximo a 2 m de profundidade). Não foi encontrado nenhum espécime em ilhas e lajes no infralitoral, e também não foram encontrados espécimes em recifes de arenito afastados da costa, na região nordeste do país. Embora espécimes com a morfologia típica sejam de fácil reconhecimento, a plasticidade fenotípica dessa espécie é alta, variando com o ambiente (batido ou protegido) e com a zonação. Nos costões rochosos, geralmente observa-se uma transição das variações morfológicas do mesolitoral superior em direção ao infralitoral superior, principalmente em costões rochosos batidos (Figura 22).

Na região do mesolitoral superior, é comum espécimes de *Hypnea* cf. *musciformis* formando tapetes de coloração esverdeada a marrom-amarelada, com indivíduos de pequeno tamanho (até 3 cm de altura) e entrelaçados, crescendo sobre o substrato em ambientes mais protegidos, porém podem estar também presentes em costões batidos. O talo é rígido, de pouca flexibilidade, os râmulos espinescentes são em formato de pequenos espinhos e o ápice dos ramos quase sempre é reto, com gavinhas ausentes. Do mesolitoral superior em direção à linha d'água, os espécimes encontrados apresentaram variação morfológica cujas características levaram a identificá-los previamente como *H. valentiae*. Nesse espécime, o talo apresenta um eixo principal cilíndrico com até 5 cm de altura, abundantemente ramificado, com ramificações em ângulo agudo ou reto. Râmulos espinescentes são abundantes e gavinhas estão ausentes; os ápices dos ramos são retos ou recurvados. Podem ser epilíticos ou epífitos, principalmente de algas calcárias articuladas como *Amphiroa* e *Jania* em costões protegidos. Exemplares coletados nas regiões sudeste, sul e nordeste com essas características foram identificados como *H. valentiae* por Schenkman (1986) e Jesus (2012). Através dos dados dos marcadores moleculares, esses exemplares foram agrupados dentro de *Hypnea* cf. *musciformis*. Além disso, esses espécimes não apresentam râmulos estrelados que podem estar presentes em *H. valentiae* (Schneider & Searles 1991, Mshigeni & Chapman 1994).

Outra variação morfológica é encontrada exclusivamente em costões batidos, com forte impacto de ondas, crescem epilíticamente na região entremarés, abaixo do mesolitoral superior. Espécimes coletados nessa região possuem colorações variando de vermelho-vinácea, vermelho-enegrecida, verde claro e verde escuro, o talo é mais robusto e rígido, formando tufos de múltiplos eixos principais com até 8 cm de altura, apresentando numerosos râmulos espinescentes longos e finos. Gavinhas podem estar presentes nos ápices dos ramos laterais, porém é mais comum a presença de ápices retos. Outros exemplares previamente identificados como *H. nigrescens* foram coletados no mesolitoral inferior, principalmente em locais batidos, sofrendo impacto de ondas. Essa variação morfológica caracteriza-se por ser uma forma mais robusta que a variação morfológica anterior, apresentando ramos mais longos e uniformes, podendo chegar a 9 cm de altura, formando talos que lembram cerdas de um pincel. Os râmulos espinescentes também são numerosos e mais longos, não mais lembrando

pequenos espinhos. Os ápices dos ramos podem ser retos, recurvados ou em forma de gavinhas. Formas epífitas não foram encontradas. Esses exemplares foram identificados por Schenkman (1986) e Jesus (2012) como *H. nigrescens*, porém os resultados com marcadores moleculares foram idênticos aos encontrados por Guimarães (2011), que já apontava a espécie *H. nigrescens* como uma variação morfológica de *H. musciformis* para os estado de São Paulo.

Na região do infralitoral superior, a variação morfológica encontrada é a que possui a morfologia típica, definida pela presença abundante de gavinhas, numerosos râmulos espinescentes e talo flexível, sempre epífita de outras algas, podendo formar grandes populações, sendo encontrada tanto em ambientes calmos quanto batidos. O tamanho e número de ramificações e de râmulos espinescentes variam em relação as regiões nordeste e sudeste e sul do país. Os exemplares da região nordeste apresentam quase o triplo do tamanho dos exemplares do resto do país, podendo chegar até 16 cm de altura, possuindo talo com maior número de ramificações e numerosos e longos râmulos espinescentes, sendo que um ramo espinescente pode chegar até 1,5 cm de comprimento (Jesus 2012). São facilmente encontrados epifitando espécies de diversos gêneros como *Cryptonemia*, *Gracilaria*, *Palisada*, *Sargassum* e *Ulva* (Jesus 2012). Os exemplares das regiões sudeste e sul são expressivamente menores em tamanho, podendo alcançar até 7 cm de altura, portando ramificações em menor número e râmulos espinescentes menos numerosos, em comparação aos exemplares do nordeste, porém mais abundantes do que em comparação com outras espécies do gênero. São encontrados epifitando gêneros como *Amphiroa*, *Chondracanthus* Kützinger, *Jania*, *Laurencia* J. V. Lamouroux, *Palisada* K. W. Nam, *Sargassum*, *Ulva* Linnaeus, entre outros.

As análises morfológicas do material proveniente de Trieste, Itália (Figura 26A-F), localidade tipo de *H. musciformis*, mostraram semelhanças e diferenças com o material brasileiro. Os exemplares italianos são similares ao morfotipo nordestino do infralitoral superior, epífitos de outras algas, onde o talo é longo, flexível, abundantemente ramificado e com presença de gavinhas nos ápices dos ramos. O material italiano, porém apresenta râmulos espinescentes em menor quantidade e são curtos e esparsos ao longo de todo o talo; as gavinhas também são em menor número e os ápices terminam em porções recurvadas ou são retos. Entretanto, pelas análises

morfológicas não foram encontradas características suficientes que diferenciem *H. musciformis* da localidade tipo e os espécimes descritos como *Hypnea* cf. *musciformis* para o litoral brasileiro. Entretanto, o resultado obtido com os três marcadores moleculares estudados indicam que os exemplares brasileiros de *Hypnea musciformis*, *Hypnea nigrescens* e *H. valentiae* correspondem a uma mesma espécie (Figura 17). Espécie esta que é proximamente relacionada com *H. musciformis*, mas possui expressiva divergência genética com os espécimes da localidade-tipo sequenciado neste estudo (Tabelas 19 e 20), sendo considerada, portanto, uma espécie nova para a ciência.

Figura 22: Variação morfológica de “*Hypnea musciformis*” com relação à zonização nos costões rochosos. Na região do mesolitoral superior a espécie apresenta uma morfologia em formato de tufo com pequenos ápices livres, espécimes com essa variação morfológica foram identificados como *H. valentiae*. Seguindo do mesolitoral em direção ao infralitoral, a espécie apresenta uma morfologia mais robusta, com múltiplos eixos principais que podem apresentar raras gavinhas em seus ápices. Próximo ao infralitoral, os eixos principais prolongam-se e podem lembrar cerdas de um pincel, espécimes com essa morfologia foram identificados como *H. nigrescens*. Na região do infralitoral raso foram encontrados apenas espécimes epífitos, com abundância de gavinhas nos ápices dos ramos.

Figura 23: “*Hypnea musciformis*”. Exemplares na natureza. A. Variação morfológica típica do infralitoral superior das regiões sudeste e sul, epifitando *Sargassum* sp. B. Variação morfológica do mesolitoral superior, de coloração esverdeada. C. Variação morfológica do mesolitoral médio. D. Variação morfológica do mesolitoral inferior, previamente identificada como *H. nigrescens*. E. Variação morfológica do mesolitoral previamente identificada como *H. valentiae*. F. Rocha completamente tomada por exemplares de *Hypnea* cf. *musciformis* de coloração esverdeada, com distribuição do mesolitoral superior ao infralitoral. G. Foto ilustrando a grande biomassa formada por exemplares nordestinos da variação morfológica do infralitoral superior. H. Aproximação da figura G, evidenciando os indivíduos da região nordeste.

Figura 24: “*Hypnea musciformis*”. Variação morfológica. A. Variação morfológica do infralitoral superior da região sudeste e sul. B. Exemplar do infralitoral tetrasporofítico. C. Variação morfológica do mesolitoral inferior, previamente identificado como *H. nigrescens*. D. Variação morfológica do infralitoral superior da região nordeste, epifitando *Palisada* sp. E. Variação morfológica *H. nigrescens* tetrasporofítica. F. Variação morfológica do infralitoral superior da região nordeste. G. Variação morfológica do mesolitoral superior, formando tapete. H. Variação morfológica do mesolitoral previamente identificada como *H. valentiae*.

Figura 25: “*Hypnea musciformis*”. Detalhes morfo-anatômicos. A. Detalhe de um ápice reto. B. Detalhe de um ápice recurvado. C. Detalhe de um ápice em forma de gavinha. D. Disco de fixação. E. Ramos com cistocarpos. F. Tetrasporângios na base dos ramos (setas). G. Tetrasporângios na porção mediana dos ramos (setas). H. Corte transversal do talo. I. Região medular evidenciando a célula axial (a) e as células periaxiais (p). J. Detalhe dos espessamentos lenticulares (setas). K. Corte transversal evidenciando soros tetrasporangiais circundando completamente o ramo. L. Soros tetrasporangiais circundando apenas uma parte do ramo. M. Corte transversal de um ramo portando dois cistocarpos.

Figura 26: *Hypnea musciformis*, Trieste, Itália. A. Hábito da planta. B. Detalhe de uma porção do talo. C. Porção de um ramo mostrando râmulos espinescentes esparsos. D. Detalhe de uma gavinha. E. Corte transversal do talo mostrando a célula axial (a) e as periaxiais (p). F. Detalhe de um espessamento lenticular (seta).

9.11. *Hypnea spinella* (C. Agardh) Kützting (1847: 23)

Origem do epíteto: Latim: *spinella* - espinho (Stearn 2000).

Basiônimo: *Sphaerococcus spinellus* C. Agardh (1822: 323).

Lectótipo: Museu Botânico, Lund, Suécia (LD 33888, Herb. C. Agardh), (Prud'Homme & Haroun 1993: 122).

Localidade tipo: Caribe

Fig. 27 A-I

Planta formando pequenos tufos, de coloração vermelho-escuro a vermelho-rosado. Talo de textura membranosa formado por uma porção prostrada de onde partem inúmeros eixos principais cilíndricos com até 3 cm de altura. Discos de fixação secundários presentes. Anastomoses abundantes, dando a planta aspecto de densos tufos. Eixos principais de difícil distinção devido ao alto grau de ramificações, podendo haver até 3 ordens de ramos. Ramificação alterna, com porções do talo com padrão de ramificação irregular a oposta. Ramos inseridos no talo em ângulo agudo ou reto. Porção prostrada e eixo principal com até 600 µm de diâmetro. Ramificações primárias com diâmetro de até 400 µm. Ramificações secundárias com até 280 µm. Diâmetro do talo decresce a cada ramificação, chegando a 120 µm em ramos de 3ª ordem. Râmulos espinescentes presentes, esparsos, em formato de acúleo, com até 100 µm de comprimento e 60 µm de diâmetro. Ápices retos e raramente bifurcados, gavinhas ausentes. Em corte transversal, córtex formado por até duas camadas de células pigmentadas, arredondadas a alongadas com 10- 12,5 µm de comprimento e 8,5-10 µm de diâmetro. Medula formada por apenas uma camada de células incolores, ovaladas, com 25-80 µm de comprimento e 22,5-75 µm de diâmetro. Célula axial pequena, arredondada, com 25-70 µm de comprimento e 25-62,5 µm de diâmetro. Células periaxiais variando em número de 4 - 6, com 55-150 µm de comprimento e 65-125 µm de diâmetro. Espessamentos lenticulares não observados. Ramos tetrasporangiais distribuídos nos râmulos de última, ordem com 350-600 µm de comprimento e 200-400 µm de diâmetro. Soros tetrasporangiais circundando completamente a porção mediana e o ápice dos ramos. Tetrasporângios zonados com

27,5-30 μm de comprimento e 10-15 μm de diâmetro. Gametófitos masculinos e femininos não foram observados.

Material examinado: **BRASIL. BAHIA.** Praia de Mutá, Porto Seguro, 14. IX. 2012, F. Nauer & C. A. Azevedo (SPF57605). **ESPÍRITO SANTO.** Praia dos Castelhanos, Anchieta, 05. V. 2012, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57523). Praia do Aghá, Piúma, 06. V. 2012, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57527). Praia da Cruz, Marataízes, 07. V. 2012, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57534). Enseada dos Padres, Meaípe, 09. V. 2012, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57542). Enseada Azul, Meaípe, 09. V. 2012, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57544). **RIO DE JANEIRO.** Praia do Forno, Arraial do Cabo, 28. IX. 2011, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57423). Praia de João Fernandes, Armação dos Búzios, 27. IX. 2011, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57438). **SÃO PAULO.** Praia do Pinto, Ilha Bela, 04. VII. 2012, B. R. Vieira & B. Torrano-Silva (SPF57589). **SANTA CATARINA.** Ilha do Xavier, Florianópolis, 24. II. 2012, F. Nauer, C. A. Azevedo & B. Torrano-Silva (SPF57486).

Comentários: Espécie comumente encontrada no mesolitoral de costões protegidos e em poças de maré, formando tufos densamente intrincados devido à presença abundante de anastomoses entre os ramos e discos de fixação secundários. Pode crescer entre outras algas vermelhas, como calcárias articuladas (Jesus 2012), mas espécimes epífitos não foram encontrados. A espécie também não foi encontrada no infralitoral e nos estados do nordeste acima da Bahia. Essa espécie é facilmente distinguida de *H. cervicornis* devido ao seu diminuto tamanho e presença de abundantes anastomoses entre os ramos. Pode ser confundida com *Hypnea* sp. 1, porém o hábito de *H. spinella* assemelha-se ao de uma almofada, enquanto que espécimes de *Hypnea* sp. 1 formam tapetes. As medidas encontradas são correspondentes àquelas encontradas por Guimarães (2011), mas são menores do que aquelas reportadas por Jesus (2012) para a Bahia. Não houve divergência molecular com a amostra da localidade tipo (IBC0736) da espécie.

Figura 27: *Hypnea spinella*. A. Exemplar na natureza formando tufos entre algas calcárias articuladas. B. Exemplar na natureza de coloração vermelho-enegrecida. C. Hábito da planta. D. Detalhe de um ramo. E. Detalhe de uma anastomose entre dois ramos (seta). F. Detalhe de dois discos de fixação secundários conectando dois ramos (seta). G. Porção do talo com ramos portando tetrasporângios (setas). H. Corte transversal do talo. I. Região medular com célula axial (a) e células periaxiais (p).

9.12. *Hypnea* cf. *stellulifera* (J. Agardh) Yamagishi & Masuda (2003: 534-547)

Fig. 28 A - J

Planta epilítica de coloração amarelo-amarronzada, textura cartilaginosa, fixa ao substrato por discos de fixação. Um único eixo principal presente, ereto, com até 13 cm de altura e 650 µm de diâmetro. Ramos inseridos no eixo principal em ângulo agudo ou reto, apresentando padrão alterno espiralado de ramificação. Anastomoses ausentes. Ramos primários com até 5 cm de comprimento e 320 µm de diâmetro. Ramos secundários podendo chegar até 2 cm de comprimento e 220 µm de diâmetro. Ramos terminando em ápices retos, sem gavinhas. Râmulos espinescentes abundantes, com 180-260 µm de comprimento e 210-350 µm de diâmetro. Râmulos estrelados presentes, em formato de estrelas de 3 a 6 pontas, mais frequentes nas porções terminais dos ramos. Em corte transversal, talo de parede celular bastante espessa, córtex formado por duas camadas de células pigmentadas, arredondadas a alongadas, com 10-12,5 µm de comprimento e 7,5-12,5 µm de diâmetro. Região medular com até três camadas de células incolores, arredondadas, com 17,5-150 µm de comprimento e 20-112,5 µm de diâmetro. Células medulares mais internas podem ser maiores do que células periaxiais, dificultando a identificação da célula axial. Célula axial diminuta, de formato arredondado, com 17,5-20 µm de comprimento e 20-25 µm de diâmetro. Células periaxiais variam em número de 4 a 5, de forma arredondada a elíptica, podendo ser três vezes maiores do que a célula axial, variando de 62,5-140 µm de comprimento e 37,5-100 µm de diâmetro. Espessamentos lenticulares abundantes. Ramos tetrasporangiais distribuídos por toda o talo, com 750-2375 µm de comprimento e 250-750 µm de diâmetro. Soros tetrasporangiais presentes na base ou na porção mediana dos râmulos de última ordem, incluindo râmulos espinescentes, circundando completamente os ramos e râmulos. Tetrasporângios zonados, com 47,5-50 µm de comprimento e 17,5-22,5 µm de diâmetro. Cistocarpos globosos, distribuídos por toda a planta, presentes na base dos ramos de última ordem, inclusive em râmulos espinescentes, agrupados ou isolados, com 180-260 µm de comprimento e 210-350 µm de diâmetro. Carpósporos de formato piriforme (arredondado), com 20-22,5 µm de comprimento e 25-27,5 µm de diâmetro. Gametófitos masculinos não foram observados.

Material examinado: BRASIL. BAHIA. Praia de Coroa Vermelha, Santa Cruz de Cabrália, 15.IX.2012, F. Nauer & C. A. Azevedo (SPF57609, SPF57611, SPF57617).

Comentários: Planta encontrada apenas no estado da Bahia, na praia de Coroa Vermelha, crescendo em poças de maré, parcialmente soterradas na areia, fixas a pequenas rochas enterradas. Inicialmente, todas as amostras foram identificadas como *H. cornuta*, pela coloração, presença de râmulos estrelados e por terem sido coletadas no mesmo ponto por Jesus (2012). Porém, as análises moleculares revelaram que os espécimes brasileiros eram mais próximos de *H. stellulifera* do que de *H. cornuta*. Essas duas espécies são crípticas, sendo *H. stellulifera* originalmente considerada uma variedade de *H. cornuta*, descrita como *H. cornuta* var. *stellulifera* J. Agardh, que foi elevada a espécie por Yamagishi *et al.* (2003). O ambiente onde os espécimes foram coletados coincidem com os ambientes descritos por Yamagishi *et al.* (2003), bem como as medidas do talo e caracteres reprodutivos. Porém, os exemplares brasileiros, embora mais proximamente relacionados a *H. stellulifera*, ainda apresentam divergências moleculares significativas, podendo se tratar de uma terceira espécie do complexo *Hypnea cornuta-stellulifera*.

As maiores divergências foram encontradas para o marcador *cox1*, onde as sequências dos espécimes brasileiros divergem em 5,9 a 6,1% da sequência da localidade tipo de *H. stellulifera*, Filipinas (EU345984). Com relação a sequência de *H. cornuta*, a divergência é de 6,6 a 6,7%. Para o marcador *rbcL*, as sequências brasileiras formam um clado monofilético com as sequências asiáticas de *H. stellulifera* (Figura 19) e a divergência é menor (0,5%). Porém, a alta divergência no *cox1*, um marcador mais variável do que o *rbcL*, põe em dúvida a real identidade dessa espécie.

“*Hypnea stellulifera*” pode ser facilmente distinguida das demais espécies do gênero no país pela coloração amarelada clara, pelo seu habitat, presença de râmulos em forma de estrelas de até 6 pontas e pelo talo com espessa parede celular, visível em corte transversal. A espécie se distingue de *H. cornuta*, segundo Yamagishi *et al.* (2003), pelo talo mais rígido e curto, com presença de râmulos estrelados em maior abundância e quantidade, enquanto que *H. cornuta* possui talo mais alongado e estreito, com râmulos estrelados esparsos e em menor quantidade.

Figura 28: "*Hypnea stellulifera*". A. Habitat da espécie. B. Exemplar na natureza. C. Hábito de um exemplar tetrasporofítico. D. Detalhe de um ramo com cistocarpos de um gametófito feminino. E. Detalhe em esteromicroscópico de um fragmento do talo com râmulos estrelados (setas). F. Detalhe em microscópico de um fragmento do talo com râmulos estrelados (setas). G. Detalhe de um ramo portando tetrasporângio (seta). H. Corte transversal de um ramo portando tetrasporângios. I. Corte transversal do talo mostrando célula axial (a) e periaxiais (p), note a parede celular espessa. J. Corte transversal do talo portando dois cistocarpos.

