Carolina Angélica Araújo de Azevedo

**Diversidade e Filogenia da ordem Halymeniales (Rhodophyta)
no litoral do Brasil**

**Diversity and Phylogeny of the Order Halymeniales (Rhodophyta) on the
Brazilian Coast**

Versão corrigida

São Paulo - SP

2016

Carolina Angélica Araújo de Azevedo

**Diversidade e Filogenia da ordem Halymeniales (Rhodophyta)
no litoral do Brasil**

**Diversity and Phylogeny of the Order Halymeniales (Rhodophyta) on the
Brazilian Coast**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências
da Universidade de São Paulo, para
obtenção do Título de Doutor em Ciências,
na Área de Botânica.

Orientadora: Mariana Cabral de Oliveira

Co-orientadora: Valéria Cassano

Azevedo, Carolina

Diversidade e Filogenia da Ordem Halymeniales
(Rhodophyta) no litoral do Brasil. 217 p.

Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências da
Universidade de São Paulo. Departamento de Botânica.

1. Halymeniales.
- 2.
- 3.
4. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Botânica.

Comissão Julgadora:

Prof^ª. Dr^ª. Estela Maria Plastino

Prof^ª. Dr^ª. Mutue Toyota Fujii

Prof^ª. Dr^ª. Silvia Maria Pita
de Beauclair Guimarães

Prof. Dr. José Marcos de Castro
Nunes

Prof^ª. Dr^ª. Mariana Cabral de Oliveira

AGRADECIMENTOS

À FAPESP, pela concessão das bolsas referentes aos processos DR 2011/19225-7 e BEPE 2013/25409-9.

Às orientadoras Mariana e Valéria, pela tão agradável parceria.

Àqueles que forneceram amostras e que auxiliaram durante as coletas.

Aos técnicos e professores do Laboratório de Algas Marinhas.

Ao Dr. Gary W. Saunders e aos membros de seu laboratório, pela assistência durante a realização do estágio no exterior.

Aos herbários de Harvard (*Farlow Herbarium* - FH) e da Universidade Federal de Santa Catarina (FLOR), pelos empréstimos de material.

À família.

Aos amigos.

ÍNDICE

1. Introdução Geral.....	1
1.1 A taxonomia de algas vermelhas e a ferramenta molecular	1
1.2 A ordem Halymeniales (Rhodophyta) – histórico e cenário atual.....	4
1.3 Importância ecológica e econômica das algas pertencentes à ordem Halymeniales ..	14
1.4 Justificativa do estudo	16
2. Objetivos.....	17
2.1 Objetivo Geral	17
2.2 Objetivos Específicos	17
3. Materiais e Métodos	18
3.1 Obtenção de Amostras.....	18
3.2 Procedimentos Moleculares.....	33
3.3 Análises Moleculares.....	37
3.4 Estudos Morfológicos.....	40
4. Resultados e Discussão.....	41
4.2 Resultados Moleculares	42
4.2 Distribuição geográfica de espécies	55
4.3 Comentários Taxonômicos	59
5. Considerações Finais	155
6. Referências Bibliográficas.....	161
ANEXO I.....	172
ANEXO II	173
ANEXO III.....	174
ANEXO IV.....	215

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Espécies de Halymeniales registradas no litoral do Brasil.....	8
Tabela 2. Dados de coleta das amostras incluídas neste estudo, para as quais foram gerados dados moleculares. A coluna “SPF” se refere ao número de tombamento para espécimes já incorporados ao Herbário da Universidade de São Paulo. A coluna “Marcadores Moleculares” se refere ao número de acesso no GenBank das sequências já depositadas, enquanto que “x” corresponde a sequências geradas que serão depositadas após a submissão dos artigos.....	19
Tabela 3. <i>Primers</i> utilizados para amplificação e sequenciamento de cada marcador molecular.....	35
Tabela 4. Combinações de <i>primers</i> testados para o marcador COI-5P que não resultaram em amplificação.....	36
Tabela 5. Números de acesso para sequências utilizadas na análise concatenada. A sequência obtida no banco de dados BOLD está indicada. As demais sequências foram obtidas no banco de dados GenBank.....	39
Tabela 6. Valores de divergência intraespecífica (%) nos grupos genéticos obtidos com os marcadores UPA e COI-5P. n.a.: não se aplica.....	50
Tabela 7. Valores de divergência interespecífica nos grupos genéticos obtidos com os marcadores UPA (abaixo da diagonal indicada por -) e COI-5P (acima da diagonal). n.a.: não se aplica.....	51
Tabela 8. Valores de divergência (%) de <i>rbcL</i> entre amostras de “ <i>Cryptonemia</i> ” <i>crenulata</i>	71
Tabela 9. Valores de divergência (%) de <i>rbcL</i> para amostras de <i>Cryptonemia seminervis</i> ..	81
Tabela 10. Valores de divergência (%) de <i>rbcL</i> para amostras de <i>Grateloupia gibbesii</i>	127
Tabela 11. Cenário atual do conhecimento da diversidade de Halymeniales no litoral do Brasil.....	157
Tabela 12. Comparação das características vegetativas dos principais gêneros encontrados neste estudo.....	160