9.13. *Hypnea* sp. 1

Fig. 29 A-G

Planta epilítica de coloração amarelo-amarronzado de consistência membranosa, formando pequenos e densos tapetes no substrato, em meio a diversas outras espécies de algas marinhas. Talo cilíndrico, fixo ao substrato por ramos rizoidais e discos de fixação primários e secundários. Anastomoses presentes, porém é mais comum a presença de discos de fixação secundários que se fixam em ramos da mesma planta. Múltiplos eixos principais com até 2 cm de altura e 320-380 μm de diâmetro. Padrão irregular de ramificação, com algumas porções podendo apresentar padrão alterno-espiralado. Ramos inseridos no talo em ângulo agudo ou reto. Ramos primários abundantes, com 0,5-0,8 cm de comprimento e até 220 μm de diâmetro. Ramos secundários em pouco número, com 600-1375 μm de comprimento e diâmetro semelhante aos dos ramos primários. Ápices retos, sem ganchos ou gavinhas. Râmulos espinescentes presentes, porém esparsos, com 250-480 μm de comprimento e 100-120 μm de diâmetro. Em corte transversal, cortéx com apenas uma camada de células pigmentadas, pequenas, arredondadas, com 7,5-10 μm de comprimento e 7,5-10 μm de diâmetro. Medula com uma camada de células incolores, de formato ovalado a elíptico, com 25-67,5 μm de comprimento e 22,5-62,5 μm de diâmetro. Célula axial de tamanho menor do que as periaxiais, com 40-50 μm de comprimento e 32,5-45 μm de diâmetro. Células periaxiais visivelmente maiores que as demais células da medula, variando em número de 5 e 6, com 50-100 μm de comprimento e 55-75 μm de diâmetro. Espessamentos lenticulares presentes e abundantes. Plantas férteis não foram observadas.

Material examinado: **BRASIL. ESPÍRITO SANTO.** Praia dos Namorados, Guarapari, 08.V.2012, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57541). **RIO DE JANEIRO.** Praia do Carro, Saco do Mamanguá, Parati, 10.XII.2011, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57477). Ponta do Costa, Saco do Mamanguá, Parati, 10.XII.2011, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57479). **SÃO PAULO.** Praia do Pinto, Ilha Bela, 04.VII.2012, B.R. Vieira & B. Torrano-Silva (SPF57590).

Comentários: Táxon de ocorrência rara, encontrado apenas na região sudeste do país. Habita a região entremarés em ambientes batidos, expostos a ação das ondas, e cresce epilíticamente formando tapetes densamente intrincados, onde a distinção de indivíduos é praticamente impossível devido à presença de discos de fixação secundários e anastomoses entre os ramos. De acordo com Guimarães (2011), os espécimes também podem ser epífitos e encontrados em poças de maré. *Hypnea* sp.1 pode ser facilmente confundida com *H. cervicornis* ou *Hypnea* sp. 3 devido ao hábito do talo. Guimarães (2011) reconheceu esse táxon pela primeira vez para o Brasil através de dados moleculares, a partir de material coletado em Ubatuba, SP. Esse resultado foi corroborado neste estudo que incluiu uma maior amostragem e com base em Lucio (2006), nenhuma outra espécie descrita para o Oceano Atlântico assemelha-se morfológicamente com esta espécie, assim, acreditamos que se trata de uma espécie nova para a ciência, espécie esta que, devido a ocorrência rara e distribuição limitada na costa brasileira (ES, RJ e SP), possa ser endêmica a região sudeste do país. As características observadas para esse táxon coincidem com as descritas por Guimarães (2011).

Figura 29: *Hypnea* sp. 1. A. Exemplar na natureza. B. Hábito da planta. C. Detalhe de um ramo. D. Detalhe do ápice de um ramo. E. Ramo com dois discos de fixação secundários (setas). F. Corte transversal do talo. G. Região medular com célula axial (a) e células periaxiais (p).

9.14. *Hypnea* sp. 2

Fig. 30 A-I

Planta epilítica de coloração rósea-avermelhado, de consistência cartilaginosa, formando emaranhados de ápices livres. Talo cilíndrico, fixo ao substrato por ramos rizoidais e discos de fixação primários. Anastomoses abundantes, frequentes na base, dando o aspecto de tufo do talo; ramos nas porções distais livres. Múltiplos eixos principais presentes que se ramificam na base, com até 3 cm de altura e 480-700 μm de diâmetro. Padrão irregular de ramificação, com algumas porções podendo apresentar padrão alterno espiralado. Ramos inseridos no talo em ângulo agudo ou reto. Ramos primários abundantes, de comprimento e diâmetro visivelmente menores que o eixo principal, com 1-2,2 cm de comprimento e até 350 μm de diâmetro. Ramos secundários em pouco número, de comprimento e diâmetro semelhantes aos ramos primários. Ápices retos, sem ganchos ou gavinhas. Râmulos espinescentes presentes, e abundantes em todo o talo. Em corte transversal, cortéx com apenas uma camada de células pigmentadas, pequenas, arredondadas a alongadas, com 7-12,5 μm de comprimento e 10-12,5 μm de diâmetro. Medula com uma a duas camadas de células incolores, arredondadas a ovaladas, com 37,5-87,5 μm de comprimento e 37,5-100 μm de diâmetro. Célula axial de tamanho igual ou menor do que as células periaxiais, com 75-87,5 μm de comprimento e 50-100 μm de diâmetro. Células periaxiais visivelmente maiores que as demais células da medula, variando em número de 5 a 7, com 75-125 μm de comprimento e 65-162,5 μm de diâmetro. Espessamentos lenticulares ausentes. Ramos tetrasporangiais distribuídos por todo o talo. Soros tetrasporangiais circundando completamente a base de râmulos espinescentes. Tetrasporângios zonados com até 42,5 μm de comprimento e até 25 μm de diâmetro. Gametófitos masculinos e femininos não foram encontrados.

Material examinado: BRASIL. ESPÍRITO SANTO. Praia da Cruz, Marataízes, 07.V.2012, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57532). SÃO PAULO. Praia do Éden, Guarujá, 12.IX.2011, F. Nauer (SPF57454). Praia de Pacuíba, Ilha Bela, 03.VII.2012, B.R. Vieira & B. Torrano-Silva (SPF57587).

Comentários: Planta rara, coletada nos estados de São Paulo e Espírito Santo, habitando a região entremarés de costões batidos, expostos a ação das ondas, epilíticas, formando tufo densos devido a presença de anastomoses. Espécimes epífitos não foram encontrados. Inicialmente, essa espécie foi reconhecida através de marcadores moleculares por Guimarães (2011) com base em amostras cultivadas no laboratório do Instituto de Botânica de São Paulo. As amostras em cultura foram coletadas em 2002, na praia das Cigarras, São Sebastião, SP, crescendo em costão batido.

A espécie pode ser confundida com *H. spinella* ou *Hypnea* cf. *flexicaulis*, porém em *Hypnea* sp. 2 as anastomoses são menos abundantes e os eixos principais são livres nas porções distais do talo, os râmulos espinescentes são abundantes e em forma de pequenos espinhos, ao contrário de *H. spinella*. Além disso, o talo é relativamente menor do que em *Hypnea* cf. *flexicaulis*. Em comparação com outras espécies de *Hypnea* descritas, *H. sp. 2* assemelha-se a *H. rosea* Papenfuss quanto ao hábito emaranhado formando tapetes, a coloração rósea-avermelhado e pela forma dos ápices. Porém, as duas espécies diferem quanto a divergência do marcador *rbcl*, onde a sequência da localidade tipo de *H. rosea* (FJ694935 – África do Sul) diverge em 4,8% das sequências de *Hypnea* sp. 2.

Figura 30: *Hypnea* sp. 2. A. Hábito da planta. B. Detalhe de um ramo. C. Detalhe do ápice de um ramo. D. Ramo com disco de fixação secundário (seta). E. Ramo com tetrasporângios (seta). F. Corte transversal do talo. G. Detalhe da região cortical e região medular. H. Região medular mostrando célula axial (a) e células periaxiais (p). I. Corte transversal de um ramo portando tetrasporângios.

9.15. *Hypnea* sp. 3

Fig. 31 A - E

Planta epilítica, de coloração vermelho-rósea, de consistência membranosa, fixa ao substrato por discos de fixação primários e secundários. Eixo principal presente e distinguível, ereto, com até 3,5 cm de altura e 725 µm de diâmetro. Anastomoses ausentes. Padrão irregular de ramificação, com ramos inseridos no eixo principal em ângulo agudo ou reto. Ramos primários com até 1,5 cm de comprimento e 500 µm de diâmetro. Ramos secundários esparsos e de tamanho consideravelmente inferior aos ramos primários, podendo chegar até 0,5 cm de comprimento e 275 µm de diâmetro. Ramos terminando em ápices retos, sem gavinhas. Râmulo espinescentes esparsos, de disposição alterna a oposta, de tamanho variado, com 80-900 µm de comprimento e 70-210 µm de diâmetro. Em corte transversal, região cortical com apenas uma camada de células pigmentadas, pequenas, arredondadas, com 10-15 µm de comprimento e 10-12,5 µm de diâmetro. Região medular formada por uma ou duas camadas de células incolores, arredondadas a ovaladas, de tamanho variado, com 37,5-130 µm de comprimento e 27,5-87,5 µm de diâmetro. Célula axial menor do que as células periaxiais, de formato arredondado, com 35-52,5 µm de comprimento e 45-57,5 µm de diâmetro. Células periaxiais variam em número de 4 a 5, bastante grandes em relação à célula axial, com 75-225 µm de comprimento e 80-162,5 µm de diâmetro. Espessamentos lenticulares não observados. Plantas férteis não foram observadas.

Material examinado: **BRASIL. BAHIA.** Praia de Mutá, Porto Seguro, 14.IX.2012, F. Nauer & C. A. Azevedo (SPF57606). **RIO DE JANEIRO.** Ilha Grande, Angra dos Reis, 18.IV.2012, F. Nauer (SPF57514, SPF57519, SPF57520). **SANTA CATARINA.** Ilha do Arvoredo, Bombinhas, 25.II.2012, F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva (SPF57488).

Comentários: Planta encontrada apenas no infralitoral, em uma profundidade de até 8 metros, em ilhas e lajes. Também encontrada na região entremarés, formando tapete com outras algas vermelhas. Com base em dados moleculares, as sequências de *Hypnea* sp. 3 para o marcador *rbcL*, formam um clado monofilético com uma sequência identificada como *H. volubilis* do banco de dados (AF385636), cuja

divergência é de 0,5 a 1,3%. Morfologicamente, porém, *H. volubilis* é descrita como tendo talo achatado (Schneider & Searles 1976), enquanto que em *Hypnea* sp. 3 o talo é cilíndrico. Além disso, as medidas encontradas para os espécimes brasileiros são menores daquelas descritas por Schneider & Searles (1976). A localidade tipo de *H. volubilis* é o estado norte americano da Carolina do Norte (Oceano Atlântico), enquanto que a sequência presente no banco de dados é proveniente da cidade de Los Angeles, Califórnia (Oceano Pacífico) e no trabalho onde a sequência foi obtida (Hommersand & Fredericq 2005) não há qualquer comentário sobre o talo do espécime ou sua descrição.

Hypnea volubilis é citada para o Brasil em dois trabalhos florísticos, um levantamento das espécies de algas do infralitoral da Laje de Santos, São Paulo (Amado-Filho *et al.* 2006), que constitui a primeira citação da espécie para o Brasil (Poliana Brasileiro, com. pess.), e um levantamento da diversidade de algas do Atol das Rocas (Villaça *et al.* 2010). Não há menção dessa espécie em trabalhos monográficos de *Hypnea* no país com descrições detalhadas da espécie, nos quais pudéssemos confirmar a real ocorrência de *H. volubilis* na costa brasileira.

Com relação as demais espécies brasileiras do gênero, *Hypnea* sp. 3 é morfológicamente semelhante a variação morfológica de *H. cervicornis* das regiões sudeste e sul e à *Hypnea* sp.1, sendo difícil a distinção entre as três espécies. *Hypnea* sp. 3, porém, pode ser identificada pelo seu hábito, no qual o eixo principal é bem evidente com ramos secundários infrequentes.

Figura 31: *Hypnea* sp. 3. A. Hábito da planta. B. Detalhe de um ramo. C. Detalhe de um disco de fixação (seta). D. Corte transversal do talo. E. Detalhe da região cortical, com pequenas células pigmentadas e região medular, com grandes células incolores, evidenciando a célula axial (a) e células periaxiais (p).

9.16. *Hypnea* sp. 4

Fig. 32 A-F

Planta epilítica formando diminutos tufos intrincados, de coloração vermelho-escuro a vermelho-rosado. Talo de consistência membranosa formado por uma porção prostrada, com até 500 µm de diâmetro, fixa ao substrato por discos de fixação, de onde partem inúmeros eixos eretos com até 1,5 cm de altura. Talo cilíndrico na base e achatado em direção aos ramos terminais. Anastomoses ausentes. Discos de fixação secundários presentes e numerosos. Ramificação irregular, podendo apresentar porções com ramificação alterna. Ramos inseridos no talo em ângulo agudo ou reto. Ramos primários com até 0,8 cm de comprimento e 375 µm de diâmetro. Ramos secundários com até 300 µm de diâmetro. Râmulos espinescentes esparsos, mais abundantes nos ápices dos ramos, com até 500 µm de comprimento e 2500 µm de diâmetro. Ápices retos, gavinhas ausentes. Em corte transversal, talo com córtex formado por uma camada de células pigmentadas, alongadas, de 10-15 µm de comprimento e 10-25 µm de diâmetro. Medula formada por uma a duas camadas de células incolores, arredondadas a ovaladas, com 27,5-37,5 µm de comprimento e 27,5-82,5 µm de diâmetro. Célula axial pequena, arredondada, com até 45 µm de comprimento e 62,5 µm de diâmetro. Células periaxiais variando em número de 4 a 5, com 62,5-150 µm de comprimento e 75-97,5 µm de diâmetro. Espessamentos lenticulares não observados. Ramos tetrasporangiais distribuídos nas porções medianas do talo, com 750-1550 µm de comprimento e 375-425 µm de diâmetro. Soros tetrasporangiais circundando completamente os ápices de ramos laterais. Tetrasporângios zonados medindo de 31,5-35 µm de comprimento e 12,5-15 µm de diâmetro. Gametófitos masculinos e femininos não foram observados.

Material examinado: BRASIL. RIO DE JANEIRO. Ilha Grande, Angra dos Reis, 28.IX.2011, F. Nauer (SPF57515, SPF57516).

Comentários: *Hypnea* sp. 4 foi encontrada apenas na Ilha Grande, Rio de Janeiro, crescendo no infralitoral a 6 metros de profundidade. Morfologicamente, *Hypnea* sp. 4 assemelha-se a *H. cenomyce*. *Hypnea cenomyce* foi citada pela primeira vez para o

Brasil por Yoneshigue (1985), coletada na praia do Farol, Arraial do Cabo, Rio de Janeiro. Uma coleta foi realizada na mesma região em 28. IX. 2011, porém essa espécie não foi encontrada. Posteriormente, *H. cenomyce* foi citada por Amado-Filho (1991) para o Rio de Janeiro e por Nunes (2005) e Jesus (2012) para a Bahia. Segundo Jesus (2012), *H. cenomyce* é rara no litoral baiano, crescendo no mesolitoral como epífita, epilítica ou ainda atirada à praia. *Hypnea* sp. 4 apresenta talo diminuto, sendo os exemplares coletados os menores em tamanho dentre todos os outros espécimes de *Hypnea* coletados neste trabalho. Além do pequeno tamanho, *Hypnea* sp. 4 foi o único táxon a apresentar soros tetrasporangiais na porção apical dos râmulos e o único a possuir padrão achatado do talo, melhor observado em corte transversal.

As características e dimensões encontradas no material estudado coincidem com as descrições apresentadas por Nunes (2005) e Jesus (2012) quanto ao tamanho diminuto do talo, ausência de anastomoses, ou raras, de acordo com Nunes (2005), presença de numerosos discos de fixação secundários e disposição dos tetrasporângios nos ramos férteis. Entretanto, a descrição de talo cilíndrico para *H. cenomyce* (Yoneshigue 1985, Amado Filho 1991, Nunes 2005, Jesus 2012), presença de base estolonífera (Nunes 2005, Jesus 2012), de anastomoses frequentes (Yoneshigue 1985, Amado-Filho 1991) e de soros tetrasporangiais localizados nas porções basais e medianas dos râmulos (Yoneshigue 1985, Amado-Filho 1991) discordam das características observadas em *Hypnea* sp.4.

Os espécimes brasileiros também diferem dos espécimes asiáticos descritos como *H. cenomyce* por Tanaka (1941), Ogawa & Lewmanomont (1981) e Chiang (1997) com relação ao tamanho do talo e localização dos tetrasporângios. Esses autores descrevem espécimes maiores que os brasileiros, podendo apresentar até 6 cm de comprimento e 1.0 mm de diâmetro, e tetrasporângios são frequentemente encontrados na porção basal dos ramos e não nos ápices. Não existem sequências de marcadores moleculares para a espécie *H. cenomyce* no banco de dados e por esse motivo, o *status* taxonômico dessa espécie no litoral brasileiro e no mundo só poderá ser confirmado quando dados moleculares para outras localidades e, principalmente para a localidade tipo (Nova Guiné, África), forem gerados. Sendo assim, pela falta de dados moleculares e pela discrepância nas descrições do material brasileiro julgamos melhor manter o material estudado como uma espécie não identificada.

Figura 32: *Hypnea* sp. 4. A. Hábito da planta, exemplar tetrasporofítico. B. Detalhe de um ramo. C. Detalhe da posição dos tetrasporângios nos ápices dos ramos férteis. D. Corte transversal de um ramo com tetrasporângios. E. Corte transversal do talo. F. Detalhe do corte transversal do talo evidenciando uma camada de células corticais pigmentadas e grandes células medulares incolores.

Tabela 23. Resumo das características morfológicas das espécies brasileiras do gênero *Hypnea* obtidas neste trabalho.

Característica morfológica	<i>Hypnea cervicornis</i>	<i>"Hypnea flexicaulis"</i>	<i>"Hypnea musciformis"</i>	<i>Hypnea spinella</i>	<i>"Hypnea stellulifera"</i>	<i>Hypnea</i> sp. 1	<i>Hypnea</i> sp. 2	<i>Hypnea</i> sp. 3	<i>Hypnea</i> sp. 4
Habitat	Meso e Infralitoral	Mesolitoral	Meso e infralitoral raso	Mesolitoral	Infralitoral raso	Meso e Infralitoral	Meso e Infralitoral	Meso e Infralitoral	Infralitoral
Hábito	Epilítica, Epífita	Epilítica	Epilítica, Epífita	Epilítica	Epilítica	Epilítica, Epífita	Epilítica	Epilítica, Epífita	Epilítica
Altura (cm)	2–10	Até 7	Até 16	Até 3	Até 13	Até 2	Até 3	Até 3,5	Até 1,5
Cor	Amarelo-amarronzado a vermelho-roseo	Amarelo-amarronzado a vermelho-roseo	Verde claro a vermelho-enegrecida	Vermelho-rosado a escuro	Amarelo-amarronzado	Amarelo-amarronzado	vermelho-rosado a escuro	Vermelho-roseo	Vermelho-rosado a escuro
Textura	Membranosa	Cartilaginosa	Cartilaginosa	Memb. a Cart.	Cartilaginosa	Membranosa	Cartilaginosa	Membranosa	Membranosa
Fixação	Discos	Discos	Discos e estolão	Discos e estolão	Discos	Discos e estolão	Discos	Discos	Discos
Eixo principal (Ep)	Presente	Múltiplos	Presente	Múltiplos	Presente	Múltiplos	Múltiplos	Presente	Presente
Forma dos ramos	Cilíndrico	Cilíndrico	Cilíndrico	Cilíndrico	Cilíndrico	Cilíndrico	Cilíndrico	Cilíndrico	Achatados nas porções distais
Diâmetro (Ep, µm)	430–750	Até 1750	Até 1750	Até 600	Até 650	320–380	480–700	Até 725	Até 500
Ramificação (R)	Dicotômica, subdicotômica a irregular	Irregular	Irregular	Alterna a irregular	Alternado espiralado	Alternado a irregular	Alternado a irregular	Irregular	Alterna a irregular
Ângulo de R	Agudos e retos	Agudos e retos	Agudos e retos	Agudos e retos	Agudos e retos	Agudos e retos	Agudos e retos	Agudos e retos	Agudos e retos
Forma dos râmulos	Espinescentes	Espinescentes	Espinescentes	Espinescentes	Estrelados	Espinescentes	Espinescentes	Espinescentes	Espinescentes
Anastomose	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente
Ápices	Retos e bifurcados	Retos, recurvados	Gavinhas, recurvados	Retos	Retos	Retos	Retos	Retos	Retos
Diâmetro da cél. axial (a, µm)	25–52,5	37,5–62,5	37,5–137,5	25–62,5	20–25	32,5–45	50–100	45–57,5	Até 62,5

Comprimento (a, µm)	37,5–57,5	30–87,5	42,5–125	25–70	17,5–20	40–50	75–87,5	35–52,5	Até 45
Nº. Células Periaxiais (p)	5 a 6	4 a 6	5 a 7	4 a 6	4 a 5	5 a 6	5 a 7	4 a 5	4 a 5
Diâmetro (p, µm)	62,5–200	62,5–200	37,5–137,5	65–125	37,5–100	55–75	65–162,5	80–162,5	75–97,5
Comprimento (p, µm)	90–212,5	150–237,5	37,5–175	55–150	62,5–140	50–100	75–125	75–225	62,5–150
Nº. Camadas cél. medulares (Cm)	1 ou 2	2	2 ou 3	1	2 ou 3	1	2	1 ou 2	1
Diâmetro (Cm, µm)	32,5–100	32,5–112,5	37,5–115	22,5–75	20–112,5	22,5–62,5	37,5–100	27,5–87,5	27,5–82,5
Nº. Camadas cél. Corticais (Cc)	1	1	1 ou 2	1 ou 2	2	1	1	1	1
Diâmetro (Cc, µm)	10–15	7,5–10	5–12,5	10–12,5	7,5–12,5	7,5–10	10–12,5	10–12,5	10–25
Espessamento lenticular	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Presente
Disposição dos soros tetrasporangiais	Basal, circundando os ramos	Mediana (incompleta) Basal circundando os ramos	Mediana (incompleta) Basal, circundando os ramos	Mediana, circundando os ramos	Mediana e basal, circundando os ramos	-	Basal, circundando os ramos	-	Apical, circundando os ramos
Diâmetro Ramos tetrasporangiais (µm)	250–400	Até 350	225–625	200–400	250–750	-	250 – 400 µm	-	375–425
Comprimento tetrasporângios (µm)	27,5–32,5	45–50	25–50	27,5–30	47,5–50	-	Até 42,5 µm	-	31,5–35
Diâmetro tetrasporângios (µm)	15–20	15–25	15–55	10–15	17,5–22,5	-	Até 25 µm	-	12,5–15
Diâmetro dos cistocarpos (µm)	-	-	Até 187,5	-	210–350	-	-	-	-

10.1. Marcadores moleculares e o conceito filogenético de espécie

Em algas vermelhas, a evolução convergente e a especiação recente levaram ao surgimento de diversas espécies crípticas impossíveis de serem diferenciadas com base apenas na morfologia, mas que apresentam diferenças genéticas. Em outro cenário, espécimes de uma mesma espécie podem apresentar uma morfologia altamente variável em relação às condições ambientais, e, nesse caso, as diferenças genéticas não são significativas (Cianciola *et al.* 2004). Para o gênero *Hypnea* a utilização somente das características morfológicas isoladas não foi suficiente para identificação taxonômica de todos os espécimes, devido a grande plasticidade fenotípica do gênero, cuja morfologia varia com o ambiente encontrado, como é o caso de *Hypnea* cf. *musciiformis*, onde variações morfológicas da espécie foram identificadas como *H. nigrescens* e *H. valentiae* (Figura 33). A morfologia também pode variar com a distribuição geográfica, como exemplo de *H. cervicornis*, onde espécimes do nordeste do país possuem uma morfologia distinta dos espécimes das regiões sudeste e sul.

Por outro lado, devido a uma morfologia simples e convergente com poucos caracteres taxonomicamente informativos, outras espécies se assemelham, o que dificulta a detecção de novas ocorrências e de espécies novas para a ciência, como exemplo de *Hypnea* cf. *flexicaulis* (Figura 33) e *Hypnea* sp. 1 e *Hypnea* sp. 2 (Figura 34). A detecção dessas espécies só foi possível com o uso da técnica “DNA barcode” em uma ampla gama de amostras. Essa técnica se mostrou rápida e eficiente na separação das espécies, especialmente porque muitos espécimes são encontrados com apenas poucos ramos, pouca biomassa e sem estruturas reprodutivas, principalmente aqueles que habitam o infralitoral.

No trabalho de Guimarães (2011) e neste trabalho, as espécies brasileiras do gênero *Hypnea* foram identificadas com base no conceito filogenético de espécie, separadas primeiramente com base nas diferenças genéticas e que representam linhagens evolutivas monofiléticas, característica observada nas topologias concordantes dos três marcadores moleculares.

Figura 33: Cladograma hipotético das espécies de *Hypnea* do Brasil da seção *Virgatae*. A. Identificação com base na morfologia, que considera a presença de *H. cornuta*, *H. nigrescens* e *H. valentiae* na costa brasileira. B. Identificação com base na técnica “DNA barcode”. Nesse cenário há a presença de *Hypnea* cf. *stellulifera* ao invés de *H. cornuta*. Uma variação morfológica de *H. musciformis* é uma outra espécie, *Hypnea* cf. *flexicaulis*. Além disso, *H. musciformis*, *H. nigrescens* e *H. valentiae* representam variações morfológicas de uma mesma espécie, onde não há variação genética.

Figura 34: Cladograma hipotético das espécies de *Hypnea* do Brasil da seção *Spinuligerae*. A. Identificação com base na morfologia. B. Identificação com base na técnica “DNA barcode”. Nesse cenário, espécimes identificados como *H. cervicornis* com base na morfologia são divididos em três espécies com morfologia convergente, *H. cervicornis*, *Hypnea* sp.1 e *Hypnea* sp.2.

10.2. *cox1*

A técnica “DNA barcode” foi proposta pela primeira vez por Hebert *et al.* (2003) para grupos de animais através da utilização da região 5’ do marcador mitocondrial *cox1*, do gene que codifica para a citocromo c oxidase subunidade 1. Saunders (2005) utilizou 101 sequências do marcador *cox1* com 710 pares de bases de tamanho, representando 15 famílias da classe de algas vermelhas Florideophyceae. A divergência intraespecífica encontrada pelo autor foi de 0 a 2 pb (0 – 0,3%), e a divergência interespecífica foi de 30 a 90 pb (4,5 – 13,6%), com exceção de *Mazzaella linearis* e *M. splendens* (0,8 – 1,2%) e *Dilsea carnosae* e *D. integra* (1,1%).

Para o gênero *Hypnea*, o marcador *cox1* foi utilizado pela primeira vez por Geraldino *et al.* (2006), que sequenciou 1.422 pb de 21 amostras no estudo de *H. flexicaulis* para a costa da Coreia do Sul. Posteriormente, Geraldino *et al.* (2009) utilizaram o marcador no estudo de *H. charoides* para a região asiática, 44 sequências de 1.362 pb foram geradas para quatro espécies de *Hypnea*, nesse caso, a variação intraespecífica encontrada foi de até 28 pb (2,06%) e a divergência interespecífica de 157 a 165 pb (11,53 – 12,12%). Em 2010, Geraldino *et al.* ampliaram a cobertura do estudo para 10 espécies do gênero, com um total de 27 sequências de 1.245 pb. A divergência intraespecífica encontrada foi de 0 a 17 pb (0 – 1,3%) e a divergência interespecífica foi de 138 a 162 pb (11 – 13%).

O trabalho de Guimarães (2011) é o primeiro a utilizar marcadores do tipo “DNA barcode” para o estudo do gênero no Oceano Atlântico. A autora gerou 55 sequências de *cox1* com 617 pb para seis espécies de *Hypnea* de ocorrência na costa do Estado de São Paulo. A divergência intraespecífica variou de 0 a 5 pb (0 – 0,9%) e a divergência interespecífica variou de 62 a 100 pb (10,1 – 16,3%). Nesse estudo foram amplificadas 223 sequências de *cox1* de 710 pb para nove espécies brasileiras do gênero. A divergência intraespecífica encontrada foi de 0 a 14 pb (0 – 1,7%) e a divergência interespecífica encontrada foi de 69 a 130 pb (9,8 – 18,2%).

A maior divergência intraespecífica de 1,7%, encontrada nesse trabalho, refere-se a divergência entre as amostras nordestinas e das regiões sudeste e sul de *Hypnea* cf. *musciiformis*. Com exceção dessa espécie, a segunda maior divergência intraespecífica encontrada no marcador é de 0 a 3 pb (0 – 0,3%) para as amostras de *H.*

cervicornis e também de *Hypnea* cf. *stellulifera* (Tabela 15). Apesar da divergência intraespecífica relativamente elevada para o *cox1*, a variação dos outros dois marcadores é relativamente baixa e no momento não existem evidências suficientes que comprovem a separação de *Hypnea* cf. *musciiformis* em duas espécies. A estruturação geográfica não foi completa já que as sequências das amostras IBC0763, IBC0764, IBC0765, IBC0766 e IBC0767 de Recife, Pernambuco, e IBC0969, do Rio do Fogo, Rio Grande do Norte, agrupam-se com as sequências do sudeste e sul. As análises morfológicas não revelaram diferenças significativas que distinguíssem as amostras da região nordeste das amostras das regiões sudeste e sul.

Os valores das divergências obtidas para o marcador *cox1* são próximos dos valores descritos por Guimarães (2011) para as sequências brasileiras de *Hypnea*. Os valores também são relativamente próximos daqueles propostos por Saunders (2005) para as algas vermelhas e por Geraldino *et. al.* (2009, 2010) para as sequências asiáticas de *Hypnea*. A exceção se encontra nos valores máximos das divergências intraespecífica (1,7% contra 1,3% de Geraldino *et. al.* 2010) e interespecífica (18,2% contra 13,6% de Saunders 2005). Apesar disso, não houve sobreposição das divergências e a diferença entre a variação intraespecífica e interespecífica é significativamente alta.

10.3. UPA

O marcador UPA, codificante para a subunidade 23S do ribossomo (23srDNA), está localizado no genoma do cloroplasto e foi proposto inicialmente por Sherwood & Presting (2007). Esses autores utilizaram 107 sequências de 377 pares de base, representando a diversidade de algas eucarióticas e cianobactérias. Sherwood *et. al.* (2010), em um estudo da diversidade de algas vermelhas do Havaí, utilizaram três marcadores moleculares, o mitocondrial *cox1* e dois plastidiais, UPA e LSU, representando 42 famílias da classe Florideophyceae, incluindo Cystocloniaceae e o gênero *Hypnea*. Os resultados dos autores indicam uma eficiência de $44,8 \pm 28\%$ na amplificação do marcador *cox1*, contra $67,4 \pm 25,8\%$ de sucesso da amplificação do UPA. Os autores ainda ressaltam que apesar da maior facilidade de amplificação do

UPA e da dificuldade de amplificação do *cox1*, o marcador mitocondrial é mais eficiente na separação de espécies, sendo o marcador plastidial mais conservado.

Guimarães (2011) sequenciou também o marcador UPA para estudos do gênero *Hypnea* para a costa do Estado de São Paulo. A autora obteve 10 sequências para o marcador, representando seis espécies encontradas no estado com divergência intraespecífica de 0 a 1 pb (0 – 0,3%) e a divergência interespecífica encontrada foi de 9 a 16 pb (2,5 – 4,4%). Neste trabalho, foram selecionadas cerca de metade das amostras para a amplificação do marcador UPA, sendo geradas 115 sequências para nove espécies do gênero. A divergência intraespecífica obtida foi de 0 a 3 pb (0 – 0,8%) e a divergência interespecífica encontrada foi de 7 a 28 pb (1,8 – 6,9%). A diferença encontrada nos valores de divergências intra e interespecífica deste trabalho em relação aos apresentados por Guimarães (2011) deve-se, provavelmente, a diferença amostral de sequências (115 contra 10) e de espécies (nove contra seis).

Clarkston & Saunders (2010) utilizaram os marcadores *cox1* e UPA no estudo da família Kallymeniaceae (Gigartinales, Rhodophyta). A divergência intraespecífica para o marcador *cox1* variou de 0 a 0,9%, enquanto que a divergência entre espécies foi maior do que 4,5%. Para o marcador UPA, a divergência intraespecífica foi de 0 a 0,25% e a divergência interespecífica de 0,81 a 6,2%. Portanto, a pouca diferença entre o máximo da divergência intraespecífica e o mínimo da divergência interespecífica pode ser considerado um fator limitante do marcador UPA, indicando baixa eficiência na separação de espécies proximamente relacionadas (Clarkson & Saunders 2010). Os resultados obtidos para o marcador corroboram os dados de Sherwood *et. al.* (2010) no sentido de que o UPA possui maior sucesso na amplificação do que o marcador *cox1*, porém possui menor variação e menor eficiência como “DNA barcode”. Apesar da eficiência do marcador *cox1* para o gênero *Hypnea*, ele pode apresentar complicações para outros grupos de algas e a falta de “primers” universais para o marcador é um problema já conhecido (Clarkson & Saunders 2010).

10.4. *rbcl*

Após a confirmação dos dados obtidos pelos “DNA barcodes” e pelos dados morfológicos, amostras representantes de cada espécie encontrada foram selecionadas para amplificação do marcador *rbcl*, gene plastidial que codifica para a subunidade grande da enzima ribulose-1, 5-bisfosfato carboxilase-oxigenase (Rubisco) e largamente utilizado nos estudos filogenéticos de organismos fotossintetizantes. As sequências geradas para esse marcador possuíram 1.355 pb. O sucesso de amplificação desse marcador foi menor do que a amplificação dos “DNA barcodes” onde a reação de PCR foi refeita algumas vezes para algumas amostras a fim de se obter a sequência completa do marcador. Além disso, em alguns casos o sequenciamento teve que ser feito até se obter sequências de boa qualidade. Por esse motivo, nem todas as amostras de outros países obtidas possuem sequência para o marcador e, algumas espécies, como *H. flexicaulis* e *Hypnea* sp1, possuem apenas uma sequência.

Com relação às divergências intraespecíficas, as amostras nordestinas de *Hypnea* cf. *musiformis* divergiram em até 11 pb (0,7%) das demais amostras da espécie. Enquanto que as sequências para *Hypnea* sp. 3 apresentaram uma divergência de até 6 pb (0,4%), por exemplo (Tabela 15). Com relação à divergência interespecífica, a variação foi de 48 a 92 pb (3,6 – 6,8%), valores praticamente idênticos aos encontrados por Guimarães (2011), cuja divergência interespecífica encontrada foi de 3,2 a 6,7% para o marcador. Geraldino *et al.* (2010), em seu estudo do gênero *Hypnea* para a região asiática, utilizaram 42 sequências de 1.356 nucleotídeos representando 23 espécies do gênero. A divergência interespecífica encontrada para o marcador foi de 18 a 93 pb (1,3 – 6,8%).

As Tabelas 24 e 25 fornecem, respectivamente, uma comparação entre as divergências intraespecíficas e interespecíficas obtidas nesse trabalho com os trabalhos moleculares mais recentes com o gênero *Hypnea*, juntamente com o trabalho de Clarkston & Saunders (2010) com outras espécies dentro de Rhodophyta.

Tabela 24. Comparação entre a divergência intraespecífica para os marcadores *cox1*, UPA e *rbcl* entre os estudos moleculares do gênero *Hypnea* e de Rhodophyta.

Marcador	<i>Hypnea</i>					Rhodophyta
	Geraldino <i>et al.</i> 2006	Geraldino <i>et al.</i> 2009	Geraldino <i>et al.</i> 2010	Guimarães (2011)	Neste trabalho	Clarkston & Saunders 2010
UPA	*	*	*	0 – 6 pb (0 – 0,5%)	0 – 3 pb (0 – 0,8%)	0-1,0 pb (0-0,27%)
<i>cox1</i>	1 - 34pb (7,2-24,47%)	28pb (2,06%)	8 - 59pb (0,6-4,7%)	0 – 5 pb (0 - 0,9 %)	0 – 14 pb (0 – 1,7%)	0 - 6 pb (0-0.9%)
<i>rbcl</i>	1 - 5pb (0,06-0,33%)	5pb (0,37%)	2 - 8pb (0,1-0,5%)	0 – 6 pb (0 - 0,5%)	0 – 11 pb (0 – 0,7%)	*

* Dados não apresentados nas referências.

Tabela 25. Comparação entre a divergência interespecífica para os marcadores *cox1*, UPA e *rbcl* entre os estudos moleculares do gênero *Hypnea* e de Rhodophyta.

Marcador	<i>Hypnea</i>					Rhodophyta
	Geraldino <i>et al.</i> 2006	Geraldino <i>et al.</i> 2009	Geraldino <i>et al.</i> 2010	Guimarães (2011)	Neste trabalho	Clarkston & Saunders 2010
UPA	*	*	*	9 – 15 pb (2,5-4,1%)	7 – 28 pb (1,8 - 6,9 %)	3-23 pb (0.8- 6.2%.)
<i>cox1</i>	*	157-165 (11,53- 12,12%)	50 -162pb (4-13%)	62-100 pb (10,1- 16,3%)	69 – 130 pb (9,8-18,2%)	30 pb (> 4.5%)
<i>rbcl</i>	*	58 - 96bp (4,2 - 7 %)	18 - 93pb (1,3 - 6,8%)	42 – 88 pb (3,2-6,7 %)	48 – 92 pb (3,6 – 6,8%)	*

* Dados não apresentados nas referências.

10.5. Taxonomia e considerações morfológicas

A análise conjunta dos marcadores moleculares e dados morfológicos possibilitou o reconhecimento de nove espécies para a costa brasileira. Todos os caracteres propostos por Masuda *et al.* (1997) foram analisados (Tabela 23). Porém, nem todos os caracteres se mostraram úteis para delimitação das espécies presentes no país. Devido a grande plasticidade fenotípica e a presença de espécies crípticas no gênero, a análise de caracteres morfológicos isolados mostrou-se ineficaz, onde para praticamente todas as características observadas existe sobreposição entre as espécies.

Estudos com o gênero ressaltam que essas características morfológicas sofrem variação em relação às condições ambientais e habitat do espécime (Yamagishi & Masuda 2000, Lucio 2006, Geraldino *et al.* 2010, Guimarães 2011, Jesus 2012). A cor do talo da alga é altamente variável para algumas espécies, porém se mostrou mais homogênea para a maioria delas. Espécies como *H. spinella*, *Hypnea* cf. *stellulifera*, *Hypnea* sp. 1, *Hypnea* sp. 2, , *Hypnea* sp. 3 e *Hypnea* sp. 4 apresentaram coloração uniforme do talo, onde a variação se deu apenas quanto a tonalidade (vermelho mais claro ou vermelho mais escuro, por exemplo). Outras espécies como *H. cervicornis*, *Hypnea* cf. *flexicaulis* e *Hypnea* cf. *musciiformis* apresentaram variação quanto a cor do talo, podendo ter cor amarela, marrom, verde e vermelha, além da variação na tonalidade (claro ou escuro) dependendo se a alga estava presente em locais batidos, protegidos ou até mesmo no infralitoral.

Quanto ao hábito e a altura do talo, as espécies da costa brasileiras podem ser divididas em dois grupos, um apresentando talo em tufo ereto não intrincado e o outro apresentando talo em forma de tufo densamente intrincado (Figura 35). No primeiro grupo estão as espécies *Hypnea* cf. *flexicaulis*, *Hypnea* cf. *musciiformis* e *Hypnea* cf. *stellulifera*. Essas espécies são as que apresentam os maiores exemplares em termos de tamanho, onde são comuns espécimes com mais de 10 cm de altura, com exceção de *Hypnea* cf. *flexicaulis*. Algumas variações morfológicas de *Hypnea* cf. *musciiformis* e até mesmo exemplares de pequeno tamanho de *Hypnea* cf. *flexicaulis* podem formar tufos, porém os ramos não são intrincados e não formam emaranhados, já que não há a ocorrência de anastomoses ou presença de discos de fixação secundários nessas

espécies. Esse grupo de espécies corresponde à seção *Virgatae* proposta por J. Agardh (1852).

O segundo grupo é formado pelas espécies *H. cervicornis*, *H. spinella*, *Hypnea* sp. 1, *Hypnea* sp. 2, *Hypnea* sp. 3 e *Hypnea* sp. 4. Essas espécies possuem tamanho consideravelmente menor do que as espécies do primeiro grupo, onde é comum talos de apenas 2 ou 3 cm de altura. A exceção são os exemplares nordestinos de *H. cervicornis*, que podem atingir dimensões similares as de *Hypnea* cf. *flexicaulis* e *Hypnea* cf. *stellulifera*. A aparência do talo em tufos emaranhados é devido a presença de inúmeros discos de fixação secundários que se fixam sobre outros ramos da alga. Algumas espécies como *H. spinella*, *Hypnea* sp.1 e *Hypnea* sp.2 possuem anastomoses que ajudam o talo a formar emaranhados de difícil separação. Esse grupo de espécies corresponde a seção *Spinuligeræ* proposta por J. Agardh (1852), que inclui espécies que possuem crescimento intricado em forma de tufos.

A seção *Pulvinatæ* proposta por J. Agardh (1852) corresponde a espécies que crescem expandindo-se sobre o substrato, formando tapetes, e possuem iridescência em baixo d'água. Nenhum representante brasileiro se encaixou nessa seção. Embora essa divisão de espécies de *Hypnea* em três seções não tenha sido bem aceita, ela foi retomada por Geraldino *et al.* (2010) em uma topologia construída com marcadores filogenéticos (*rbcl* e *psaA*) para 16 espécies do gênero (Figura 7). Nessa topologia, o gênero aparece monofilético com alto suporte e é subdividido em três subclados, mas com baixo suporte. Os autores verificaram que o hábito das espécies presentes em cada subclado correspondia às três seções descritas por J. Agardh (1852): *Virgatae*, *Spinuligeræ* e *Pulvinatæ*.

Na topologia do marcador *rbcl*, presente neste trabalho (Figura 19), construída com as sequências geradas para os espécimes brasileiros, juntamente com as sequências disponíveis no Genbank para o gênero, foram encontrados os mesmos três subclados apresentados por Geraldino *et al.* (2010) e correspondentes as seções propostas por J. Agardh (1852), sendo que o subclado correspondente à seção *Virgatae* apresenta alto suporte nas análises bayesianas e de bootstrap.