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Número de amostras obtidas neste estudo, em cada estado do litoral brasileiro, conforme as zonas de diversidade de algas de acordo com Horta *et al.* (2001).....18
- Figura 2. Árvore de agrupamento para sequências de UPA, gerada através do algoritmo *Neighbor-joining*. Os números nos nós representam os valores de *Bootstrap* para 1000 réplicas. Valores abaixo de 50 não são mostrados. Todas as sequências foram geradas neste estudo e são precedidas pelo código institucional (IBC).....48
- Figura 3. Árvore de agrupamento para sequências de COI-5P, gerada através do algoritmo *Neighbor-joining*. Os números nos nós representam os valores de *Bootstrap* para 1000 réplicas. Valores abaixo de 50 não são mostrados. Todas as sequências foram geradas neste estudo e são precedidas pelo código institucional (IBC).....49
- Figura 4. Árvore filogenética com sequências de *rbcL*, gerada através do algoritmo de Máxima Verossimilhança. Os números nos nós representam valores de *Bootstrap* para 100 réplicas. Valores de *bootstrap* inferiores a 50 não apresentados. . Espécies-tipo de gêneros em negrito. Sequências geradas neste estudo precedidas pelo código institucional (IBC). Os números de acesso para as sequências obtidas no BOLD e no GenBank estão na Tabela 4.....53
- Figura 5. Árvore filogenética com sequências concatenadas de COI-5P e *rbcL*, gerada através do algoritmo de Máxima Verossimilhança. Os números nos nós representam valores de *Bootstrap* para 100 réplicas. Valores de *bootstrap* inferiores a 50 não apresentados. Espécies-tipo de gêneros em negrito. Sequências geradas neste estudo precedidas pelo código institucional (IBC). Os números de acesso para as sequências obtidas no BOLD e no GenBank estão na Tabela 4. As áreas sombreadas indicam os cinco principais clados obtidos (numerados de 1 a 5), que refletem dados de distribuição geográfica.....54
- Figura 6. Distribuição geográfica de espécies encontradas neste estudo, de acordo com o estado da federação brasileira. As áreas sombreadas indicam as zonas de diversidade de algas de acordo com Horta *et al.* (2001).....55
- Figura 7. Distribuição global dos táxons representados na análise filogenética concatenada apresentada na Figura 5. Os números nos círculos indicam a ocorrência dos cinco clados principais. As zonas coloridas indicam a temperatura da superfície do mar. Imagem obtida no dia 26 de junho de 2015 e adaptada de <http://www.ospo.noaa.gov>.....58
- Figuras 8-9. Imagens de *Corynomorpha cf. clavata*.....61/63
- Figuras 10-11. Imagens de “*Cryptonemia*” *bengryi*.....66/68
- Figuras 12-13. Imagens de “*Cryptonemia*” *crenulata*.....69/73
- Figuras 14-15. Imagens de “*Cryptonemia*” *delicatula*.....75/78

Figuras 16-20. Imagens do Complexo <i>Cryptonemia seminervis</i>	82/85/87/89/91
Figuras 21-22. Imagens de “ <i>Halymenia</i> ” <i>elongata</i>	93/95
Figuras 23-24. Imagens de “ <i>Halymenia</i> ” <i>floridana</i>	97/100
Figuras 25-26. Imagens de <i>Halymenia</i> sp. 1.....	103/105
Figuras 27-29. Imagens de <i>Halymenia</i> sp. 2.....	106/108/109
Figuras 30-31. Imagens de <i>Grateloupia</i> cf. <i>dichotoma</i>	112/114
Figuras 32-35. Imagens do Complexo <i>Grateloupia filicina</i>	117/119/120/121
Figuras 36-37. Imagens de <i>Grateloupia filiformis</i>	122/124
Figuras 38-39. Imagens de <i>Grateloupia gibbesii</i>	125/130
Figuras 40-41. Imagens de <i>Grateloupia orientalis</i>	132/134
Figuras 42-43. Imagens de <i>Grateloupia yangjiangensis</i>	137/139
Figuras 44-45. Imagens de Halymeniales sp. 1.....	141/142
Figuras 46-47. Imagens de Halymeniales sp. 2.....	143/144
Figura 48. Imagem de <i>H. clathrata</i>	147
Figura 49. Imagem de <i>H. duchassaingii</i>	149
Figura 50. Materiais-tipo de <i>H. vinacea</i> , <i>H. integra</i> e <i>H. rosea</i>	153

ABREVIATURAS

BOLD: *Barcode of Life Database Systems*.

COI-5P: região 5' do gene que codifica para a enzima citocromo c oxidase subunidade 1.

GTR+G+I: *General Time Reversible + Gamma Distribution + Proportion of Invariable Sites*.

ML: *Maximum Likelihood* ou Máxima Verossimilhança.

NJ: *Neighbor-joining*.

pb: pares de base.

PCR: *Polymerase Chain Reaction* ou Reação em cadeia da polimerase.

rbcL: gene codificante da subunidade grande da ribulose-1, 5-bifosfato carboxilase-oxigenase (Rubisco).

SPF: Herbário da Universidade de São Paulo.

UPA: *Universal Plastid Amplicon*, domínio V do gene 23S.