A seção *Pulvinatæ*, que não ocorre no Atlântico sul, é formada por um subclado monofilético, embora com baixo suporte, assim como a seção *Spinuligeræ*.

Esses resultados indicam que o hábito do talo, como proposto por J. Agardh (1852) é uma característica informativa do ponto de vista filogenético.

A textura da alga variou entre membranosa ou cartilaginosa. A espécie *Hypnea* cf. *stellulifera* foi a que apresentou textura mais cartilaginosa, o que pode ser explicado pelo fato da parede celular dessa alga ser visivelmente mais espessa do que as demais espécies, característica observada em cortes anatômicos. O eixo principal está presente em todas as espécies, com a diferença de ser apenas um ou múltiplos e se ele é persistente até o ápice do ramo ou altamente ramificado. A espécie *Hypnea* cf. *stellulifera* possui o eixo principal persistente mais visível entre as espécies e o eixo principal de *Hypnea* cf. *musciiformis* mostrou-se o mais difícil de ser observado devido à quantidade de ramificações do talo, porém é possível encontrá-lo através do diâmetro, que é relativamente maior do que o diâmetro das ramificações laterais.

Espécies como *Hypnea* cf. *flexicaulis*, *H. spinella*, *Hypnea* sp.1 e *Hypnea* sp.2 apresentam múltiplos eixos principais, que são ramos de tamanho similar que partem do mesmo ponto na base do talo. As ramificações subsequentes possuem tamanho e diâmetro significativamente menores em relação aos múltiplos eixos principais. Todas as espécies apresentam eixo cilíndrico, com exceção da espécie *Hypnea* sp. 4, única que apresentou base cilíndrica e porções superiores achatadas. Essa característica, porém, não é exclusiva da espécie, sendo que há outras espécies de *Hypnea* de talo achatado, como *H. volubilis* e *H. patyclada* (Schneider & Searles 1991, Dawes & Mathieson 2008, Jesus 2012).

A ramificação irregular está presente em todas as espécies do gênero e é facilmente observada em uma primeira análise, onde ramos podem ser formados em qualquer parte do talo, em qualquer plano. Em uma análise mais detalhada de algumas espécies, porém, alguns padrões podem ser observados, mesmo que esses padrões não se mantenham por toda a extensão do talo. Na espécie *Hypnea* sp. 4, por exemplo, é mais comum observar um padrão alterno de ramificação, mas com partes do talo apresentando ramificação irregular. Esse padrão também ocorre, em maior ou menor grau, nas espécies *H. spinella*, *Hypnea* sp.1 e *Hypnea* sp.2. A espécie *H. cervicornis* apresenta padrão de ramificação irregular por toda a extensão do talo, mas é comum a região apical apresentar ramificações dicotômicas ou subdicotômicas dando um aspecto cervicórneo às porções apicais da planta. Já *Hypnea* cf. *stellulifera*

possui um padrão de ramificação alterno a espiralado, observado sob estereomicroscópio.

Com relação ao ângulo de ramificação, não houve variação entre as espécies, onde os ramos são inseridos no eixo principal em ângulo agudo ou reto. Quase todas as espécies, com exceção de *H. cervicornis* e *Hypnea* cf. *stellulifera*, apresentam râmulos espinescentes por toda a extensão do talo. A forma do ramo espinescente varia, podendo ser em forma de pequenos acúleos, que podem ser encurvados para cima, como em *Hypnea* cf. *flexicaulis* e *Hypnea* sp.2 ou em forma de diminutos râmulos, como nas demais espécies. Os râmulos espinescentes em *Hypnea* cf. *musciiformis* são maiores e mais abundantes em comparação com as outras espécies e podem lembrar pequenos pêlos recobrindo o talo. Alguns trabalhos fazem ainda distinção dos râmulos espinescentes em subulados e fusiformes. Não concordamos com essa distinção, uma vez que essa variação na forma do râmulo espinescente está presente em um mesmo indivíduo e não entre espécies. Além disso, os mais alongados râmulos espinescentes são encontrados nos eixos principais e na base do talo, porções mais velhas do corpo da alga, enquanto que râmulos subulados (base larga, ápice curto) são frequentes em ramificações e regiões próximas dos ápices, porções mais novas e/ou ainda em crescimento. Além de râmulos espinescentes, *H. cervicornis* possui ainda râmulos bifurcados, característica que ajuda a distinguir essa espécie das demais. Râmulos espinescentes também podem estar presentes em *Hypnea* cf. *stellulifera*, mas essa espécie também possui râmulos em forma de estrelas, que podem se destacar do talo.

Ápices retos são encontrados em todas as espécies. Em *Hypnea* cf. *flexicaulis* e *Hypnea* cf. *musciiformis* os ápices recurvados, em forma de gancho, são comuns, mas somente em *Hypnea* cf. *musciiformis* ocorre a presença de gavinhas. Gavinhas, porém, não são exclusivas de dessa espécie. Em espécies asiáticas, por exemplo, é comum a presença de gavinhas nos ápices dos ramos. Em alguns trabalhos ocorre a distinção de ápices recurvados em ápices agudos, obtusos e ganchos, porém não concordamos com essa distinção. Existe uma gradação em relação à formação de ganchos; ápices podem ser levementes recurvados e outros possam estar em um nível que podem se assemelhar a uma gavinha em formação. Um exemplar pode apresentar diversos níveis de gradação de seus ápices recurvados, não havendo uma uniformidade.

Portanto, acreditamos que os ápices em *Hypnea* possam ser retos, recurvados (ganchos) e gavinhas.

Em relação às características anatômicas do gênero, espécies de *Hypnea* podem ser divididas em dois grupos em relação ao tamanho da célula axial comparada com as células periaxiais, característica observada em corte transversal do talo (Bodard 1968). No primeiro grupo, a célula axial é significativamente menor do que as células periaxiais, enquanto no segundo grupo a célula axial é maior ou igual às periaxiais. Estudos prévios (Schenkman 1986, Guimarães 2011, Jesus 2012) validaram essa característica para os espécimes brasileiros, sendo que apenas a espécie *Hypnea* cf. *musciiformis* se enquadra no segundo grupo, enquanto que as demais espécies possuem célula axial significativamente menor do que as células periaxiais.

Apesar do tamanho da célula axial em *Hypnea* cf. *musciiformis* ser significativamente maior em comparação as demais espécies estudadas, podendo chegar até 137,5 µm de diâmetro, é mais comum que a célula axial possua o mesmo tamanho ou tamanho similar ao das células periaxiais. Cortes onde a célula axial possuía tamanho maior foram menos comum do que o esperado. A espécie *Hypnea* cf. *stellulifera* possui a célula axial de menor tamanho dentre as espécies estudadas, seguida de *Hypnea* sp. 4.

As células periaxiais de maior tamanho foram encontradas na espécie *Hypnea* cf. *flexicaulis*. O número de células periaxiais, por sua vez, variou uniformemente entre as espécies, sendo uma característica que sofre sobreposição e é ineficiente na separação das espécies. Por exemplo, enquanto na maioria das espécies é comum encontrar cinco ou mais células periaxiais, em cortes de *Hypnea* sp. 3 e *Hypnea* sp. 4 é comum encontrar apenas quatro células periaxiais. Porém, também é possível encontrar cinco células periaxiais nessas duas espécies. Além disso, quatro células periaxiais também puderam ser observadas em cortes de *Hypnea* cf. *flexicaulis*, *H. spinella* e *Hypnea* cf. *stellulifera*, apesar de raras.

A presença ou ausência de espessamentos lenticulares nas paredes das células medulares, periaxiais e axial também não se mostrou um caráter útil na distinção das espécies. A presença de espessamentos lenticulares pode variar em exemplares de uma mesma espécie (Jesus 2012). Além disso, Ogawa & Lewmanomont (1981)

argumentam que essa variação pode estar relacionada com o habitat e as condições ambientais.

Com relação às estruturas reprodutivas, a posição dos soros tetrasporangiais nos ramos (basal, mediana ou apical) é a única característica que se mostrou constante na identificação das espécies. *Hypnea* sp. 4 é a única espécie brasileira a possuir soros tetrasporangiais nos ápices dos ramos. Nas espécies *H. cervicornis* e *Hypnea* sp.2, os soros só foram encontrados na região basal dos ramos, já em *Hypnea* cf. *stellulifera* só foram encontrados na porção mediana. Nas demais espécies, a posição variou sendo encontrado tanto na porção mediana quanto basal dos ramos. É comum os soros circundarem completamente os ramos onde se encontram, mas nas espécies *Hypnea* cf. *flexicaulis* e *Hypnea* cf. *musciiformis* também é comum encontrar os soros em apenas um lado dos ramos, circundando-os incompletamente. Não foram encontrados indivíduos férteis de *Hypnea* sp. 1 e *Hypnea* sp. 3.

Dessa maneira, de todas as 14 características (Tabela 3) propostas por Masuda *et al.* (1997) as únicas que possuíram valor taxonômico são: **1)** Hábito do talo (tufos eretos ou tufos densamente intrincados), **2)** Eixo principal (único ou múltiplos, persistente ou não), **3)** Forma dos ápices (reto, recurvado, bifurcado, gavinha), **4)** Forma dos râmulos (espinescentes, estrelados, etc.), **5)** Tamanho da célula axial em relação as células periaxiais e **6)** Posição dos soros tetrasporangiais nos ramos (basal, mediana, apical) (Figuras 35 e 36).

Figura 35: Hábitos de *Hypnea*. A. Hábito de *H. spinella*, espécie que, devido à presença de anastomoses, possui a aparência de “tufo” emaranhado. B. Hábito de *H. cervicornis*, onde os ápices são livres. C, D, E e F. Variações no hábito de *Hypnea* cf. *musciformis*. Note o padrão irregular de ramificação, a presença de gavinhas nos ápices dos ramos e na grande abundância de râmulos espinescentes nas ramificações laterais do talo. C. Variante morfológica erroneamente identificada como *H. valentiae*. D. Variante epífita das regiões sudeste e sul. E. Variante epífita da região nordeste. F. Variante erroneamente identificada como *H. nigrescens*.

Figura 36: Variação dos principais caracteres morfo-anatômicos em *Hypnea*. A – E. Variedade de ápices. A. Ápice reto ou agudo. B. Ápice recurvado. C. Ápice em forma de gancho. D. Ápice em forma de gavinha. E. Ápice bifurcado. F – H. Variedade de râmulos. F. Espinescentes. G. Bifurcado. H. Estrelados. I – K. Variação na posição dos soros tetrasporângiais. I. Tetrasporângios na base do ramo. J. Tetrasporângios na porção mediana do ramo. K. Tetrasporângios no ápice dos ramos. L. Cistocarpos. M e N. Corte transversal do talo de dois espécimes de *Hypnea* evidenciando os tipos básicos de organização axial, definidos por Bodard (1968). M. “*Hypnea musciformis*”. N. *Hypnea cervicornis*. O. Espessamentos lenticulares nas células da medula. P e Q. Soros tetrasporangiais em corte transversal. P. Circundando incompletamente o râmulo. Q. Circundando completamente o râmulo.

10.6. Distribuição do gênero na costa brasileira

Em termos de diversidade, o litoral sul do estado da Bahia, juntamente com os três estados da região sudeste, concentram o maior número de espécies de *Hypnea*, sendo Rio de Janeiro e São Paulo os estados com mais espécies, sete ao todo (Figura 37). A região Nordeste, com exceção da Bahia, é a região com menos espécies, com estados possuindo apenas uma ou duas espécies, como é o caso do Piauí e da Paraíba, respectivamente. Embora o esforço de coleta não tenha sido homogêneo para cada estado, acreditamos que os dados refletem a diversidade e distribuição de espécies de *Hypnea* para o país associada a ambientes costeiros de cada região, uma vez que algumas espécies não foram encontradas em recifes e na região do infralitoral, e outras só foram encontradas na região entremarés de costões rochosos.

Costão rochoso é o ambiente conhecido por ser a transição entre o meio terrestre e aquático. Ao longo da costa brasileira, os costões rochosos são mais comuns na região sudeste do país, porém são encontrados desde o norte da Bahia à região de Torres, no Rio Grande do Sul (Pereira e Soares-Gomes 2009). Nesse ambiente, a exposição ao ar, devido ao hidrodinamismo das máres e o impacto das ondas definem o padrão de distribuição dos organismos marinhos (zonação). Com base no grau de exposição ao impacto das ondas, os costões podem ser classificados em dois tipos: batido, onde o embate das ondas é violento, e protegido, onde o

substrato é abrigado da arrebentação. No caso do gênero *Hypnea*, o grau de exposição às ondas influencia diretamente a diversidade, distribuição e morfologia das espécies.

Figura 37: Distribuição das espécies de *Hypnea* ao longo da costa brasileira com base nesse estudo.

Espécies de *Hypnea* são abundantes nos dois tipos de costão rochoso, porém algumas espécies só são encontradas em costões protegidos por possuírem talo mais delicado. Espécimes de *Hypnea* cf. *musciformis* epilíticos são os mais comuns em costões batidos, cuja população pode formar uma biomassa bastante elevada, recobrando rochas inteiras, desde o mesolitoral superior ao inferior. Porém, espécimes epifíticos estão ausentes ou são raros, provavelmente devido a violência do impacto das ondas. Em costões protegidos, espécies de *Hypnea* formam verdadeiros tapetes, podendo este ser homogêneo ou misturado com outras algas, como calcárias articuladas, e *Hypnea* cf. *musciformis* é comumente encontrada epifitando outras algas.

No Brasil, recifes de arenito ocorrem do estado do Maranhão até o Espírito Santo, sendo que a maioria é de arenito consolidado pelo carbonato de cálcio produzido da dissolução de conchas. Apresentam cerca de 700 táxons de algas marinhas, sendo o grupo das Rhodophyta o mais comum, praticamente composto por

espécies diminutas (Figueiredo *et al.* 2004). Os corais constituem formações descontínuas e concentradas na costa até o norte do Espírito Santo. O tapete algal é formado basicamente por algas filamentosas e delicadas, podendo ser predominante a ocorrência de algas calcárias, como *Jania* e *Amphiroa* ou outra espécie de alga não calcária. Os recifes de arenito podem ser encontrados afastados da costa, onde só se é possível chegar de barco, e na região das praias, próximos ou não da faixa de areia, onde só é possível chegar a pé, na maré baixa. Espécies de *Hypnea* são mais comuns nos recifes próximos às praias, onde o ambiente é mais protegido e raras ou ausentes nos recifes afastados da costa, mais suscetíveis a ação das ondas.

A espécie *Hypnea* cf. *musciiformis* não foi encontrada nas faixas submersas em nenhum dos dois tipos de localização do recife, sendo encontrada apenas na região entremarés e, mais comumente, como epífitas de outras algas (principalmente *Sargassum*), podendo formar populações bastante densas com uma biomassa elevada. A espécie *H. cervicornis* é a mais comum em recifes e pode ser encontrada nas colorações vermelha à verde claro. Com exceção do litoral sul da Bahia, outras espécies de *Hypnea* são raras ou ausentes nos recifes do nordeste do Brasil.

O infralitoral é a região permanentemente submersa, onde seu limite superior é definido muitas vezes como a faixa de *Sargassum* spp. Já seu limite inferior pode ser definido pelo encontro das rochas com o substrato arenoso. Sua extensão e profundidade são altamente variáveis, podendo ser de poucos centímetros de profundidade nas áreas costeiras a metros de profundidade em ilhas. No infralitoral as condições ambientais são mais estáveis e fatores como herbivoria, predação e competição são determinantes nas distribuições dos organismos (Pereira e Soares-Gomes, 2009). As coletas no infralitoral se resumiram a ilhas e foram feitas com o uso de equipamento de mergulho autônomo. A maioria das espécies de *Hypnea* não foi encontrada nessa região. A espécie *H. cervicornis* é a mais comum nesse ambiente, crescendo emaranhada a outras algas diminutas formando um tapete sobre a rocha. Já a espécie *Hypnea* sp. 3 só foi encontrada nessa região, não sendo encontrada na região do mesolitoral. Essas espécies parecem habitar somente águas rasas, já que nenhum exemplar foi coletado abaixo dos 8 metros de profundidade.

A Tabela 26 lista as espécies de *Hypnea* citadas anteriormente com base na literatura e a proposta da ocorrência das espécies de *Hypnea* para a costa brasileira com base nos resultados deste trabalho. Das 12 espécies citadas previamente, confirmamos a ocorrência de apenas quatro: *H. cervicornis*, *H. spinella*, *Hypnea* sp. 1 e *Hypnea* sp. 2. A identificação das espécies com base apenas em características morfológicas mostrou-se imprecisa, devido principalmente a plasticidade fenotípica presente no grupo, além da existência de espécies com morfologias convergentes. A técnica de “DNA barcode”, principalmente com relação ao marcador *cox1*, mostrou-se bastante útil e essencial na identificação e delimitação das espécies, revelando cenários que passariam despercebidos pela morfologia. Acreditamos, porém, que a morfologia não deve ser descartada, mas que deve ser realizada em conjunto com análises moleculares.

Tabela 26: Espécies do gênero *Hypnea* de ocorrência na costa brasileira citados anteriormente e por este trabalho. (X) presente, (-) ausente, (NC) não coletada.

Espécie	Anteriormente	Neste trabalho
<i>H. cenomyce</i> J. Agardh	X	-
<i>H. cervicornis</i> J. Agardh	X	X
<i>H. cornuta</i> (Kutzing) J. Agardh	X	-
<i>H. flexicaulis</i> Y.Yamagishi & M.Masuda	X	-
<i>Hypnea</i> cf. <i>flexicaulis</i>	-	X
<i>H. musciformis</i> (Wulfen) J. V. Lamouroux	X	-
<i>Hypnea</i> cf. <i>musciformis</i>	-	X
<i>H. nigrescens</i> (Wulfen) J. V. Lamouroux	X	-
<i>H. platyclada</i> Jesus, P.B. et Nunes, J.M.C	X	NC
<i>H. spinella</i> (C. Agardh) Kutzing	X	X
<i>Hypnea</i> cf. <i>stellulifera</i>	-	X
<i>H. valentiae</i> (Turner) Montagne	X	-
<i>H. volubilis</i> Searles	X	-
<i>Hypnea</i> sp.1	X	X
<i>Hypnea</i> sp.2	X	X
<i>Hypnea</i> sp.3	-	X
<i>Hypnea</i> sp.4	-	X

A seguir fazemos uma síntese de cada um dos táxons citados no Brasil levando em consideração os resultados obtidos nesse trabalho e na literatura.

Hypnea cenomyce

Hypnea cenomyce foi citada para o Brasil pela primeira vez por Yoneshigue (1985) com base em amostras da praia do Farol, Arraial do Cabo, Rio de Janeiro. A espécie encontrada nessa região que mais se assemelha a descrição de Yoneshigue (1985) é a espécie *Hypnea* sp. 4. As descrições brasileiras de *H. cenomyce* diferem das descrições em trabalhos para a região asiática e, como não existem sequências de marcadores moleculares para essa espécie no banco de dados, o *status* taxonômico dessa espécie no litoral brasileiro e no mundo só poderá ser confirmado quando dados moleculares para outras localidades e, principalmente para a localidade tipo (Nova Guiné, África), forem gerados.

Hypnea cervicornis

Ocorre em praticamente toda costa brasileira e difere das demais espécies por possuir râmulos bifurcados e ramificação em forma de galhada das porções apicais do talo. Possui como localidade tipo o estado da Bahia.

Hypnea cornuta

A espécie previamente identificada como *H. cornuta* mostrou ser geneticamente próxima de *H. stellulifera* e, portanto foi provisoriamente referida como *Hypnea* cf. *stellulifera*.

Hypnea flexicaulis

A espécie *Hypnea* cf. *flexicaulis* citada nesse trabalho trata-se do mesmo táxon referido por Guimarães (2011) como *H. flexicaulis*. Porém a real identidade taxonômica de *Hypnea* cf. *flexicaulis* não pôde ser confirmada e estudos moleculares e

morfológicos detalhados entre as espécies *H. flexicaulis* e *H. boergesenii* precisam ser feitos.

Hypnea musciformis

A espécie *Hypnea* cf. *musciformis* citada nesse trabalho é o mesmo táxon referido na literatura brasileira como *H. musciformis*. Porém, com base em dados moleculares observou-se que os espécimes brasileiros são distintos dos espécimes da localidade tipo de *H. musciformis* (Trieste, Itália), mostrando se tratar de uma nova espécie.

Hypnea nigrescens

Como observado por Guimarães (2011) para a costa de São Paulo, os espécimes identificados como *H. nigrescens* são uma variedade morfológica de *Hypnea* cf. *musciformis*.

Hypnea platyclada

Espécie nova descrita por Jesus *et al.* (2013) para a costa da Bahia com base em dados morfológicos. Distinta das demais espécies brasileiras de *Hypnea* por possuir talo achatado em toda sua extensão. Descrita como tendo distribuição rara, nenhum material coletado correspondeu à descrição dessa espécie.

Hypnea spinella

Com base nos dados moleculares e morfológicos, os espécimes brasileiros mostraram-se idênticos ao espécime da localidade tipo da espécie (Caribe) confirmando a ocorrência dessa espécie para o país. No banco de dados, porém, existem inúmeras sequências identificadas como *H. spinella* que divergem das sequências brasileiras e da localidade tipo.

Hypnea valentiae

Com base nos dados moleculares, os espécimes brasileiros identificados como *H. valentiae* são uma variedade morfológica de *Hypnea* cf.. *musciiformis*. Existem poucas sequências no banco de dados identificadas como *H. valentiae*, porém nenhuma da localidade tipo da espécie, Mar Vermelho.

Hypnea volubilis

A única sequência identificada como *H. volubilis* no banco de dados (AF385636) formou um grupo monofilético com as sequências brasileiras de *Hypnea* sp. 3, que difere morfológicamente de *H. volubilis*. No Brasil, a espécie é citada apenas em levantamentos florísticos, sem descrição detalhada e, portanto, não pudemos confirmar a real ocorrência de *H. volubilis* na costa brasileira.

As espécies *Hypnea* sp. 1, *Hypnea* sp. 2, *Hypnea* sp. 3 e *Hypnea* sp. 4 não puderam ser identificadas com nenhuma outra espécie citada para o oceano Atlântico e acreditamos que possam tratar-se de espécies novas para a ciência. O marcador *rbcl* mostrou-se eficaz na reconstrução filogenética do grupo, sendo possível subdividir as espécies do gênero nas três seções propostas por J. Agardh (1852) e resgatadas por Geraldino *et al.* (2010). Isso demonstra, de certa forma, que parte das características morfológicas é informativa do ponto de vista filogenético, como o hábito do talo. Além disso, o marcador *rbcl* permitiu a detecção de complexos específicos que devem ser analisados com maior cobertura geográfica, como o caso de *H. musciiformis*.

Por fim, a hipótese que motivou esse estudo foi corroborada com os dados obtidos, onde o uso da ferramenta molecular “DNA barcode” não apenas foi útil na detecção de espécies crípticas como modificou o cenário da diversidade do gênero *Hypnea* para o país. Além disso, levantou indícios da real situação de espécies tidas como cosmopolitas, a exemplo de *H. musciiformis*.

- Abbott, I.A., 1999. Marine red algae of the Hawaiian Islands. xv + 477 pp. *Honolulu Museum Press*, Honolulu, Hawaii.
- Agardh, J.G., 1851. *Species genera et ordines algarum. Volumen secundum: algas florideas complectens. Lundae [Lund]*. XII+ 1291 pp. part 2, fasc.1, pp. 337-504.
- Agardh, J. G. 1852. Algas florideas complectens. Part 2. In *Species genera et ordines algarum*. Vol. 2. Gleerup, Lund, pp. 337–720.
- 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* 25:3389-3402.
- Amado-Filho, G.M. 1991. *Algas marinhas bentônicas do litoral de Saquarema a Itacoatiara (RJ)*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 323p.
- Amado-Filho, G.M., Horta, P.A., Brasileiro, P.S., Barros-Barreto, M.B. & Fujii, M.T. 2006. Subtidal benthic marine algae of the Marine State Park of Laje de Santos (São Paulo, Brazil). *Brazilian Journal of Oceanography* 54: 225-234.
- Barros, H. L. 2011. Biodiversidade e renovação da vida. Claro Enigma. São Paulo. 94p.
- Bangmei, X. & Yongqiang, W. 1997. Some species of the genus *Hypnea* (Gigartinales, Rhodophyta) from China. In: ABBOTT, I.A. (ed.). *Taxonomy de Economic Seaweeds. Vol. 6*. California Sea Grant College System, La Jolla, p.: 193–206.
- Berchez, F. A.S. & Oliveira, E.C. 1989 Maricultural essays with the carragenophyte *Hypnea musciformis* in S.Paulo, Brazil Int.Foudation so science “cultivation of seaweed in Latin America”, April 2-8, 1989.
- Berchez, F.A.S. & Oliveira-Filho, E.C. 1990. Maricultural essays with the carragenophyte *Hypnea musciformis* in São Paulo, Brazil. In: OLIVEIRA, E.C.F. & KAUTSKY, N. (eds.) *Cultivation of seaweeds in Latin América*. São Paulo: Universidade de São Paulo, p.: 89-94.
- Berchez, F. A. S., Pereira, R. T. L. & Kamiya, N. F., 1993. Culture of *Hypnea musciformis* (Rhodophyta, Gigartinales) on artificial substrates attached to linear ropes. *Hydrobiologia*, 260/261: 415-420.

- Bitencourt, F.S.; Figueiredo, J.G.; Mota, M.R.L.; Bezerra, & C.C.R.; Silvestre, P.P.; Vale, M.R.; Nascimento, K.S.; Sampaio, A.H.; Nagano, C.S.; Saker-Sampaio, S.; Farias, W.R.L.; Cavada, B.S.; Assreuy, A.M.S. & Aalencar, N.M.N. 2008. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of a mucin-binding agglutinin isolated from the red marine alga *Hypnea cervicornis*. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 377:139–148.
- Bhattacharya, D. & Medlin, L. 1995. Algal phylogeny and the origin of land plants. *Plant Physiology* 116. n.1: 9 -15.
- Bhattacharya, D., Yoon, H. S. and Hackett, J. D. 2004. Photosynthetic eukaryotes unite: endosymbiosis connects the dots. *Bioessays* 26: 50–60.
- Bodard, M., 1968. Les *Hypnea* au Sénégal (Hypnéacées, Gigartinales). *Bulletin de l'institut Fondamental d'Afrique Noire*, 3: 811-829.
- Buso, G. S. C. 2005. Marcadores moleculares e análise filogenética. *Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia* 137.
- Câmara-Neto, C. 1987. Seaweed culture in Rio Grande do Norte, Brazil. *Hydrobiologia*, 151/152: 363-367.
- Cavalier-Smith, T. 1998. A revised six-kingdom system of life. *Biological Reviews* 73: 203–266.
- Chiang, Y.M. 1997. Species de *Hypnea* Lamouroux (Gigartinales, Rhodophyta) from Taiwan. In: ABBOTT, I.A. (ed.). *Taxonomy de Economic Seaweeds*. Vol. 6. California Sea Grant College System, La Jolla, p. 163-177.
- Chiovitti, A.; Kraft, G.T.; Bacic, A.; Craik, D.J.; Munro, S.L.A. & Liao, M-L. 1998. Carrageenans from Australian representatives of the family Cystocloniaceae (Gigartinales, Rhodophyta), with description of *Calliblepharis celatospora* sp. nov., and transfer of *Austroclonium* to the family Areschougaceae. *Journal Phycology*, 34: 515-535.
- Cianciola, E.; Popolizio, T.; Schneider, C. W. & Lane, C. 2004. Using Molecular-Assisted Alpha Taxonomy to Better Understand Red Algal Biodiversity in Bermuda. *Diversity* 2010, 2, 946-958.
- Crichley, A.T. & Ohno, M. 1998. Seaweed resources of the world. *Japan International Cooperation Agency*, Nagai, 431 pp.
- Dawes, C.J. & Mathieson, A.C. 2008. The seaweeds of Florida. *University Press of Florida*. 591p.
- Delwiche, C. & Palmer, J. 1995. Rampant horizontal transfer and duplication of rubisco genes in eubacteria and plastids. *Mol. Biol .Evol .*,13 (6): 873 – 882.

- De Toni, G.B. 1897. Sylloge algarum omnium hucusque cognitarum. Vol. IV: *Florideae*. Sectio II. pp. 337-776.
- Faccini, A.L. & Berchez, F. 2000. Management of natural beds and standing stock evaluation of *Hypnea musciformis* (Gigartinales, Rhodophyta) in south-eastern Brazil. *Journal of Applied Phycology* 12: 101–103.
- Figueiredo, M. A.; Barros-Barreto, M. B. & Reis, R.P. 2004. Caracterização das macroalgas nas comunidades marinhas da Área de Proteção Ambiental de Cairuçu, RJ - subsídios para futuros monitoramentos. *Rev. Bras. Bot.* 27: 11-17.
- Fredericq, S., and Hommersand, M.H. 1989. Proposal of the Gracilariales ord. nov. (Rhodophyta) based on an analysis of the reproductive development of *Gracilaria verrucosa*. *J. Phycol.* 25: 213–227.
- Fredericq, S., Hommersand, M.H. & D. Wilson Freshwater 1996. The molecular systematics of some agar- and carrageenan-containing marine red algae based on *rbcl* sequence analysis. *Hydrobiologia* 326/327: 125-135.
- Fredricq, S. & Hommersand, M.H. 2003. Biogeography of the marine red algae of the South African West Coast: a molecular approach. *Proceedings of the XVIIth International Seaweed Symposium*. Oxford University Press, pg325-340.
- Freshwater D.W., Fredericq S., Butler B.S., Hommersand M.H. & Chase M.W. 1994. A gene phylogeny of the red algae (Rhodophyta) based on plastid *rbcl*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91: 7281-7285.
- Furtado, M.R. 1999. Alta lucratividade atrai investimento – Hidrocolóides. *Química e Derivados* 377: 20-29.
- Furtado, M.R. 2004. Desequilíbrio climático abre mercado para novos hidrocolóides. *Química e Derivados* 430: 1-4.
- Fujii, M.T., Barata, D., Chiracava, S. & Guimarães, S.M.P.B. 2010. *Anais do 99º Congresso Nacional de Botânica*. Mesa-Redonda 29- Biodiversidade, Conservação e Uso Sustentável das Macroalgas p371.
- Gabrielson P.W., Garbary D.J. & Scagel R.F. 1985. The nature of ancestral red algae: inferences from a cladistic analysis. *Biosystems* 18: 335-346.
- Garbary D.J. & Gabrielson P.W. 1990. Taxonomy and evolution. In: K.M.Cole and R.G. Sheath (eds.), *Biology of the red algal*, 477-498. *Cambridge University Press*, Cambrig, U.K.
- Geraldino, P.J.L., Yang, E.C. & Boo, S.M. 2006. Morphology and Molecular Phylogeny of *Hypnea flexicaulis* (Gigartinales, Rhodophyta) from Korea. *Algae* 21(4): 417-423.

- Geraldino, P.J.L., Yang, E.C, Kim, M.S. & Boo, S.M. 2009. Systematics of *Hypnea asiatica* sp. nov. (Hypneaceae, Rhodophyta) based on morphology and nrDNA SSU, plastid *rbcL*, and mitochondrial *cox1*. *Taxon* 58(2): 606-616.
- Geraldino, P.J.L., Riosmena-Rodriguez, R., Liao, L.M. & Boo, S.M. 2010. Phylogenetic relationships within the genus *Hypnea* (Gigartinales, Rhodophyta), with a description of *H.caespitosa* sp. nov. *J. Phycol.*46:336-345.
- Goff L.J., Moon D.A. & Coleman A.W. 1994. Molecular delineation of species and species relationship in the red algal agarophytes *Gracilariopsis* and *Gracilaria* (Gracilariales). *Journal of Phycology* 30:521-537.
- Graham, L.E. & Wilcox, L.W., 2009. *Algae*. Prentice-Hall, New Jersey. 640 pp.
- Guimarães, S.M.P.B. 2006. Checklist of Rhodophyta from the State of Espírito Santo. *Boletim do Instituto de Botânica* 17: 143-194.
- Guimarães, N. 2011. Diversidade do gênero *Hypnea* (Gigartinales, Rhodophyta) do Estado de São Paulo baseada em marcadores moleculares e morfologia. Dis. Mestrado. *Inst. De Biociências*. USP.
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 2013. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication. *National University of Ireland, Galway*. <http://www.algaebase.org>. Consultado em 11 de Junho de 2013.
- Hagopian, J.C., M. Reis, J.P. Kitajima, D. Bhattacharya & Oliveira, M.C. 2004. Comparative analysis of the complete plastid genome sequence of the red alga *Gracilaria tenuistipitata* var. *liui* provides insights on the evolution of rhodoplasts and their relationship to other plastids. *Journal of Molecular Evolution* 59(4): 464-477.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids Symp. Ser.* 41: 95-98.
- Haroun, R.J. & Prud'Homme W.F. 1993 A Biogeographycal study of *Laurencia* and *Hypnea* species of the Macaronesian Region. *Courier Forsch –Inst. Senckenberg* 159:119-125.
- 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, B*, 270: 313-322.
- Hommersand,H; Fredericq,S. & Freshwater, D.W. 1994. Phylogenetic systematics and biogeography of the Gigartinaceae (Gigartinales, Rhodophyta) based on sequence analysis of *rbcL*. *Botanica Marina* 1994, vol. 37, n 3, pp. 193-203.

- Hommersand, M.H. & Fredericq, S. 2003 Biogeographical of the marine red algae of the South African West Coast: a molecular approach. *Seventeenth International Seaweed Symposium: Proceedings of the Seventeenth International Seaweed Symposium* pp 325-336.
- Horta P.A., Amancio E., Coimbra C.S. & Oliveira E.C. 2001. Considerações sobre a distribuição e origem da flora de macroalgas marinhas Brasileiras. *Hoehnea* 28: 243-265.
- Huelsenbeck JP, Ronquist FR (2001) MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 17:754–755.
- Jesus, P. B. 2012. O gênero *Hypnea* J.V. Lamouroux (Gigartinales, Rhodophyta) no litoral do estado da Bahia, Brasil: aspectos morfológicos e anatômicos. Dissertação de Mestrado. *Universidade Feira de Santana*. Bahia. 195 p.
- Jesus, P.B., Guimarães, S.M.P.B. & Nunes, J.M.C. 2013. *Hypnea platyclada*, a new species of red alga (Rhodophyta, Cystocloniaceae) from Brazil. *Phytotaxa* 85: 26-34.
- Kim, M.-S., Yang, E.C. & Boo, S.M. 2005. The systematic position of *Gracilaria textorii* (Gracilariaceae, Rhodophyta) from Korea based on morphology and protein-coding plastid rbcL and psbA sequence comparisons. *Department of Biology, Chungnam National University*. Korea.
- Knutsen, S.H., Murano, E., Damato, M., Toffanin, R., Rizzo, R. & Paoletti, S. 1995. Modified procedures for extraction and analysis of carrageenans applied to the red alga *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux. *Journal of Applied Phycology*, 7: 12.
- Kraft, G.T. & Robins, P.A., 1985. Is the Order Cryptonemiales (Rhodophyta) defensible? *Phycologia* 24: 67-77.
- Kylin, H. 1930. Über die entwicklungsgeschichte der Florideen. *Lunds Univ. Årsskr. N.F. Avd. 2*, 24: 1–127.
- Kylin, H. 1932. Die Florideenordnung Gigartinales. *Lunds Univ. Årsskr. N.F. Avd. 2*, 28: 1–88, Plates 1–28.
- Kylin, H. 1956. Die Gattungen der Rhodophyceen. C. W. K. Gleerups Förlag, *Lund*. 673 p.
- Kützinger, F.T. 1868. *Tabulae phycologicae; oder, Abbildungen der Tange*. Nordhausen: Gedruckt auf kosten des Verfassers (in commission bei W. Köhne) Vol. 18. p. 35.
- Lamouroux, J.V. F. 1813. Essai sur les genres de la famille des thalassiphytes. *Non Annales du Muséum d'Histoire Naturelle*, 20: 21-47, 115-139, 267-293.
- Le Gall, L. & Saundres, G. W. 2006. A nuclear phylogeny of the Florideophyceae (Rhodophyta) inferred from combined EF2, small subunit and large subunit ribosomal DNA: Establishing the new red algal subclass Corallinophycidae. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 43:1118-1130.

- Lima, A.M.; Camara-Neto, C.; Oliveira-Filho, E.C. & Araujo, R.A., 1981. Cultivo experimental de *Hypnea musciformis* e *Gracilaria* sp. em áreas protegidas por antigas linhas de costa (recifes) no litoral do Rio Grande do Norte. In: *Projeto Algas. Estado do Rio Grande do Norte*. Série: Brasil. SUDENE. Estudos de Pesca, 9: 97-107.
- Littler, D.S. & Littler, M.M., 2000. Caribbean reef plants. An identification guide to the reef plants of the Caribbean, Bahamas, Florida and Gulf of Mexico. *Offshore Graphics*, Washington. 542 pp.
- Lucio, A. M. 2006. El género *Hypnea* Lamouroux (Gigartinales, Rhodophyta) en las costas del Océano Atlántico. *Tesis Doctoral*. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid. 186 pp.
- McFadden, G. I. 1999. Plastids and Protein Targeting. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 46: 339–346.
- Maggs, C.A., & Pueschel, C.M. 1989. Morphology and development of *Ahnfeltia plicata* (Rhodophyta): proposal of Ahnfeltiales ord. nov. *J. Phycol.* 25: 333–351.
- Maggs C.A., Douglas S.E., Fenety J. & Bird C. J. 1992. A molecular and morphological analysis of the *Gymnogongrus devoniensis* (Rhodophyta) complex in the North Atlantic. *Journal of Phycology* 28: 214-232.
- Masuda, M., Yamagishi, Y., Chiang, Y.-M., Lewmanomont, K. & Xia, B. 1997. Overview of *Hypnea* (Rhodophyta, Hypneaceae). In Abbott, I. A. (Ed.) *Taxonomy of Economic Seaweeds*, Vol. 6. *California Sea Grant College System*, La Jolla, pp. 127–33.
- McHugh, D.J. 2003. A guide to the Seaweed Industry. *FAO Fisheries Technical Paper* 441. Rome: FAO. 105p.
- Melo, V.M.M., Medeiros, D.A., Rios, F.J.B., Castelar, L.I.M. & Carvalho, A.D.F.U., 1997. Antifungal properties of proteins (agglutinins) from the red alga *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux. *Botanica Marina*, 40: 281-284.
- Mshigeni, K.E. 1978. The biology and ecology of benthic marine algae with special reference to *Hypnea* (Rhodophyta, Gigartinales): a review of the literature. *Bibliotheca Phycologica*, 37: 1–168.
- Mshigeni, K. E. & Chapman, D. J. 1994. *Hypnea* (Gigartinales, Rhodophyta). In: AKATSUKA, I. (ed.) *Biology of Economic Algae*. SPB Academic Publishing, The Hague, the Netherlands, p.: 245–281.
- Mora C, Tittensor DP, Adl S, Simpson AGB, Worm B. 2011. How many species are there on Earth and in the Ocean? *PLoS Biol* 9(8): e1001127. doi:10.1371/journal.pbio.1001127.

- Nagano, C.S., Moreno, F.B.M.B., Bloch, C., Prates, M.V., Calvete, J.J., Saker-Sampaio, S., Farias, W.R.L., Tavares, T.D., Nascimento, K.S., Grangeiro, T.B., Cavada, B.S. & Sampaio, A.H. 2002. Purification and characterization of lectins from the red marine alga *Hypnea musciformis*. *Protein and Peptide Letters* 9: 159-165.
- Neushul, M. 1990. Antiviral carbohydrates from marine red algae. *Hidrobiologia* 204/205: 99-104.
- Norton T.A, Melkonian M. & Andersen R.A. 1996. Algal biodiversity. *Phycologia* 35: 308-326.
- Nunes, P. & Van den Bergh, J. 2001. Economic valuation of biodiversity: sense or nonsense? *Ecological Economics* 39, Issue 2: 203 – 222.
- Nunes, J. M. C. 2005. Rodofíceas marinhas bentônicas do estado da Bahia, Brasil. *Tese de Doutorado* - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Botânica. São Paulo. 410 p.
- Nylander, JAA (2004) Bayesian phylogenetics and the evolution of gall wasps. *Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology*, 34p
- Ogawa, H. & Lewmanomont, K. 1981. Economic seaweeds of Thailand. I. The genus *Hypnea* in the Vicinity of Si Racha, Chonburi Province. *Kasetsart University Fishery Research Bulletin* 12: 1-14.
- Oliveira-Filho, E.C. 1977. Algas marinhas bentônicas do Brasil. *Tese de livre docência*. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Botânica. São Paulo. 411 p.
- Oliveira-Filho, E.C. & Berchez, F.A.S. 1987. Ensayos sobre el cultivo del alga roja *Hypnea musciformis* (Rhodophyta, Gigartinales) en São Paulo, Brasil. In: VERRET, J.A.; CARILLO, M.; ZANUY, S. & HUISMAN, E.A. (eds.) Procedimientos del trabajo sobre acuicultura en America Latina. *International Foundation for Science*, p.: 399-409.
- Oliveira, E.C. 1998. The seaweed resources of Brazil. In: A.T. Crithcley & M. Ohno (eds.). *Seaweeds Resources of the World*. Japan International Cooperation Agency, Yokosuka, pp. 366-371.
- Oliveira, M.C. & Bhattacharya, D. 2000. Phylogeny of the Bangiophycidae (Rhodophyta) and the secondary endosymbiotic origin of algal plastids. *American Journal of Botany* 87: 482-492.
- Okamura, K. 1909. Icones of Japanese Algae. Tokyo: published by the author, vol. 2.
- Papenfuss, G. F. 1958. Notes on algal nomenclature. IV. Various genera and species of Chlorophyceae, Phaeophyceae and Rhodophyceae. *Taxon* 7: 104–109.