RESUMO

As algas da ordem Halymeniales (Rhodophyta) apresentam grande importância ecológica e econômica como produtores primários e de compostos bioativos, além de incluírem espécies invasoras em várias localidades do mundo. A taxonomia do grupo é bastante problemática, com vários registros de identificações equivocadas e mudanças nomenclaturais. Em virtude disso, diversos estudos têm incluído ferramentas moleculares como auxílio à taxonomia morfológica do grupo. O objetivo deste estudo é investigar por meio de técnicas moleculares e morfológicas a diversidade da ordem Halymeniales no litoral do Brasil de forma, a contribuir para o conhecimento da flora marinha do país. Para isso, foram sequenciados três marcadores moleculares, UPA, COI-5P e *rbcL*, cujos dados, combinados com a observação de caracteres morfológicos, resultaram na delimitação de 26 espécies. Dessas, 11 são espécies novas para a ciência: *Corynomorpha* cf. *clavata*, dois táxons morfológicamente identificados como “*Cryptonemia*” *crenulata*, dois táxons morfológicamente identificados como *Cryptonemia* *seminervis*, *Halymenia* *ignifera*, *Halymenia* *pinnatifida*, *Halymenia* *silviae*, *Grateloupia* cf. *dichotoma*, *Grateloupia* cf. *filicina* 1 e *Grateloupia* cf. *filicina* 2. Pelo menos sete gêneros novos foram encontrados, representados pelos táxons: “*Cryptonemia*” *bengryi*, integrantes do complexo “*Cryptonemia*” *crenulata*, “*Cryptonemia*” *delicatula*, “*Halymenia*” *elongata*, “*Halymenia*” *floridana*, Halymeniales sp. 1 e Halymeniales sp. 2. Foram encontradas três espécies cuja localidade-tipo é a Ásia: *Grateloupia* *orientalis*, *Grateloupia* *turuturu* e *Grateloupia* *yangjiangensis*. Entre os táxons previamente citados para a costa brasileira, nove não foram encontrados. Se os táxons não encontrados constituírem espécies válidas, a diversidade da ordem no Brasil será de 35 espécies. As análises filogenéticas mostraram que os gêneros *Cryptonemia*, *Halymenia* e *Grateloupia* constituem grupos não-monofiléticos. Os resultados demonstraram a existência de ampla diversidade críptica e pseudo-críptica e de espécies e gêneros novos para a ciência, além de revelarem a ocorrência de espécies não nativas. Este estudo contribui substancialmente para o conhecimento da diversidade de algas marinhas na costa brasileira.

Palavras-chave: Algas marinhas, Brasil, COI-5P, *DNA-barcoding*, filogenia, Halymeniales, morfologia, *rbcL*, UPA.

ABSTRACT

Algae of Halymeniales (Rhodophyta) present a wide ecological and economic importance, as primary producers and bioactive compounds producers, and include invasive species worldwide. Its taxonomy is quite problematic, with reports of misidentifications and nomenclatural changes. Therefore, studies have included molecular tools to assist the morphological taxonomy of this order. This study aims to investigate through molecular and morphological techniques the diversity of Halymeniales along the Brazilian coast, in order to contribute to the knowledge of native marine flora. Three molecular markers were sequenced, UPA, COI-5P and *rbcL*, whose data were allied to morphological characters and resulted in 26 delimited species. There are 11 new species to science: *Corynomorpha* cf. *clavata*, two taxa morphologically identified as “*Cryptonemia*” *crenulata*, two taxa morphologically identified as *Cryptonemia* *seminervis*, *Halymenia* *ignifera*, *Halymenia* *pinnatifida*, *Halymenia* *silviae*, *Grateloupia* cf. *dichotoma*, *Grateloupia* cf. *filicina* 1 and *Grateloupia* cf. *filicina* 2. At least seven new genera were found, represented by the following taxa: “*Cryptonemia*” *bengryi*, representatives of “*Cryptonemia*” *crenulata* complex, “*Cryptonemia*” *delicatula*, “*Halymenia*” *elongata*, “*Halymenia*” *floridana*, Halymeniales sp. 1 and Halymeniales sp. 2. Three species whose type locality is Asia were detected: *Grateloupia* *orientalis*, *Grateloupia* *turuturu* and *Grateloupia* *yangjiangensis*. Among taxa previously recorded to Brazilian coast, nine were not found. If those taxa constitute valid species, the diversity of the order in Brazil will be represented by 35 species. Phylogenetic analyses showed that *Cryptonemia*, *Halymenia* and *Grateloupia* constitute non-monophyletic groups. Results demonstrated the existence of wide cryptic and pseudo-cryptic diversity as well as novel species and genera, and revealed the presence of non-native species.

Keywords: Brazil, COI-5P, DNA barcoding, Halymeniales, marine algae, morphology, phylogeny, *rbcL*, UPA.

1. Introdução Geral

1.1 A taxonomia de algas vermelhas e a ferramenta molecular

A taxonomia *alpha* consiste na atividade de descrever e nomear adequadamente os seres vivos, e sua importância não se restringe à catalogação da diversidade (De Clerck *et al.* 2013). O uso de nomes corretos para as entidades biológicas tem importância fundamental em diferentes áreas do conhecimento, tais como, química, genética, medicina, microbiologia, farmacologia e farmácia, isto é, a taxonomia produz o conhecimento básico necessário para pesquisas científicas que refletem os interesses humanos (De Clerck *et al.* 2013; Bennett & Balick 2014). O nome de uma espécie está associado às similaridades e diferenças entre organismos e aos aspectos evolutivos de classificação dos objetos de estudo de todos os ramos da Biologia (Calisher 2007), o que proporciona um melhor entendimento sobre biologia da conservação, serviços ecossistêmicos, mudanças climáticas e modelagem ecológica (De Clerck *et al.* 2013).