- Pereira, R. C. & Soares-Gomes, A. (Orgs.) 2009. *Biologia marinha*, 2ª Edição. *Rio de Janeiro: Ed. Interciência*. 631 pp.
- Posada D. & Crandall K.A. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14: 817-8.
- Presting, G. G. 2006. Identification of conserved regions in the plastid genome: implications for DNA barcoding and biological function. *Can. J. Bot.* Vol. 84.
- Price, J.H.; John, D.M. & Lawson, G.W. 1992. Seaweeds of the western coast of tropical Africa and adjacent islands: a critical assessment. IV. Rhodophyta (Florideae) 3. Genera H-K. *Bulletin of British Museum (Natural History – Botany Series)*, 22 (2): 123-146.
- Pueschel, C.M., and Cole, K.M. 1982. Rhodophycean pit plugs: an ultrastructural survey with taxonomic implications. *Am. J. Bot.* 69: 703–720.
- Ragan M.A., Bird C.J., Rice E.L., Gutell R.R., Murphy C.A. & Singh R.K. 1994. A molecular phylogeny of the marine red algae (Rhodophyta) based on the nuclear small-subunit rRNA gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91: 7276-80.
- Ramos, M.B., Alves, J.P. & Yokoya, N.S. 2006. Variação temporal da biomassa, do teor de carragenana e da flora associada a populações de *Hypnea musciformis* (Rhodophyta, Gigartinales) da Praia da Enseada das Garças, Fundão, ES. In: *Livro de resumos do XI Congresso Brasileiro de Ficologia*, Sociedade Brasileira de Ficologia, Salvador, pp. 204.
- Ratnasingham, S., Hebert, P.D. 2007. Bold: The barcode of life data system (www.barcodinglife.org). *Molecular Ecology Notes*.
- Reis, R. P. & Yoneshigue-Valentin, Y. 1998. Variação espaço-temporal de populações de *Hypnea musciformis* (Rhodophyta, Gigartinales) na Baía de Sepetiba e Armação dos Búzios, RJ, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, 12 (3): 465-483.
- Reis, R. P., Caldeira, A.Q., Miranda, A.N.S., Barros-Barreto, M.B. 2006. Mariculture potential of carragenophyta *Hypnea musciformis* (Wulfen) J.V. Lamouroux (Gigartinales - Rhodophyta) on Marambaia Island, Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro State, Brazil. *Acta Bot. Bras.*, Oct./Dec. 2006, vol.20, no.4, p.763-769. ISSN 0102-3306.
- Rodríguez-Ezpeleta, N.; Brinkmann, H.; Burey, S.; Roure, B.; Burger, G.; Löffelhardt, W.; Bohnert, H.; Philippe, H.; Lang, B. 2005. Monophyly of Primary Photosynthetic Eukaryotes: Green Plants, Red Algae, and Glaucophytes, *Current Biology* 15 (14): 1325-133.
- Ronquist, F. & Huelsenbeck, J.P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574

- Saunders, G.W., and Kraft, G.T. 1994. Small-subunit rRNA gene sequences from representatives of selected families of the Gigartinales and Rhodymeniales (Rhodophyta). I. Evidence for the Plocamiales ord. nov. *Can. J. Bot.* 72: 1250–1263.
- Saunders, G.W., and Kraft, G.T. 1996. Small-subunit rRNA gene sequences from representatives of selected families of the Gigartinales and Rhodymeniales (Rhodophyta). II. Recognition of the Halymeniales ord. nov. *Can. J. Bot.* 74: 694–707.
- Saunders, G.W., and Kraft, G.T. 2002. Two new Australian species of *Predaea* (Nemastomataceae, Rhodophyta), with taxonomic recommendations for an emended Nemastomatales and expanded Halymeniales. *J. Phycol.* 38: 1245–1260.
- Saunders G.W. 2005. Applying DNA barcoding to red macroalgae: a preliminary appraisal holds promise for future applications. *Phil. Trans. R. Soc. B* (2005) 360, 1879–1888.
- Saunders, G.W., Chiovitti, A. & Kraft, G.T. 2004 Small-subunit rDNA sequences from representatives of selected families of the Gigartinales and Rhodymeniales (Rhodophyta). 3. Delineating the Gigartinales sensu stricto. *Can. J. Bot.* Vol. 82, 2004.
- Saunders G.W. & Hommersand M.H. 2004. Assessing red algal supraordinal diversity and taxonomy in the context of contemporary systematic data. *Amer. Journ. Bot.* 91(10): 1494-1507.
- Schneider, C.W. & Searles, R.B. 1976. North Carolina marine algae. VII. New species of *Hypnea* and *Petroglossum* (Rhodophyta, Gigartinales) and additional records of other Rhodophyta. *Phycologia*, 15: 51-60.
- Schenkman, R. P. F. 1980. Biomassa, crescimento, reprodução e ficocolóide de *Hypnea musciformis* (Rhodophyta) no litoral do Estado de São Paulo. *Dissertação de Mestrado*, Instituto de Biociências, USP, 73 p.
- Schenkman, R.P.F. 1986. Cultura de *Hypnea* (Rhodophyta) *in vitro* como subsídio para estudos morfológicos, reprodutivos e taxonômicos. *Tese de Doutorado*. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. 81 pp.
- Selvan, C.T. & Kannan, L., 1990. Effects of manures from seaweeds on rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Tropical Agriculture* 8: 6.
- Setchell, W.A. 1924. American Samoa: Part I. Vegetation of Tutuila Island. Part II. Ethnobotany of the Samoans. Part III. Vegetation of Rose Atoll. *Publications of the Carnegie Institution of Washington*, p. 341.
- Sherwood, A. R. & Presting, C. G. 2007. Universal primers amplify a 23S rDNA plastid marker in eukaryotic algae and cyanobacteria. *Journal of Phycology* 43, 605–608.

- 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* 10:258.
- Silva, P.C., & Johansen, H.W. 1986. A reappraisal of the order Corallinales (Rhodophyceae). *Br. Phycol. J.* 21: 245–254.
- Silva, P.C., Basson, P.W. & Moe, R.L. 1996. Catalogue of the marine algae of the Indian Ocean. *University of California Publications in Botany*, 79: 1–1259.
- Silva, E. P. & Russo, C. 2000. Techniques and statistical data analysis in molecular population genetics. *Hydrobiologia* 420: 119-135.
- Stearn, W.T. 2000. Botanical Latin. 4 ed. Portland, Timber Press.
- Stoeckle, M. 2003. Taxonomy, DNA, and the bar code of life. *BioScience*, 53: 796-797.
- Swofford, D. L. 2002. PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parismony, version 4.08a. *Computer program distributed by the Illinois Natural History Survey*, Champaign, Ill.
- Tamura, N. & Nei, M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol. Biol. Evol.* 10 (3): 512 – 526.
- Tamura, K.; Peterson, D.; Peterson, N.; Stecher, G.; Nei, M. & Kumar, S. 2011. MEGA5: Molecular evolutionary analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol. Biol. Evol.* 28(10): 2731 – 2739.
- Tanaka, T. 1941. The genus *Hypnea* from Japan. Scientific Papers of the Institute of Algological Research, *Faculty of Science Hokkaido University*, 2: 227–250.
- Tsuda, R.T. & Abbott, I.A. 1985. Collecting, Handling, Preservation, and Logistics. In: Littler MM. & Littler DS. (eds.), *Handbook of Phycological Methods*, vol. IV. Ecological Field Methods: Macroalgae. Cambridge/New York: Cambridge University Press, pp. 67-86.
- Villaca, R., Fonseca, A.C., Jensen, V.K. & Knoppers, B. 2010. Species composition and distribution of macroalgae on Atol das Rocas, Brazil, SW Atlantic. *Botanica Marina* 53(2): 113-122.
- Wallner, M.; Lobo, S.; Boccanera, N. & Silva, E.M. 1992. Biomass, carrageenan yield and reproductive state of *Hypnea musciformis* (Rhodophyta: Gigartinales) under natural and experimental cultivated conditions. *Aquaculture Fisheries Manage*, 23: 443-451.
- Wolf, M.A., Sfriso, A., Andreoli, C. and Moro, I. 2011. The presence of exotic *Hypnea flexicaulis* (Rhodophyta) in the Mediterranean Sea as indicated by morphology, rbcL and cox1 analyses *Aquat. Bot.* 95 (1), 55-58.

- Womersley, H. B. S, 1994. The Marine Benthic Flora of Southern Australia. Part III-A. Bangiophyceae and Florideophyceae (Acrochaetiales, Nemaliales, Gelidiales, Hildenbrandiales and Gigartinales *sensu lato*). *Australia: Australian Biological Resources Study Canberra*. 508 pp.
- Worm, B.; Barbier, E.; Beaumont, N.; Duffy, J.; Folke, C.; Halpern, B.; Jackson, J.; Lotze, H.; Micheli, F.; Palumbi, S.; Sala, E.; Selkoe, K.; Stachowicz, J.; Watson, R. 2006. Impacts of biodiversity loss on ocean ecosystem services. *Science* 314: 787 – 790.
- Wynne, M.J. 1995. Benthic marine algae from the Seychelles collected during the R/V *Te Vega* Indian Ocean expedition. *Contr. Univ. Michigan Herb*, 20(2):261-346.
- Wynne, M. J. 1998. A checklist of the benthic marine algae of the tropical and subtropical western Atlantic: first revision. *Nova Hedwigia, Beiheft*, 16 (10): 1-155.
- Wynne, M. J. 2005. A checklist of benthic marine algae of the tropical and subtropical western Atlantic: second revision. *Beiheft. Nova Hedwigia*, 129: 1-152.
- Wynne, M. J. 2011. A checklist of the benthic marine algae of the tropical and subtropical Western Atlantic: third revision. *Beiheft. Nova Hedwigia*, 140: 1-160.
- Yamagishi, Y. & Masuda, M. 1997. Species de *Hypnea* from Japan. In: ABBOTT, I.A. (ed.). *Taxonomy de Economic Seaweeds. Vol. 6*. California Sea Grant College System, La Jolla, p.: 135-162.
- Yamagishi, Y & Masuda, M. 2000. A taxonomic revision of a *Hypnea charoides-valentiae* complex (Rhodophyta, Gigartinales) in Japan, with a description of *Hypnea flexicaulis* sp. Nov.
- Yamagishi, Y., Masuda, M., Abe, T., Uwai, S., Kogami, K., Kawagushi, S. & Phang, S.M. 2003. *Taxonomic Notes on Marine Algae from Malaysia*. XI. Four Species of Rhodophyceae¹.
- Yoon, H.S.; Müller, K.M.; Sheath, R.G.; Ott, D. F. & Bhattacharya, D. 2006. Defining the major lineages of red algae (Rhodophyta). *J. Phycol* 42, 482-492.
- Yoneshigue-Valentin, Y. 1985. Taxonomie et ecologie des algues marines dans la region de Cabo Frio (Rio de Janeiro, Bresil). *Tese de Doutorado - Faculdade dês Sciences de Lumin. L'Universite D'aix – Marseille I*. 466 p.
- Zhemke-White, W.L & Ohno, M. 1999. World seaweed utilization: an end-of-century summary. *Journal of Applied Phycology* 11: 369-376.
- Zuccarello, G.C. & West, J. A. 1997. Hybridization studies in *Bostrychia*. 2: Correlation of crossing data and plastid DNA sequence data within *B. radicans* and *B. moritziana* (Rhodophyta, Ceramiales). *Phycologia* 36: 293-304.

Apêndice I: Listagem detalhada dos dados de coleta das amostras brasileiras obtidas neste trabalho.

Nº IBC	Espécie	Local, Município, Coletor e Data	Estado	GPS	Voucher	cox1	UPA	rbcl
REGIÃO NORDESTE								
IBC0964	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia Peito de Moça. Luíz Correia. R. Petti. 16. I. 2013	PI	2°54'14.51"S/41°32'40.65"O	SPF57638	X	-	-
IBT0802	<i>H.cf. flexicaulis</i>	Dois Coqueiros. Caucáia. L. Soares. 28. VIII. 2011	CE	3°41'08.40"S/38°38'00.18"O	SP365646	X	X	-
IBC0860	<i>H. cervicornis</i>	Praia Ronco do Mar. Paracuru. F. Nauer. 01. VI. 2012	CE	3°24'11.22"S/39°01'30.00"O	SPF57550	X	X	-
IBC0861	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia Ronco do Mar. Paracuru. F. Nauer. 01. VI. 2012	CE	3°24'11.22"S/39°01'30.00"O	SPF57551	X	-	-
IBC0862	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia Ronco do Mar. Paracuru. F. Nauer. 01. VI. 2012	CE	3°24'11.22"S/39°01'30.00"O	SPF57552	X	X	-
IBC0863	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia da Lagoinha. Paraipaba. F. Nauer. 02. VI. 2012	CE	3°20'42.37"S/39°08'09.24"O	SPF57553	X	-	-
IBC0864	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia da Lagoinha. Paraipaba. F. Nauer. 02. VI. 2012	CE	3°20'42.37"S/39°08'09.24"O	SPF57554	X	X	X
IBC0865	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia da Lagoinha. Paraipaba. F. Nauer. 02. VI. 2012	CE	3°20'42.37"S/39°08'09.24"O	SPF57555	X	-	-
IBC0869	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Flecheiras. Trairi. F. Nauer. 03. VI. 2012	CE	3°13'05.62"S/39°16'07.07"O	SPF57556	X	-	-
IBC0870	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Guajiru. Trairi. F. Nauer. 03. VI. 2012	CE	3°13'51.70"S/39°14'38.04"O	SPF57557	X	-	-
IBC0871	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Guajiru. Trairi. F. Nauer. 03. VI. 2012	CE	3°13'51.70"S/39°14'38.04"O	SPF57558	X	-	-
IBC0872	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Guajiru. Trairi. F. Nauer. 03. VI. 2012	CE	3°13'51.70"S/39°14'38.04"O	SPF57559	X	-	-
IBC0875	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Mundaú. Trairi. F. Nauer. 03. VI. 2012	CE	3°10'44.22"S/39°22'21.81"O	SPF57560	X	-	X

IBC0876	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia da Pedra Rachada. Paracuru. F. Nauer. 04. VI. 2012	CE	3°23'57.65"S/39°00'46.49"O	SPF57561	X	-	-
IBC0877	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Ponta Grossa. Icapuí. F. Nauer. 05. VI. 2012	CE	4°37'36.24"S/37°29'57.87"O	SPF57562	X	-	-
IBC0878	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Ponta Grossa. Icapuí. F. Nauer. 05. VI. 2012	CE	4°37'36.24"S/37°29'57.87"O	SPF57563	X	-	-
IBC0879	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia da Lagoa do Mato. Aracati. F. Nauer. 05. VI. 2012	CE	4°37'35.17"S/37°38'10.06"O	SPF57564	X	-	-
IBC0880	<i>H.cf. musciformis</i>	Canoa Quebrada. Aracati. F. Nauer. 05. VI. 2012	CE	4°31'28.62"S/37°41'58.06"O	SPF57565	X	-	-
IBC0881	<i>H. cervicornis</i>	Canoa Quebrada. Aracati. F. Nauer. 05. VI. 2012	CE	4°31'28.62"S/37°41'58.06"O	SPF57566	X	X	X
IBC0882	<i>H. cervicornis</i>	Canoa Quebrada. Aracati. F. Nauer. 05. VI. 2012	CE	4°31'28.62"S/37°41'58.06"O	SPF57567	X	X	-
IBC0883	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Morro Branco. Beberibe. F. Nauer. 06. VI. 2012	CE	4°09'16.08"S/38°06'30.90"O	SPF57568	X	-	-
IBC0884	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia das Fontes. Beberibe. F. Nauer. 06. VI. 2012	CE	4°10'16.24"S/38°05'23.78"O	SPF57569	X	-	-
IBC0734	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Ponta Negra. Natal. M. T. Fuji. 31. VIII. 2011	RN	5°52'55.23"S/35°09'52.39"O	SPF57444	X	-	-
IBC0739	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Ponta Negra. Natal. M.C. Oliveira & E. C. Oliveira. 17. V. 2011	RN	5°52'55.23"S/35°09'52.39"O	SPF57448	X	-	-
IBC0950	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Tabatinga. Nísia Floresta. C. A. Azevedo & R. Menezes. 12. I. 2013	RN	6°04'12.15"S/35°05'51.40"O	SPF57625	X	-	-
IBC0951	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Rio do Fogo. Rio do Fogo. C. A. Azevedo & R. Menezes. 12. I. 2013	RN	5°16'32.90"S/35°22'41.76"O	SPF57626	X	-	-
IBC0952	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Camurupim. Nísia Floresta. C. A. Azevedo & R. Menezes. 12. I. 2013	RN	6°04'12.15"S/35°05'51.40"O	SPF57627	X	-	-

IBC0968	<i>H.cf. flexicaulis</i>	Praia de Rio do Fogo. Rio do Fogo. C. A. Azevedo. 12. I. 2013	RN	5°16'32.90"S/35°22'41.76"O	SPF57641	X	-	-
IBC0969	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Rio do Fogo. Rio do Fogo. C. A. Azevedo. 12. I. 2013	RN	5°16'32.90"S/35°22'41.76"O	SPF57642	X	-	-
IBC0887	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Cabo Branco. João Pessoa. F. Nauer. 18. VII. 2012	PB	7°08'44.75"S/34°48'28.90"O	SPF57570	X	X	-
IBC0888	<i>H. cervicornis</i>	Praia de Carapibus. Conde. F. Nauer & C. A. Azevedo. 19. VII. 2012	PB	7°17'59.63"S/34°47'55.31"O	SPF57571	X	X	-
IBC0889	<i>H. cervicornis</i>	Praia de Carapibus. Conde. F. Nauer & C. A. Azevedo. 19. VII. 2012	PB	7°17'59.63"S/34°47'55.31"O	SPF57572	X	X	-
IBC0890	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Carapibus. Conde. F. Nauer & C. A. Azevedo. 19. VII. 2012	PB	7°17'59.63"S/34°47'55.31"O	SPF57573	X	-	-
IBC0891	<i>H. cervicornis</i>	Praia de Carapibus. Conde. F. Nauer & C. A. Azevedo. 19. VII. 2012	PB	7°17'59.63"S/34°47'55.31"O	SPF57574	X	X	-
IBC0892	<i>H. cervicornis</i>	Praia de Coqueirinhos. Conde. F. Nauer & C. A. Azevedo. 19. VII. 2012	PB	7°19'18.86"S/34°47'52.28"O	SPF57575	X	X	-
IBC0893	<i>H. cervicornis</i>	Praia de Coqueirinhos. Conde. F. Nauer & C. A. Azevedo. 19. VII. 2012	PB	7°19'18.86"S/34°47'52.28"O	SPF57576	X	-	-
IBC0894	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Coqueirinhos. Conde. F. Nauer & C. A. Azevedo. 19. VII. 2012	PB	7°19'18.86"S/34°47'52.28"O	SPF57577	X	X	X
IBC0895	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Tabatinga. Conde. F. Nauer & C. A. Azevedo. 20. VII. 2012	PB	7°19'06.71"S/34°48'04.15"O	SPF57578	-	X	-

IBC0896	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Tabatinga. Conde. F. Nauer & C. A. Azevedo. 20. VII. 2012	PB	7°19'06.71"S/34°48'04.15"O	SPF57579	X	-	-
IBC0897	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Tambaba. Conde. F. Nauer & C. A. Azevedo. 20. VII. 2012	PB	7°21'54.72"S/34°47'52.79"O	SPF57580	X	-	-
IBC0898	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Tambaba. Conde. F. Nauer & C. A. Azevedo. 20. VII. 2012	PB	7°21'54.72"S/34°47'52.79"O	SPF57581	X	-	-
IBC0899	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Tambaba. Conde. F. Nauer & C. A. Azevedo. 20. VII. 2012	PB	7°21'54.72"S/34°47'52.79"O	SPF57582	X	-	-
IBC0900	<i>H. cervicornis</i>	Praia de Tambaba. Conde. F. Nauer & C. A. Azevedo. 20. VII. 2012	PB	7°21'54.72"S/34°47'52.79"O	SPF57583	X	-	-
IBC0901	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Tambaba. Conde. F. Nauer & C. A. Azevedo. 20. VII. 2012	PB	7°21'54.72"S/34°47'52.79"O	SPF57584	X	-	-
IBC0761	<i>H.cf. musciformis</i>	Cabo de Santo Agostinho. Recife. N. S. Yokoya & S. M.P.B. Guimarães. 27. IX. 2011	PE	8°18'13.10"S/34°56'35.99"O	SPF57466	X	X	-
IBC0762	<i>H.cf. musciformis</i>	Cabo de Santo Agostinho. Recife. N. S. Yokoya & S. M.P.B. Guimarães. 27. IX. 2011	PE	8°18'13.10"S/34°56'35.99"O	SPF57467	X	-	-
IBC0763	<i>H.cf. musciformis</i>	Cabo de Santo Agostinho. Recife. N. S. Yokoya & S. M.P.B. Guimarães. 27. IX. 2011	PE	8°18'13.10"S/34°56'35.99"O	SPF57468	X	-	-
IBC0764	<i>H.cf. musciformis</i>	Cabo de Santo Agostinho. Recife. N. S. Yokoya & S. M.P.B. Guimarães. 27. IX. 2011	PE	8°18'13.10"S/34°56'35.99"O	SPF57469	X	-	-
IBC0765	<i>H.cf. musciformis</i>	Cabo de Santo Agostinho. Recife. N. S. Yokoya & S. M.P.B. Guimarães. 27. IX. 2011	PE	8°18'13.10"S/34°56'35.99"O	SPF57470	X	-	-

IBC0766	<i>H.cf. musciformis</i>	Cabo de Santo Agostinho. Recife. N. S. Yokoya & S. M.P.B. Guimarães. 27. IX. 2011	PE	8°18'13.10"S/34°56'35.99"O	SPF57471	X	X	-
IBC0767	<i>H.cf. musciformis</i>	Cabo de Santo Agostinho. Recife. N. S. Yokoya & S. M.P.B. Guimarães. 27. IX. 2011	PE	8°18'13.10"S/34°56'35.99"O	SPF57472	X	X	-
IBC0958	<i>H. cervicornis</i>	Praia de Tamandaré. Tamandaré. D. Pupo. 13.III.2013	PE	8°36'12.37"S/35°02'42.25"O	SPF57633	X	-	-
IBC0959	<i>H. cervicornis</i>	Praia de Tamandaré. Tamandaré. D. Pupo. 13.III.2013	PE	8°36'12.37"S/35°02'42.25"O	SPF57634	X	-	-
IBC0960	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia do Toquinho. Ipojuca. N. S. Yokoya. 13.III.2013	PE	8°36'12.37"S/35°02'42.25"O	SPF57635	X	-	-
IBC0962	<i>H. cervicornis</i>	Praia de Tamandaré. Tamandaré. D. Pupo. 13.III.2013	PE	8°36'12.37"S/35°02'42.25"O	SPF57636	X	-	-
IBC0963	<i>H. cervicornis</i>	Praia de Tamandaré. Tamandaré. D. Pupo. 13.III.2013	PE	8°36'12.37"S/35°02'42.25"O	SPF57637	X	-	-
IBC0970	<i>H.cf. flexicaulis</i>	Praia do Toquinho. Ipojuca. N. S. Yokoya. 14.III.2013	PE	8°36'12.37"S/35°02'42.25"O	SPF57643	X	-	-
IBC0971	<i>H.cf. flexicaulis</i>	Praia do Toquinho. Ipojuca. N. S. Yokoya. 14.III.2013	PE	8°36'12.37"S/35°02'42.25"O	SPF57644	X	-	-
IBC0953	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia do Francês. Marechal Deodoro. T. Vieira-Pinto, C. A. Azevedo & B. Torrano-Silva. 10.III.2013	AL	9°46'07.79"S/35°50'17.44"O	SPF57628	X	-	-
IBC0954	<i>H. cervicornis</i>	Praia do Francês. Marechal Deodoro. T. Vieira-Pinto, C. A. Azevedo & B. Torrano-Silva. 10.III.2013	AL	9°46'07.79"S/35°50'17.44"O	SPF57629	X	-	-
IBC0955	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia do Francês. Marechal Deodoro. T. Vieira-Pinto, C. A. Azevedo & B. Torrano-Silva. 10.III.2013	AL	9°46'07.79"S/35°50'17.44"O	SPF57630	X	-	-

IBC0956	<i>H.cf. flexicaulis</i>	Praia do Francês. Marechal Deodoro. T. Vieira-Pinto, C. A. Azevedo & B. Torrano-Silva. 10.III.2013	AL	9°46'07.79"S/35°50'17.44"O	SPF57631	X	-	-
IBC0957	<i>H. cervicornis</i>	Praia de Jequiá. Jequiá da Praia. T. Vieira-Pinto, C. A. Azevedo & B. Torrano-Silva. 12.III.2013	AL	9°46'07.79"S/35°50'17.44"O	SPF57632	X	-	-
IBC0920	<i>H. cervicornis</i>	Praia de Mutá. Porto Seguro. F. Nauer & C. A. Azevedo. 14. IX. 2012	BA	16°21'19.07"S/39°00'46.95"O	SPF57599	X	X	-
IBC0921	<i>H. cervicornis</i>	Praia de Mutá. Porto Seguro. F. Nauer & C. A. Azevedo. 14. IX. 2012	BA	16°21'19.07"S/39°00'46.95"O	SPF57600	X	X	-
IBC0922	<i>H. spinella</i>	Praia de Mutá. Porto Seguro. F. Nauer & C. A. Azevedo. 14. IX. 2012	BA	16°21'19.07"S/39°00'46.95"O	SPF57601	X	X	-
IBC0923	<i>Hypnea</i> sp. 3	Praia de Mutá. Porto Seguro. F. Nauer & C. A. Azevedo. 14. IX. 2012	BA	16°21'19.07"S/39°00'46.95"O	SPF57602	X	X	X
IBC0925	<i>H. cervicornis</i>	Praia de Mutá. Porto Seguro. F. Nauer & C. A. Azevedo. 14. IX. 2012	BA	16°21'19.07"S/39°00'46.95"O	SPF57603	X	X	-
IBC0926	<i>H.cf. flexicaulis</i>	Praia de Mutá. Porto Seguro. F. Nauer & C. A. Azevedo. 14. IX. 2012	BA	16°21'19.07"S/39°00'46.95"O	SPF57604	X	X	-
IBC0927	<i>H. spinella</i>	Praia de Mutá. Porto Seguro. F. Nauer & C. A. Azevedo. 14. IX. 2012	BA	16°21'19.07"S/39°00'46.95"O	SPF57605	X	X	-
IBC0928	<i>Hypnea</i> sp. 3	Praia de Mutá. Porto Seguro. F. Nauer & C. A. Azevedo. 14. IX. 2012	BA	16°21'19.07"S/39°00'46.95"O	SPF57606	X	X	-
IBC0929	<i>H. cervicornis</i>	Praia de Mutá. Porto Seguro. F. Nauer & C. A. Azevedo. 14. IX. 2012	BA	16°21'19.07"S/39°00'46.95"O	SPF57607	X	X	-

IBC0930	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Coroa Vermelha. Santa Cruz de Cabralia. F. Nauer & C. A. Azevedo. 15. IX. 2012	BA	16°19'57.02''S/39°00'13.59''O	SPF57608	X	X	X
IBC0931	<i>H.cf. stellulifera</i>	Praia de Coroa Vermelha. Santa Cruz de Cabralia. F. Nauer & C. A. Azevedo. 15. IX. 2012	BA	16°19'57.02''S/39°00'13.59''O	SPF57609	X	X	-
IBC0932	<i>H.cf. stellulifera</i>	Praia de Coroa Vermelha. Santa Cruz de Cabralia. F. Nauer & C. A. Azevedo. 15. IX. 2012	BA	16°19'57.02''S/39°00'13.59''O	SPF57610	-	X	-
IBC0933	<i>H.cf. stellulifera</i>	Praia de Coroa Vermelha. Santa Cruz de Cabralia. F. Nauer & C. A. Azevedo. 15. IX. 2012	BA	16°19'57.02''S/39°00'13.59''O	SPF57611	X	X	-
IBC0934	<i>H.cf. stellulifera</i>	Praia de Coroa Vermelha. Santa Cruz de Cabralia. F. Nauer & C. A. Azevedo. 15. IX. 2012	BA	16°19'57.02''S/39°00'13.59''O	SPF57612	-	X	-
IBC0935	<i>H.cf. stellulifera</i>	Praia de Coroa Vermelha. Santa Cruz de Cabralia. F. Nauer & C. A. Azevedo. 15. IX. 2012	BA	16°19'57.02''S/39°00'13.59''O	SPF57613	X	X	-
IBC0936	<i>H.cf. stellulifera</i>	Praia de Coroa Vermelha. Santa Cruz de Cabralia. F. Nauer & C. A. Azevedo. 15. IX. 2012	BA	16°19'57.02''S/39°00'13.59''O	SPF57614	X	X	-
IBC0937	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Coroa Vermelha. Santa Cruz de Cabralia. F. Nauer & C. A. Azevedo. 15. IX. 2012	BA	16°19'57.02''S/39°00'13.59''O	SPF57615	X	X	-
IBC0938	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Coroa Vermelha. Santa Cruz de Cabralia. F. Nauer & C. A. Azevedo. 15. IX. 2012	BA	16°19'57.02''S/39°00'13.59''O	SPF57616	X	X	-
IBC0939	<i>H.cf. stellulifera</i>	Praia de Coroa Vermelha. Santa Cruz de Cabralia. F. Nauer & C. A. Azevedo. 15. IX. 2012	BA	16°19'57.02''S/39°00'13.59''O	SPF57617	X	-	X
IBC0940	<i>H.cf. musciformis</i>	Ponta Grande. Porto Seguro. F. Nauer & C. A. Azevedo. 16. IX. 2012	BA	16°22'33.05''S/39°00'33.86''O	SPF57618	X	-	-

IBC0941	<i>H. cervicornis</i>	Ponta Grande. Porto Seguro. F. Nauer & C. A. Azevedo. 16. IX. 2012	BA	16°22'33.05''S/39°00'33.86''O	SPF57619	X	-	-
IBC0942	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia da Tartaruga. Santa Cruz de Cabralia. F. Nauer & C. A. Azevedo. 17. IX. 2012	BA	16°13'42.83''S/39°59'51.70''O	SPF57620	X	-	-
IBC0943	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Guaiú. Santa Cruz de Cabralia. F. Nauer & C. A. Azevedo. 17. IX. 2012	BA	16°09'22.85''S/38°56'53.80''O	SPF57621	X	-	-
IBC0944	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Guaiú. Santa Cruz de Cabralia. F. Nauer & C. A. Azevedo. 17. IX. 2012	BA	16°09'22.85''S/38°56'53.80''O	SPF57622	X	-	-
IBC0945	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Apuã. Santa Cruz de Cabralia. F. Nauer & C. A. Azevedo. 17. IX. 2012	BA	16°16'56.48''S/39°01'15.62''O	SPF57623	X	-	-
IBC0947	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Mucugê. Arraial D'Ajuda. F. Nauer & C. A. Azevedo. 18. IX. 2012	BA	16°30'09.69''S/39°04'17.62''O	SPF57624	X	-	-

REGIÃO SUDESTE

IBC0830	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia dos Castelhanos. Anchieta. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 05. V. 2012	ES	20°50'04.18''S/40°37'21.57''O	SPF57521	X	-	-
IBC0831	<i>H. cervicornis</i>	Praia dos Castelhanos. Anchieta. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 05. V. 2012	ES	20°50'04.18''S/40°37'21.57''O	SPF57522	X	-	-
IBC0832	<i>H. spinella</i>	Praia dos Castelhanos. Anchieta. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 05. V. 2012	ES	20°50'04.18''S/40°37'21.57''O	SPF57523	X	-	X

IBC0833	<i>H.cf. flexicaulis</i>	Praia de Parati. Anchieta. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 05. V. 2012	ES	20°48'22.34"S/40°36'28.73"O	SPF57524	X	X	-
IBC0834	<i>H.cf. flexicaulis</i>	Praia de Parati. Anchieta. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 05. V. 2012	ES	20°48'22.34"S/40°36'28.73"O	SPF57525	X	-	-
IBC0835	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Itaoca. Itapemirim. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 06. V. 2012	ES	20°54'20.32"S/40°46'42.72"O	SPF57526	X	-	X
IBC0837	<i>H. spinella</i>	Praia do Aghá. Piúma. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 06. V. 2012	ES	20°52'39.09"S/40°45'35.88"O	SPF57527	X	-	-
IBC0838	<i>H. cervicornis</i>	Praia do Aghá. Piúma. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 06. V. 2012	ES	20°52'39.09"S/40°45'35.88"O	SPF57528	X	-	X
IBC0839	<i>H. cervicornis</i>	Praia do Aghá. Piúma. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 06. V. 2012	ES	20°52'39.09"S/40°45'35.88"O	SPF57529	X	-	-
IBC0840	<i>H.cf. musciformis</i>	Ponta das Raias. Marataízes. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 07. V. 2012	ES	21°01'57.43"S/40°48'44.43"O	SPF57530	X	-	-
IBC0841	<i>H.cf. musciformis</i>	Ponta das Raias. Marataízes. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 07. V. 2012	ES	21°01'57.43"S/40°48'44.43"O	SPF57531	X	-	-
IBC0842	<i>Hypnea</i> sp.2	Praia da Cruz. Marataízes. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 07. V. 2012	ES	21°02'01.68"S/40°48'45.51"O	SPF57532	X	X	X
IBC0843	<i>H. cervicornis</i>	Praia da Cruz. Marataízes. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 07. V. 2012	ES	21°02'01.68"S/40°48'45.51"O	SPF57533	X	X	-
IBC0844	<i>H. spinella</i>	Praia da Cruz. Marataízes. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 07. V. 2012	ES	21°02'01.68"S/40°48'45.51"O	SPF57534	X	X	-

IBC0845	<i>H. spinella</i>	Praia da Cruz. Marataízes. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 07. V. 2012	ES	21°02'01.68"S/40°48'45.51"O	SPF57535	X	X	-
IBC0846	<i>H. cervicornis</i>	Praia da Cruz. Marataízes. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 07. V. 2012	ES	21°02'01.68"S/40°48'45.51"O	SPF57536	X	-	-
IBC0847	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Setiba. Guarapari. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 08. V. 2012	ES	20°38'06.83"S/40°26'13.25"O	SPF57537	X	-	-
IBC0848	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia dos Namorados. Guarapari. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 08. V. 2012	ES	20°40'19.65"S/40°29'47.22"O	SPF57538	X	X	-
IBC0849	<i>H. spinella</i>	Praia dos Namorados. Guarapari. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 08. V. 2012	ES	20°40'19.65"S/40°29'47.22"O	SPF57539	X	-	-
IBC0850	<i>H. cervicornis</i>	Praia dos Namorados. Guarapari. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 08. V. 2012	ES	20°40'19.65"S/40°29'47.22"O	SPF57540	X	-	-
IBC0851	<i>Hypnea</i> sp.1	Praia dos Namorados. Guarapari. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 08. V. 2012	ES	20°40'19.65"S/40°29'47.22"O	SPF57541	X	X	X
IBC0852	<i>H. spinella</i>	Enseada dos Padres. Meaípe. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 09. V. 2012	ES	20°44'17.94"S/40°32'23.36"O	SPF57542	X	-	-
IBC0853	<i>H. spinella</i>	Enseada dos Padres. Meaípe. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 09. V. 2012	ES	20°44'17.94"S/40°32'23.36"O	SPF57543	X	-	-
IBC0854	<i>H. spinella</i>	Enseada Azul. Meaípe. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 09. V. 2012	ES	20°43'47.63"S/40°31'25.61"O	SPF57544	X	-	-
IBC0855	<i>H. spinella</i>	Enseada Azul. Meaípe. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 09. V. 2012	ES	20°43'47.63"S/40°31'25.61"O	SPF57545	X	-	-

IBC0856	<i>H. cervicornis</i>	Enseada Azul. Meaípe. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 09. V. 2012	ES	20°43'47.63''S/40°31'25.61''O	SPF57546	X	X	-
IBC0857	<i>H. cervicornis</i>	Enseada Azul. Meaípe. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 09. V. 2012	ES	20°43'47.63''S/40°31'25.61''O	SPF57547	X	-	-
IBC0858	<i>H. spinella</i>	Enseada Azul. Meaípe. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 09. V. 2012	ES	20°43'47.63''S/40°31'25.61''O	SPF57548	X	-	-
IBC0859	<i>H. spinella</i>	Enseada Azul. Meaípe. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 09. V. 2012	ES	20°43'47.63''S/40°31'25.61''O	SPF57549	X	-	-
IBC0700	<i>H. cervicornis</i>	Prainhas do Atalaia. Arraial do Cabo. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 28. IX. 2011	RJ	22°59'17.09''S/42°00'46.14''O	SPF57415	X	-	-
IBC0701	<i>H.cf. flexicaulis</i>	Prainhas do Atalaia. Arraial do Cabo. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 28. IX. 2011	RJ	22°59'17.09''S/42°00'46.14''O	SPF57416	-	X	-
IBC0702	<i>H.cf. musciformis</i>	Prainhas do Atalaia. Arraial do Cabo. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 28. IX. 2011	RJ	22°59'17.09''S/42°00'46.14''O	SPF57417	X	X	-
IBC0703	<i>H.cf. flexicaulis</i>	Ilha do Farol. Arraial do Cabo. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 28. IX. 2011	RJ	22°59'55.15''S/42°00'11.13''O	SPF57418	X	X	-
IBC0704	<i>H.cf. flexicaulis</i>	Ilha do Farol. Arraial do Cabo. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 28. IX. 2011	RJ	22°59'55.15''S/42°00'11.13''O	SPF57419	X	-	-
IBC0705	<i>H.cf. flexicaulis</i>	Ilha do Farol. Arraial do Cabo. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 28. IX. 2011	RJ	22°59'55.15''S/42°00'11.13''O	SPF57420	-	X	-
IBC0707	<i>H. cervicornis</i>	Praia do Forno. Arraial do Cabo. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 28. IX. 2011.	RJ	22°58'05.66''S/42°00'57.56''O	SPF57422	X	X	-

IBC0708	<i>H. spinella</i>	Praia do Forno. Arraial do Cabo. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 29. IX. 2011	RJ	22°58'05.66"S/42°00'57.56"O	SPF57423	X	-	-
IBC0709	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia do Forno. Arraial do Cabo. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 25. IX. 2011	RJ	22°57'22.06"S/42°01'36.30"O	SPF57424	X	-	-
IBC0711	<i>H. cervicornis</i>	Praia do Forno. Búzios. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 25. IX. 2011	RJ	22°45'42.56"S/41°52'29.11"O	SPF57425	-	X	-
IBC0712	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia do Forno. Búzios. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 25. IX. 2011	RJ	22°45'42.56"S/41°52'29.11"O	SPF57426	X	X	-
IBC0713	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia do Forno. Búzios. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 25. IX. 2011	RJ	22°45'42.56"S/41°52'29.11"O	SPF57427	X	X	-
IBC0714	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia do Forno. Búzios. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 25. IX. 2011	RJ	22°45'42.56"S/41°52'29.11"O	SPF57428	X	X	-
IBC0715	<i>H. cervicornis</i>	Praia da Ferradura. Búzios. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 25. IX. 2011	RJ	22°46'09.62"S/41°52'59.81"O	SPF57429	X	X	-
IBC0716	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia da Ferradura. Búzios. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 25. IX. 2011	RJ	22°46'09.62"S/41°52'59.81"O	SPF57430	X	X	-
IBC0717	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia da Ferradura. Búzios. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 25. IX. 2011	RJ	22°46'09.62"S/41°52'59.81"O	SPF57431	X	X	-
IBC0718	<i>H. cervicornis</i>	Praia da Ferradura. Búzios. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 25. IX. 2011	RJ	22°46'09.62"S/41°52'59.81"O	SPF57432	X	X	-
IBC0719	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia da Ferradura. Búzios. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 25. IX. 2011	RJ	22°46'09.62"S/41°52'59.81"O	SPF57433	-	X	-

IBC0721	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia Azedinha. Búzios. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 26. IX. 2011	RJ	22°44'28.94"S/41°52'55.38"O	SPF57434	-	X	-
IBC0723	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia Brava. Búzios. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 27. IX. 2011	RJ	22°45'14.35"S/41°52'24.45"O	SPF57435	X	X	-
IBC0724	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia Brava. Búzios. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 27. IX. 2011	RJ	22°45'14.35"S/41°52'24.45"O	SPF57436	X	X	-
IBC0725	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia Brava. Búzios. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 27. IX. 2011	RJ	22°45'14.35"S/41°52'24.45"O	SPF57437	X	X	-
IBC0726	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia Brava. Búzios. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 27. IX. 2011	RJ	22°45'14.35"S/41°52'24.45"O	SPF57438	X	X	-
IBC0727	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia João Fernandes. Búzios. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 27. IX. 2011	RJ	22°44'27.27"S/41°52'25.81"O	SPF57439	X	X	-
IBC0728	<i>Hypnea spinella</i>	Praia João Fernandes. Búzios. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 27. IX. 2011	RJ	22°44'27.27"S/41°52'25.81"O	SPF57440	X	-	-
IBC0729	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia João Fernandes. Búzios. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 27. IX. 2011	RJ	22°44'27.27"S/41°52'25.81"O	SPF57431	X	X	-
IBC0730	<i>H.cf. flexicaulis</i>	Praia João Fernandes. Búzios. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 27. IX. 2011	RJ	22°44'27.27"S/41°52'25.81"O	SPF57432	X	-	-
IBC0776	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia do Carro. Saco do Mamanguá. Paraty. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 10. XII. 2011	RJ	23°14'21.95"S/44°37'06.85"O	SPF57476	X	-	-
IBC0777	<i>Hypnea</i> sp.1	Praia do Carro. Saco do Mamanguá. Paraty. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 10. XII. 2011	RJ	23°14'21.95"S/44°37'06.85"O	SPF57477	X	X	-