A taxonomia de algas foi, durante muito tempo, conduzida com base no conceito morfológico de espécie, segundo o qual as espécies são diferenciadas de acordo com suas variações morfológicas, seguido do conceito biológico, que estabelece que espécies correspondem a um grupo de populações com fluxo reprodutivo entre si, mas com isolamento reprodutivo em relação a outras populações de espécies diferentes (Mayr & Ashlock 1991; John & Maggs 1997; Leliaert *et al.* 2014). No entanto, diversos fatores se constituem em limitações à aplicação desses conceitos, tais como existência de variação morfológica intraespecífica, ausência de diferenças morfológicas em linhagens que divergiram recentemente e ocorrência de espécies crípticas, inexistência de um critério sólido para definição de isolamento reprodutivo, ocorrência de híbridos e de reprodução assexuada (Leliaert *et al.* 2014). Já o conceito filogenético, que considera que espécies correspondem às menores entidades biológicas diagnosticáveis e/ou monofiléticas, passou a ser bastante aplicado na sistemática de algas após a inclusão de técnicas moleculares (Mayden 1997; John & Maggs 1997; Leliaert *et al.* 2014).

As algas pertencentes ao filo Rhodophyta, também chamadas algas vermelhas, constituem um grupo bastante diverso, que inclui aproximadamente 7100 espécies descritas em todo o mundo (Guiry & Guiry 2016). Os estudos tradicionais de taxonomia de Rhodophyta são realizados com base em caracteres anatômicos de reprodução, desenvolvimento pós-fertilização, padrões de histórico de vida e anatomia vegetativa (Saunders & Hommersand 2004). Porém, esses organismos podem apresentar elevada plasticidade fenotípica e alta incidência de espécies crípticas, o que contribui para que sua sistemática seja bastante problemática (Saunders 2005; Robba *et al.* 2006; Maggs *et al.* 2007; Verbruggen *et al.* 2010). Além disso, espécimes estéreis ou fragmentados também são muito difíceis de serem identificados.

Em virtude disso, inúmeros estudos sobre biodiversidade de algas têm utilizado ferramentas morfológicas e moleculares para resolução de problemas taxonômicos, o que consiste na *Molecular-Assisted Alpha Taxonomy Technique* (Saunders 2008; Cianciola *et al.* 2010). A técnica chamada *DNA barcoding*, por sua vez, consiste na utilização de regiões genômicas curtas e padronizadas, chamadas *DNA barcodes*, amplificadas através do método de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) e sequenciadas com um mesmo par de *primers*. As sequências obtidas são então associadas a entidades taxonômicas, de forma semelhante à utilização de códigos de barra associados aos produtos comerciais (Stoeckle 2003). A técnica *DNA barcoding* é considerada uma ferramenta rápida, confiável, de baixo custo e bastante útil para a identificação de amostras biológicas ao nível de espécie (Radulovici *et al.* 2010). Um marcador molecular selecionado como *DNA barcode* para identificação de espécies pode auxiliar no descobrimento e delimitação de espécies, o que constitui a taxonomia baseada em sequências genômicas, também chamada *DNA-based taxonomy* (Leliaert *et al.* 2014). A aplicação da técnica está aumentando em áreas como biologia da conservação, ecologia, medicina, farmacêutica e biologia de sistemas (Pečnikar & Buzan 2014).

Vários estudos que buscam associar sequências genômicas a entidades taxonômicas de algas têm resultado em comparações entre marcadores moleculares quanto à sua adequabilidade para uso como *DNA barcodes*. Para algas vermelhas, dois marcadores bastante analisados são o marcador mitocondrial COI-5P (região 5' do gene que codifica para a enzima citocromo c oxidase subunidade 1) (Saunders 2005) e o marcador plastidial

UPA (*Universal Plastid Amplicon*, domínio V do gene 23S) (Sherwood & Presting, 2007). O marcador mitocondrial COI-5P foi eleito pelo *Consortium for the Barcode of Life* (CBOL; <http://www.barcoding.si.edu/>) como *DNA barcode* teoricamente útil para a maior parte dos grupos de organismos eucarióticos. O COI-5P foi aplicado em algas pela primeira vez por Saunders (2005) e desde então diversos estudos têm considerado esse marcador adequado para discriminação de espécies, mesmo para táxons proximamente relacionados, evidenciando espécies crípticas e contribuindo para uma melhor compreensão sobre a plasticidade fenotípica e as distribuições geográficas de espécies (Clarkston & Saunders 2010; Costa *et al.* 2012; Milstein *et al.* 2012; Milstein & Saunders 2012; Saunders & Millar 2014; Machín-Sánchez *et al.* 2014). No entanto, diversos estudos relatam dificuldades na amplificação e no sequenciamento do marcador COI-5P, incluindo ocorrência de contaminação, necessidade de várias combinações de pares de *primers* e desenvolvimento de *primers* específicos para certos grupos de algas (Clarkston & Saunders 2010; Milstein *et al.* 2012).

Por outro lado, apesar de ser de fácil amplificação e sequenciamento, o marcador UPA tem sido considerado uma região muito conservada que exibe baixos valores de divergência entre táxons, o que pode conduzir à subestimação da diversidade de espécies (Clarkston & Saunders 2010; Clarkston & Saunders 2013). Estudos também demonstraram que para o UPA, os valores de divergência intraespecífica e interespecífica se sobrepõem, o que o torna inadequado para discriminação de espécies (Yang & Kim 2014b). Porém, o marcador UPA pode ser útil para gerar agrupamentos de táxons proximamente relacionados, que na maioria dos casos correspondem aos mesmos clados obtidos com o marcador COI-5P, o que pode auxiliar a seleção de combinações de *primers* para a amplificação do COI-5P (Milstein *et al.* 2012; Costa *et al.* 2012; Iha *et al.* 2015).

Recentemente, as investigações sobre diversidade de algas têm utilizado mais de uma região genômica para obtenção de inferências filogenéticas, o que é chamado *multi-locus assessment* (Payo *et al.* 2013; Schneider *et al.* 2014; Manghisi *et al.* 2014). Entre os marcadores moleculares utilizados em estudos filogenéticos, o gene *rbcL*, localizado no genoma do cloroplasto e codificante da subunidade grande da ribulose-1, 5-bifosfato carboxilase-oxigenase (Rubisco), é amplamente aceito como uma região de alta resolução filogenética tanto a nível de gênero quanto de espécie (Freshwater *et al.* 1994).

Consequentemente, esse gene é o marcador molecular mais utilizado em estudos sobre filogenia e diversidade de Rhodophyta, incluindo a ordem Halymeniales (Maggs *et al.* 2007; Calderon *et al.* 2014a; Manghisi *et al.* 2014).

1.2 A ordem Halymeniales (Rhodophyta) – histórico e cenário atual

As espécies que hoje integram a ordem Halymeniales foram organizadas em agrupamentos pela primeira vez na obra *Algae Maris Mediterranei et Adriatici*, de J. Agardh (1842). No estudo, o autor chamou o grupo de tribo Cryptonemeae, a qual era caracterizada por “fronde celular-fibrosa, cistocarpo imerso, tetrasporângios inclusos”. A tribo Cryptonemeae incluía táxons como *Halymenia* C.Agardh, *Grateloupia* C.Agardh e *Cryptonemia* J.Agardh, além de outros gêneros posteriormente acomodados em outras ordens. O gênero *Halymenia* foi classificado na sub-tribo Gasterocarpeae, juntamente com os gêneros *Dumontia* J.V.Lamouroux e *Kallymenia* J.Agardh, que atualmente pertencem à ordem Gigartinales. Os gêneros *Cryptonemia* e *Grateloupia*, por sua vez, integravam a sub-tribo Coccocarpeae, bem como *Gelidium* J.V.Lamouroux, *Gigartina* Stackhouse e *Chrysymenia* J.Agardh, atuais componentes das ordens Gelidiales, Gigartinales e Rhodymeniales, respectivamente.

O uso de características da ontogenia do carposporófito na classificação de Florideophycidae foi iniciado por Schmitz (1883). Esse autor levou em consideração se o carposporófito se desenvolvia a partir do carpogônio fertilizado ou a partir de uma célula auxiliar generativa. No caso da existência de uma célula auxiliar, Schmitz (1883) também observou se a célula era acessória ou uma célula vegetativa modificada, e ainda se era formada antes ou após a fertilização.

No esquema de Schmitz (1889) para a classe Florideophyceae, também baseado no desenvolvimento do carposporófito, as algas vermelhas foram classificadas em quatro grandes grupos: Nemalioninae, Gigarininae, Rhodymeninae e Cryptoneminae. Cryptoneminae constituía o único grupo caracterizado por desenvolvimento não-procárpico, no qual a célula auxiliar e o carpogônio se encontram em sistemas diferentes de ramos, e, portanto, não estão proximamente associados. Cryptoneminae estava dividida em sete famílias: Gloiosiphoniaceae, Grateloupiaceae, Dumontiaceae, Nemastomaceae,

Rhizophyllidaceae, Squamariaceae e Corallinaceae. Grateloupiaceae acomodava alguns integrantes da atual ordem Halymeniales, tais como *Halymenia*, *Grateloupia*, *Cryptonemia*, *Aeodes* J.Agardh, *Pachymenia* J.Agardh, *Corynomorpha* J.Agardh, *Dermocorynus* P.Crouan & H.Crouan, *Prionitis* J.Agardh, *Polyopes* J.Agardh, *Carpopeltis* F.Schmitz e *Thamnoclonium* Kützinger. Schmitz (1892) classificou as mesmas famílias de Schmitz (1889) como integrantes de Cryptonemiales, e considerou esse grupo distinto de Gigartinales. Segundo Schmitz & Hauptfleisch (1897), a família Grateloupiaceae era composta pelos mesmos gêneros considerados por Schmitz (1889), com adição de *Cyrtymenia* F.Schmitz, atualmente sinônimo de *Grateloupia* e *Codiophyllum* J.E.Gray.