IBC0778	<i>H.cf. musciformis</i>	Ponta do Costa. Saco do Mamanguá. Paraty. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 10. XII. 2011	RJ	23°15'32.17"S/44°37'16.67"O	SPF57478	X	X	-
IBC0779	<i>Hypnea</i> sp.1	Ponta do Costa. Saco do Mamanguá. Paraty. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 10. XII. 2011	RJ	23°15'32.17"S/44°37'16.67"O	SPF57479	X	-	-
IBC0781	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Itaoca. Pouso da Cajaíba. Paraty. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 11. XII. 2011	RJ	23°16'11.50"S/44°34'29.07"O	SPF57480	X	-	-
IBC0782	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Itaoca. Pouso da Cajaíba. Paraty. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 11. XII. 2011	RJ	23°16'11.50"S/44°34'29.07"O	SPF57481	X	X	-
IBC0783	<i>H. cervicornis</i>	Praia de Itaoca. Pouso da Cajaíba. Paraty. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 11. XII. 2011	RJ	23°16'11.50"S/44°34'29.07"O	SPF57482	X	-	-
IBC0784	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Itaoca. Pouso da Cajaíba. Paraty. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 11. XII. 2011	RJ	23°16'11.50"S/44°34'29.07"O	SPF57483	X	-	-
IBC0785	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia Grande. Pouso da Cajaíba. Paraty. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 11. XII. 2011	RJ	23°15'49.31"S/44°35'04.43"O	SPF57484	X	X	-
IBC0786	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia Grande. Pouso da Cajaíba. Paraty. F. Nauer, C. Iha & B. Torrano-Silva. 11. XII. 2011	RJ	23°15'49.31"S/44°35'04.43"O	SPF57485	X	-	-
IBC0820	<i>H. cervicornis</i>	Ilha Grande. Angra dos Reis. F. Nauer. 18. IV. 2012	RJ	23°10'48.23"S/44°20'36.00"O	SPF57512	X	-	-
IBC0822	<i>Hypnea</i> sp. 3	Ilha Grande. Angra dos Reis. F. Nauer. 18. IV. 2012	RJ	23°10'48.23"S/44°20'36.00"O	SPF57513	X	-	-
IBC0823	<i>Hypnea</i> sp. 3	Ilha Grande. Angra dos Reis. F. Nauer. 18. IV. 2012	RJ	23°10'48.23"S/44°20'36.00"O	SPF57514	X	-	X
IBC0824	<i>Hypnea</i> sp. 4	Ilha Grande. Angra dos Reis. F. Nauer. 18. IV. 2012	RJ	23°10'48.23"S/44°20'36.00"O	SPF57515	X	X	X
IBC0825	<i>Hypnea</i> sp. 4	Ilha Grande. Angra dos Reis. F. Nauer. 18. IV. 2012	RJ	23°10'48.23"S/44°20'36.00"O	SPF57516	X	X	-

IBC0826	<i>H. cervicornis</i>	Ilha Grande. Angra dos Reis. F. Nauer. 19. IV. 2012	RJ	23°10'48.23''S/44°20'36.00''O	SPF57517	X	-	-
IBC0827	<i>H. cervicornis</i>	Ilha Grande. Angra dos Reis. F. Nauer. 19. IV. 2012	RJ	23°10'48.23''S/44°20'36.00''O	SPF57518	X	-	-
IBC0828	<i>Hypnea</i> sp. 3	Ilha Grande. Angra dos Reis. F. Nauer. 18. IV. 2012	RJ	23°10'48.23''S/44°20'36.00''O	SPF57519	X	X	-
IBC0829	<i>Hypnea</i> sp. 3	Ilha Grande. Angra dos Reis. F. Nauer. 19. IV. 2012	RJ	23°10'48.23''S/44°20'36.00''O	SPF57520	X	-	-
IBC0731	<i>H.cf. musciformis</i>	Ilha das Palmas. Ubatuba. A. Medeiros, C. Iha & B. Torrano-Silva. 29.VIII.2011	SP	23°32'45.30''S/45°01'44.85''O	SPF57441	X	-	X
IBC0732	<i>H.cf. musciformis</i>	Ilha das Cabras. Ubatuba. A. Medeiros, C. Iha & B. Torrano-Silva. 30.VIII.2011	SP	23°31'01.41''S/45°02'29.36''O	SPF57442	X	-	-
IBC0733	<i>H.cf. flexicaulis</i>	Ilha das Cabras. Ubatuba. A. Medeiros, C. Iha & B. Torrano-Silva. 30.VIII.2011	SP	23°31'01.41''S/45°02'29.36''O	SPF57443	X	-	X
IBT0083	<i>H. spinella</i>	Praia Brava. Ubatuba. M. T. Fujii. 16. VI. 2007	SP	23°30'14.22''S/45°10'22.78''O		X	X	X
IBC0768	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia da Lagoinha. Ubatuba. F. Nauer & F. Kino. 22. X. 2011	SP	23°31'20.35''S/45°11'26.65''O	SPF57473	X	-	-
IBC0735	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia das Cigarras. São Sebastião. L. Ayres. 16. VI. 2011	SP	23°43'41.38''S/45°23'53.84''O	SPF57445	X	X	-
IBC0771	<i>H. cervicornis</i>	Saco do Oratório. Alcatrazes. São Sebastião. M. C. Oliveira & B. Torrano-Silva. 26. X. 2011	SP	24 J 0428569/7334073	SPF57474	X	-	-
IBC0772	<i>H. cervicornis</i>	Saco do Oratório. Alcatrazes. São Sebastião. M. C. Oliveira & B. Torrano-Silva. 26. X. 2011	SP	27 J 0428569/7334073	SPF57475	X	-	-
IBT0069	<i>H. cervicornis</i>	Praia de Jabaquara. Ilha Bela. M. T. Fujii. 20. V. 2008	SP	23°44'07.14''S/45°17'36.48''O	SP365640	X	-	-
IBT0070	<i>H. cervicornis</i>	Praia de Jabaquara. Ilha Bela. M. T. Fujii. 20. V. 2008	SP	23°44'07.14''S/45°17'36.48''O	SP365641	X	-	-

IBT0073	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Jabaquara. Ilha Bela. M. T. Fujii. 20. V. 2008	SP	23°44'07.14"S/45°17'36.48"O	SP365649	X	X	-
IBC0253	<i>H. cervicornis</i>	Ilha da Queimada Grande. Itanhaém. F. Nauer & C. Iha. 02. V. 2011	SP	24°29'21.29"S/46°40'34.62"O	SPF57506	X	-	X
IBC0254	<i>H. cervicornis</i>	Ilha da Queimada Grande. Itanhaém. F. Nauer & C. Iha. 02. V. 2011	SP	24°29'21.29"S/46°40'34.62"O	SPF57507	X	X	X
IBC0255	<i>H. cervicornis</i>	Ilha da Queimada Grande. Itanhaém. F. Nauer & C. Iha. 02. V. 2011	SP	24°29'21.29"S/46°40'34.62"O	SPF57508	X	X	-
IBC0256	<i>H. cervicornis</i>	Ilha da Queimada Grande. Itanhaém. F. Nauer & C. Iha. 02. V. 2011	SP	24°29'21.29"S/46°40'34.62"O	SPF57509	X	X	-
IBT0112	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Cibratel. Itanhaém. M. T. Fujii. 30. X. 2001	SP	24°12'05.68"S/46°48'38.72"O	SP365670	X	X	-
IBT0134	<i>H. spinella</i>	Praia de Cibratel. Itanhaém. N. S. Yokoya. 30. X. 2001	SP	24°12'05.68"S/46°48'38.72"O	SP365680	-	X	-
IBT0747	<i>Hypnea</i> sp. 3	Calhaus. Laje de Santos. Santos. R. Rocha-Jorge. 24. II. 2011	SP	24°17'23.02"S/46°12'00.58"O	SP365689	X	-	X
IBT0159	<i>H. spinella</i>	Praia do Éden. Guarujá. M.T. Fujii & N.S.Yokoya. 03. VIII. 2004	SP	23°59'05.10"S/46°11'11.64"O	SP36580	-	X	-
IBC0741	<i>H. cervicornis</i>	Praia Branca. Guarujá. F. Nauer, A. Medeiros & C. Iha. 11. IX. 2011	SP	23°52'17.77"S/46°08'13.05"O	SPF57449	X	X	-
IBC0742	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia Branca. Guarujá. F. Nauer, A. Medeiros & C. Iha. 11. IX. 2011	SP	23°52'17.77"S/46°08'13.05"O	SPF57450	-	X	-
IBC0743	<i>H. cervicornis</i>	Praia Branca. Guarujá. F. Nauer, A. Medeiros & C. Iha. 11. IX. 2011	SP	23°52'17.77"S/46°08'13.05"O	SPF57451	X	X	-

IBC0744	<i>H. cervicornis</i>	Praia Branca. Guarujá. F. Nauer, A. Medeiros & C. Iha. 11. IX. 2011	SP	23°52'17.77"S/46°08'13.05"O	SPF57452	X	X	-
IBC0745	<i>H. cervicornis</i>	Praia Branca. Guarujá. F. Nauer, A. Medeiros & C. Iha. 11. IX. 2011	SP	23°52'17.77"S/46°08'13.05"O	SPF57453	X	X	-
IBC0746	<i>Hypnea</i> sp.2	Praia do Éden. Guarujá. F. Nauer, A. Medeiros & C. Iha. 12. IX. 2011	SP	23°59'05.10"S/46°11'11.64"O	SPF57454	X	X	-
IBC0747	<i>H. cervicornis</i>	Praia do Éden. Guarujá. F. Nauer, A. Medeiros & C. Iha. 12. IX. 2011	SP	23°59'05.10"S/46°11'11.64"O	SPF57455	X	X	-
IBC0748	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia do Éden. Guarujá. F. Nauer, A. Medeiros & C. Iha. 12. IX. 2011	SP	23°59'05.10"S/46°11'11.64"O	SPF57456	X	X	-
IBC0749	<i>H. cervicornis</i>	Praia do Éden. Guarujá. F. Nauer, A. Medeiros & C. Iha. 12. IX. 2011	SP	23°59'05.10"S/46°11'11.64"O	SPF57457	X	X	-
IBC0750	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia do Éden. Guarujá. F. Nauer, A. Medeiros & C. Iha. 12. IX. 2011	SP	23°59'05.10"S/46°11'11.64"O	SPF57458	X	-	-
IBC0751	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia do Éden. Guarujá. F. Nauer, A. Medeiros & C. Iha. 12. IX. 2011	SP	23°59'05.10"S/46°11'11.64"O	SPF57459	X	X	-
IBC0905	<i>H. cervicornis</i>	Praia do Viana. Ilha Bela. B. R. Vieira & B. Torrano-Silva. 03. VIII. 2012	SP	23°45'30.17"S/45°21'04.31"O	SPF57586	X	-	-
IBC0906	<i>Hypnea</i> sp.2	Praia de Pacuíba. Ilha Bela. B. R. Vieira & B. Torrano-Silva. 03. VIII. 2012	SP	23°45'35.80"S/45°20'56.83"O	SPF57587	X	-	-
IBC0908	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia do Julião. Ilha Bela. B. R. Vieira & B. Torrano-Silva. 03. VIII. 2012	SP	23°51'18.57"S/45°24'53.57"O	SPF57588	X	-	-

IBC0909	<i>H. spinella</i>	Praia do Pinto. Ilha Bela. B. R. Vieira & B. Torrano-Silva. 03. VIII. 2012	SP	23°44'25.11"S/45°20'51.54"O	SPF57589	X	-	-
IBC0910	<i>Hypnea</i> sp.1	Praia do Pinto. Ilha Bela. B. R. Vieira & B. Torrano-Silva. 03. VIII. 2012	SP	23°44'25.11"S/45°20'51.54"O	SPF57590	X	-	-
IBC0912	<i>H. cervicornis</i>	Praia do Pinto. Ilha Bela. B. R. Vieira & B. Torrano-Silva. 03. VIII. 2012	SP	23°44'25.11"S/45°20'51.54"O	SPF57591	X	-	-
IBC0965	<i>H.cf. flexicaulis</i>	Ilha das Couves. Ubatuba. N.S.Yokoya. 07. V. 2009	SP	23°32'54.78"S/45°01'57.17"O	SPF57639	X	-	-
IBC0966	<i>H.cf. flexicaulis</i>	Ilha das Couves. Ubatuba. N.S.Yokoya. 07. V. 2009	SP	23°32'54.78"S/45°01'57.17"O	SPF57640	X	-	-
REGIÃO SUL								
IBC0755	<i>H.cf. musciformis</i>	Prainha. Florianópolis. M. C. Oliveira & E. C. Oliveira. 11. X. 2011	SC	27°34'36.20"S / 48°25'14.51"O	SPF57460	X	X	-
IBC0756	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia do Molhe. Florianópolis. M. C. Oliveira & E. C. Oliveira. 11. X. 2011	SC	27°34'25.64"S / 48°25'21.27"O	SPF57461	X	X	-
IBC0757	<i>H.cf. musciformis</i>	Prainha. Florianópolis. M. C. Oliveira & E. C. Oliveira. 11. X. 2011	SC	27°34'25.25"S / 48°25'16.30"O	SPF57462	X	X	-
IBC0758	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia do Molhe. Florianópolis. M. C. Oliveira & E. C. Oliveira. 11. X. 2011	SC	27°34'25.64"S / 48°25'21.27"O	SPF57463	X	X	-
IBC0759	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia do Molhe. Florianópolis. M. C. Oliveira & E. C. Oliveira. 11. X. 2011	SC	27°34'25.64"S / 48°25'21.27"O	SPF57464	X	X	-

IBC0789	<i>H. spinella</i>	Ilha do Xavier. Florianópolis. F. Nauer, C. Azevedo, M. Sissini & B. Torrano-Silva. 24. II. 2012	SC	27°36'35.02"S / 48°23'10.32"O	SPF57486	X	X	X
IBC0790	<i>H. spinella</i>	Ilha do Xavier. Florianópolis. F. Nauer, C. Azevedo, M. Sissini & B. Torrano-Silva. 24. II. 2012	SC	27°36'35.02"S / 48°23'10.32"O	SPF57487	X	X	-
IBC0791	<i>Hypnea</i> sp. 3	Ilha do Arvoredo. Governador Celso Ramos. F. Nauer, C. Azevedo, M. Sissini & B. Torrano-Silva. 25. II. 2012	SC	27°17'19.49"S / 48°22'05.95"O	SPF57488	X	X	-
IBC0792	<i>H. cervicornis</i>	Ilha do Arvoredo. Governador Celso Ramos. F. Nauer, C. Azevedo, M. Sissini & B. Torrano-Silva. 25. II. 2012	SC	27°17'19.49"S / 48°22'05.95"O	SPF57489	X	X	-
IBC0793	<i>H. cervicornis</i>	Ilha do Arvoredo. Governador Celso Ramos. F. Nauer, C. Azevedo, M. Sissini & B. Torrano-Silva. 25. II. 2012	SC	27°17'19.49"S / 48°22'05.95"O	SPF57490	X	-	-
IBC0794	<i>H. cervicornis</i>	Ilha do Arvoredo. Governador Celso Ramos. F. Nauer, C. Azevedo, M. Sissini & B. Torrano-Silva. 25. II. 2012	SC	27°17'19.49"S / 48°22'05.95"O	SPF57491	X	X	-
IBC0795	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia da Armação. Florianópolis. F. Nauer, C. Azevedo, M. Sissini & B. Torrano-Silva. 26. II. 2012	SC	27°44'58.70"S / 48°30'00.12"O	SPF57492	X	X	-
IBC0796	<i>H. cervicornis</i>	Praia do Sambaqui. Florianópolis. F. Nauer, C. Azevedo, M. Sissini & B. Torrano-Silva. 26. II. 2012	SC	27°29'24.55"S / 48°32'18.89"O	SPF57493	X	X	-
IBC0797	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia do Sambaqui. Florianópolis. F. Nauer, C. Azevedo, M. Sissini & B. Torrano-Silva. 26. II. 2012	SC	27°29'24.55"S / 48°32'18.89"O	SPF57494	X	-	-
IBC0798	<i>H. cervicornis</i>	Praia do Sambaqui. Florianópolis. F. Nauer, C. Azevedo, M. Sissini & B. Torrano-Silva. 26. II. 2012	SC	27°29'24.55"S / 48°32'18.89"O	SPF57495	X	-	-
IBC0799	<i>H.cf. musciformis</i>	Ponta das Canas. Florianópolis. F. Nauer, C. Azevedo, M. Sissini & B. Torrano-Silva. 26. II. 2012	SC	27°23'38.79"S / 48°26'08.75"O	SPF57496	X	-	X

IBC0800	<i>H.cf. musciformis</i>	Ponta das Canas. Florianópolis. F. Nauer, C. Azevedo, M. Sissini & B. Torrano-Silva. 26. II. 2012	SC	27°23'38.79"S / 48°26'08.75"O	SPF57497	X	-	-
IBC0801	<i>H.cf. flexicaulis</i>	Ponta das Canas. Florianópolis. F. Nauer, C. Azevedo, M. Sissini & B. Torrano-Silva. 26. II. 2012	SC	27°23'38.79"S / 48°26'08.75"O	SPF57498	X	-	-
IBC0802	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Palmas. Governador Celso Ramos. F. Nauer, C. Azevedo, M. Sissini & B. Torrano-Silva. 27. II. 2012	SC	27°18'47.90"S / 48°32'23.01"O	SPF57499	X	-	-
IBC0803	<i>H.cf. flexicaulis</i>	Praia de Palmas. Governador Celso Ramos. F. Nauer, C. Azevedo, M. Sissini & B. Torrano-Silva. 27. II. 2012	SC	27°18'47.90"S / 48°32'23.01"O	SPF57500	X	-	-
IBC0804	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Palmas. Governador Celso Ramos. F. Nauer, C. Azevedo, M. Sissini & B. Torrano-Silva. 27. II. 2012	SC	27°18'47.90"S / 48°32'23.01"O	SPF57501	X	-	-
IBC0805	<i>H.cf. musciformis</i>	Ganchos de Fora. Governador Celso Ramos. F. Nauer, C. Azevedo, M. Sissini & B. Torrano-Silva. 27. II. 2012	SC	27°18'21.82"S / 48°32'49.83"O	SPF57502	X	-	-
IBC0806	<i>H. cervicornis</i>	Ganchos de Fora. Governador Celso Ramos. F. Nauer, C. Azevedo, M. Sissini & B. Torrano-Silva. 27. II. 2012	SC	27°18'21.82"S / 48°32'49.83"O	SPF57503	X	-	-
IBC0807	<i>H.cf. musciformis</i>	Canto dos Ganchos. Governador Celso Ramos. 27. II. 2012	SC	27°18'46.30"S / 48°34'41.93"O	SPF57504	X	-	-
IBC0808	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Laranjeiras. Balneário Camburiu. F. Nauer, C. Azevedo & B. Torrano-Silva. 28. II. 2012	SC	27°18'46.30"S / 48°34'41.93"O	SPF57505	X	-	-
IBC0809	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Laranjeiras. Balneário Camburiu. F. Nauer, C. Azevedo & B. Torrano-Silva. 28. II. 2012	SC	27°59'47.31"S / 48°35'39.02"O	SPF57506	X	-	-
IBC0810	<i>H.cf. musciformis</i>	Praia de Laranjeiras. Balneário Camburiu. F. Nauer, C. Azevedo & B. Torrano-Silva. 28. II. 2012	SC	27°59'47.31"S / 48°35'39.02"O	SPF57507	X	-	-

IBC0811	<i>H.cf. flexicaulis</i>	Taquáras. Balneário Camburiu. F. Nauer, C. Azevedo & B. Torrano-Silva. 28. II. 2012	SC	27°00'39.04"S / 48°34'41.79"O	SPF57508	X	-	-
IBC0812	<i>H.cf. flexicaulis</i>	Taquáras. Balneário Camburiu. F. Nauer, C. Azevedo & B. Torrano-Silva. 28. II. 2012	SC	27°00'39.04"S / 48°34'41.79"O	SPF57509	X	X	-
IBC0813	<i>H.cf. musciformis</i>	Bombas. Bombinhas. F. Nauer, C. Azevedo & B. Torrano-Silva. 28. II. 2012	SC	27°08'42.44"S / 48°29'57.47"O	SPF57510	X	X	-
IBC0814	<i>H. cervicornis</i>	Praia da Sepultura. Bombinhas. F. Nauer, C. Azevedo & B. Torrano-Silva. 28. II. 2012	SC	27°08'29.75"S / 48°28'40.22"O	SPF57511	X	X	-