Kylin (1932), ao avaliar a natureza da célula auxiliar, propôs a separação de Cryptonemiales, grupo em que a célula auxiliar é acessória, de Gigartinales, que apresenta célula auxiliar intercalar. Kylin (1956), por sua vez, organizou a ordem Cryptonemiales em 12 famílias, levando em consideração os seguintes caracteres: fusão de filamentos conectivos com células auxiliares ou com células nutritivas do ramo carpogonial, presença ou ausência de nematócios, presença ou ausência de procarpos, célula sustentadora atuando ou não como célula auxiliar e tipo de talo (uniaxial, multiaxial, crostoso ou ereto). Dentre essas famílias, a que incluía os membros atuais da ordem Halymeniales era chamada Grateloupiaceae. Essa família era composta por 19 gêneros: *Halymenia*, *Grateloupia*, *Corynomorpha*, *Cryptonemia*, *Aeodes*, *Pachymenia*, *Dermocorynus*, *Prionitis*, *Phyllymenia* J.Agardh, *Polyopes*, *Codiophyllum*, *Thamnoclonium*, *Carpopeltis*, *Lobocolax* M.Howe (*incertae sedis* – ordem e família atualmente desconhecidas), *Acrodiscus* Zanardini, *Gelinaria* Sonder, *Epiphloea* J.Agardh, *Blastophye* J.Agardh (atualmente considerado sinônimo de *Cryptonemia*) e *Estebania* Setchell & N.L.Gardner (atual sinônimo de *Gloiocladia* J.Agardh, integrante da ordem Rhodymeniales).

Balakrishnan (1962) sugeriu a criação da família Corynomorphaceae para acomodação do gênero *Corynomorpha*, considerando o desenvolvimento procárpico do carposporófito e a existência de ampolas policarponiais. Chiang (1970) investigou a anatomia vegetativa e reprodutiva de diversos gêneros da família Cryptonemiaceae, e observou que os membros dessa família apresentavam ramos carpogoniais e células auxiliares produzidas em sistemas separados, chamados ampolas, as quais eram produzidas pelas células da região subcortical. Além disso, o autor destacou que as ampolas

carpogoniais eram quase exclusivamente monocarpogoniais, com exceção de *Aeodes*, em que os ramos carpogoniais eram compostos por duas células e, ainda, que a ampola carpogonial era menor e menos ramificada que a ampola da célula auxiliar. Com isso, Chiang (1970) considerou que a anatomia da ampola da célula auxiliar seria de utilidade na taxonomia da então família Cryptonemiaceae, as quais foram classificadas pelo autor em cinco tipos:

- a) Tipo *Grateloupia*: ampola com filamento ampolar primário e 2-3 filamentos ampolares secundários, de forma cônica quando madura. Inclui os gêneros *Prionitis*, *Phyllymenia* e *Pachymeniopsis* Yamada ex Kawabata;
- b) Tipo *Thamnoclonium*: ampola com um filamento ampolar primário e 3-5 filamentos ampolares secundários curtos, com 2-5 células. Ampola madura com formato irregular. Apenas o gênero *Thamnoclonium*;
- c) Tipo *Halymenia*: ampola com filamento ampolar primário com células inferiores longas e estreitas, a partir das quais, originam-se um ou dois filamentos secundários simples. Ampola madura achatada e expandida. É considerada intermediária entre as ampolas do tipo *Grateloupia* e *Cryptonemia*;
- d) Tipo *Aeodes*: ampola com filamentos ampolares de até quarta ordem, muito densa, com formato de cálice. Inclui também *Pachymenia*, *Dermocorynus* e *Polyopes*;
- e) Tipo *Cryptonemia*: ampola com filamentos ampolares de até quarta ordem, muito densa, de formato cônico. Inclui também *Codiophyllum*.

Chiang (1970) também sugeriu que o ancestral de Cryptonemiaceae teria ampola com muitos filamentos, de maneira que as ampolas do tipo *Grateloupia* seriam as mais recentes na família.

Pueschel & Cole (1982) propuseram que a família Hildenbrandiaceae, até então posicionada em Cryptonemiales, fosse elevada à categoria de ordem, chamada Hildenbrandiales. Para isso, os autores utilizaram a ultraestrutura do *pit-plug* e características reprodutivas. A família Corallinaceae também foi elevada à categoria de ordem (Corallinales) pelos mesmos autores, de acordo com tipo de crescimento, estruturas reprodutivas, talo com impregnação de calcita e ultraestrutura do *pit-plug*.

A ordem Halymeniales foi criada por Saunders & Kraft (1996) com base em estudos moleculares, sendo Halymeniaceae a família-tipo. Os mesmos autores propuseram que as

famílias Halymeniaceae e Sebdeniaceae, até então posicionadas nas ordens Cryptonemiales e Gigartinales, respectivamente, integrassem a ordem Halymeniales. Com exceção de Halymeniaceae, os demais integrantes de Cryptonemiales foram transferidos para Gigartinales, com a extinção da ordem Cryptonemiales. Posteriormente, a família Tsengiaceae, que até então pertencia à família Nemastomataceae (ordem Nemastomatales), foi adicionada à ordem Halymeniales (Saunders & Kraft 2002). Após observarem diferenças anatômicas e moleculares entre Sebdeniaceae e Halymeniaceae, Withall & Saunders (2006) propuseram a remoção da família Sebdeniaceae da ordem Halymeniales, e criaram a ordem Sebdeniales para acomodar esses organismos.

Halymeniales é caracterizada por apresentar algas de talos rastejantes ou eretos, estreitos ou expandidos, ramificados ou não; organização multiaxial; Região medular filamentosa e córtex pseudoparenquimatoso; histórico de vida trifásico com gametófitos e tetrasporófitos isomórficos; procarpos ausentes em todos os gêneros exceto em *Corynomorpha*; células auxiliares intercalares ou subsidiárias; ramo carpogonial com orientação exterior, com 2-4 células; após a fecundação, ocorre transferência do núcleo do zigoto a partir do carpogônio até as células auxiliares através de filamentos conectivos; desenvolvimento dos gonimoblastos em direção à superfície do talo, a partir de uma única célula inicial (Halymeniaceae) ou diretamente a partir da célula auxiliar (Tsengiaceae); o carposporófito tem um ou mais lobos; e tetrasporângios cruciados ou cruciado-decussados (Saunders & Kraft 1996; Saunders & Kraft 2002).

Atualmente, a ordem inclui 314 espécies descritas, distribuídas em duas famílias: Halymeniaceae Kützinger, com 31 gêneros e 303 espécies; e Tsengiaceae G. W. Saunders & Kraft, com um gênero e nove espécies (Guiry & Guiry 2016). As duas famílias são diferenciadas pela presença em Halymeniaceae de *pit connections* secundárias entre as células do córtex e da Região medular e pela presença de filamentos ampolares em torno das estruturas femininas de reprodução. Ambas as características estão ausentes em Tsengiaceae (Saunders & Kraft 2002).

Para o litoral brasileiro, há registros de 24 espécies (Tabela 1), que representam cinco gêneros: *Corynomorpha*, *Cryptonemia*, *Grateloupia*, *Halymenia* e *Tsengia* K.C.Fan & Y.P.Fan (Guimarães 1990; Guimarães 2006; Amado-Filho *et al.* 2010; Pacheco 2011). As primeiras citações de representantes de Halymeniales no litoral brasileiro foram de Joly

(1957), para a região Sudeste, Taylor (1960), que encontrou quatro espécies no litoral do Brasil e Joly *et al.* (1965a), para a região Sul. Entre os principais estudos no país, Guimarães (1990) investigou no litoral do Espírito Santo a ordem até então chamada Cryptonemiales, e identificou aproximadamente 13 espécies do grupo atualmente chamado Halymeniales. Guimarães (2006) abordou novamente o Estado do Espírito Santo e citou 21 espécies de Halymeniales.

Tabela 1. Espécies de Halymeniales registradas no litoral do Brasil antes do início deste estudo.

Espécie	Localidade tipo	Ocorrência ¹	Referências
<i>Corynomorpha clavata</i>		BA	Nunes (2005)
(Harvey) J. Agardh	EUA, Flórida	CE	Pinheiro-Joventino <i>et al.</i> (1998); Soares (2015)
		ES	Guimarães (1990); Guimarães (2006)
		PE	Pereira <i>et al.</i> (2002)
		RN	Pereira <i>et al.</i> (1981); Silva (2010)
<i>Cryptonemia bengryi</i>	Jamaica,	BA	Nunes, 2005; Lyra <i>et al.</i> (2007)
W.R. Taylor	Alligator Pond Bay,	CE	http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br , Soares, 2015
	Manchester	ES	Guimarães (1990); Guimarães (2006)
		PB	http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br
		PE	http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br
		RN	Silva (2006)
<i>Cryptonemia crenulata</i>			
(J. Agardh) J. Agardh	Brasil - BA	Arq. F.N.	http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br
		BA	Nunes (1998); Nunes (2005); Lyra <i>et al.</i> (2007)
			Pinheiro-Joventino <i>et al.</i> (1998), Soares (2015)
<i>Sin.: Phyllophora crenulata</i>		CE	
J. Agardh		ES	Guimarães (1990); Guimarães (2006)
		MA	Creed <i>et al.</i> (2015)
		PB	Lucena <i>et al.</i> (2007);
		PE	Pereira <i>et al.</i> (2002);
		RJ	Creed <i>et al.</i> (2015)
		RN	Silva (2006); Silva (2010)
		SP	Creed <i>et al.</i> (2015)

Tabela 1. Continuação.

Espécie	Localidade tipo	Ocorrência ¹	Referências
<i>Cryptonemia delicatula</i> A.B. Joly & M. Cordeiro	Brasil – SP, Praia do Lázaro, Ubatuba	BA CE ES RJ RN RS SC SP	Nunes (2005) http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br Guimarães (1990); Guimarães (2006) Horta (2000) Silva (2010) Horta (2000) Horta (2000) Joly (1964)
<i>Cryptonemia flabellifolia</i> Pinheiro-Joventino & E.C.Oliveira	Brasil – CE, Acarauí	CE ES RJ	Pinheiro-Joventino & Oliveira-Filho (1977); Creed <i>et al.</i> (2015) Guimarães (2006); Creed <i>et al.</i> (2010) Creed <i>et al.</i> (2010)
<i>Cryptonemia limensis</i> (Kützing) J.A.Lewis <i>Sin.: Cryptonemia guaymasensis</i> (E.Y. Dawson) E.Y. Dawson	Peru, Callao	CE ES RJ SP	Creed <i>et al.</i> (2015) Guimarães (1990); Guimarães (2006) Creed <i>et al.</i> (2015) Creed <i>et al.</i> (2015)
<i>Cryptonemia seminervis</i> (C. Agardh) J. Agardh <i>Sin.: Cryptonemia luxurians</i> (C.Agardh) J.Agardh	Espanha, Cádiz	BA CE ES MA PB PE RJ RN	Lyra <i>et al.</i> (2007); Nunes (1998); Nunes (2005) Pinheiro-Joventino <i>et al.</i> (1998), Soares (2015) Guimarães (1990); Guimarães (2006) Ferreira-Correia (1987) Lucena <i>et al.</i> (2007) Pereira <i>et al.</i> (1981); Pereira <i>et al.</i> (2002) Pereira <i>et al.</i> (2007) Yoneshigue-Valentin <i>et al.</i> (2008) Silva (2010)
<i>Dermocorynus dichotomus</i> (J.Agardh) Gargiulo, M.Morabito & Manghisi <i>Sin.: Grateloupia dichotoma</i> J. Agardh	França, Nice	CE ES SC SP	Soares (2015) Guimarães (1990); Guimarães (2006) http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br

Tabela 1. Continuação.

Espécie	Localidade tipo	Ocorrência ¹	Referências
<i>Grateloupia cuneifolia</i> J.Agardh	Venezuela, La Guayra	RJ SP	Széchy & Nassar (2005) Yoneshigue-Valentin <i>et al.</i> (2008) Joly (1957)
<i>Grateloupia doryphora</i> (Montagne) M.A.Howe	Peru, Callao	ES PR RJ RS SC SP	Guimarães (2006) http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br Pedrini <i>et al.</i> (1998); Taouil & Yoneshigue-Valentin (2002) Amado Filho <i>et al.</i> (2003) http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br
<i>Grateloupia filicina</i> (J.V.Lamouroux) C.Agardh	Itália, Trieste	Arq. T. e M.V. BA CE ES PB PR RJ RN RS SC SP	Yoneshigue-Valentin <i>et al.</i> (2005) Nunes (1998); Nunes (1999); Nunes (2005) http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br , Soares (2015) Guimarães (2006) http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br Amado Filho <i>et al.</i> (2003) Yoneshigue-Valentin <i>et al.</i> (2008) http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br Joly (1957)
<i>Grateloupia filiformis</i> Kützing	Peru	MA CE ES SP SC	Guimarães (1990) Soares (2015) Guimarães (1990) Guimarães (1990) Guimarães (1990)
<i>Grateloupia subpectinata</i> Holmes Sin.: <i>Grateloupia luxurians</i> (A.Gepp & E.S.Gepp) R.J.Wilkes, L.M.McIvor & Guiry	Japão	ES	Guimarães (2006)

Tabela 1. Continuação.

Espécie	Localidade tipo	Ocorrência ¹	Referências
<i>Grateloupia turuturu</i> Yamada Nome mal aplicado para o Brasil: <i>Grateloupia doryphora</i> (Montagne) M.Howe sensu Guimarães (2006)	Japão, Muroran	ES	Guimarães (2006)
<i>Halymenia brasiliana</i> S.M.P.B.Guimarães & M.T.Fujii	Brasil – ES, Itaipava, Itapemirim	CE BA ES	Soares (2015) Nunes (2005) Guimarães (2006)
<i>Halymenia clathrata</i> E.C.Oliveira, Pinheiro-Vieira & R.E.Norris	Brasil – ES, Praia de Piabanha, Piúma	ES	Guimarães (1990); Guimarães (2006)
<i>Halymenia duchassaingii</i> (J.Agardh) Kylin	Guadalupe, West Indies	BA CE PB	Nunes (1998); Nunes (2005) Soares, 2015 Lucena <i>et al.</i> (2007)
<i>Halymenia elongata</i> C.Agardh <i>Sin.: Halymenia agardhii</i> <i>sensu</i> Joly (1964)	Espanha, Baía de Cádiz	CE ES PB PE RJ RN SP SC	Pinheiro-Joventino <i>et al.</i> (1998) Guimarães (1990); Guimarães (2006) Oliveira-Filho (1977) Pereira <i>et al.</i> (1981); Pereira <i>et al.</i> (2002) Amado Filho <i>et al.</i> (2003); Amado Filho & Bahia (2007) Pereira <i>et al.</i> (1981); Pereira <i>et al.</i> (2002); Silva (2010) Joly <i>et al.</i> (1965a) Cordeiro-Marino (1978)
<i>Halymenia floresii</i> (Clemente) C.Agardh	Espanha, Baía de Cádiz	BA CE ES PB RJ RN	Nunes (1998); Nunes (2005) http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br Guimarães (1990); Guimarães (2006) Lucena <i>et al.</i> (2007) Amado Filho & Bahia (2007) Câmara-Neto (1971)

Tabela 1. Continuação.

Espécie	Localidade tipo	Ocorrência ¹	Referências
<i>Halymenia floridana</i> J. Agardh	EUA, Flórida	BA CE	Nunes (2005) http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br
<i>Sin.: Halymenia bermudensis</i> Collins & M. Howe		ES	Guimarães (1990); Guimarães & Fujii (1998); Guimarães (2006)
<i>Halymenia gelinaria</i> Collins & M. Howe		RJ RN SP	Yoneshigue (1985) Silva (2010) Joly (1957)
<i>Halymenia integra</i> M.A. Howe & W.R. Taylor	Brasil – RJ, Cabo Frio	CE RJ	http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br
<i>Halymenia pseudofloresii</i> F.S. Collins & M.A. Howe	Bermuda Walsingham Grotto, Walsingham Park, Bermuda Island	AL CE ES PE RN	http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br Joly <i>et al.</i> (1967) Guimarães (1990); Guimarães (2006) http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br
<i>Halymenia rosea</i> M.A. Howe & W.R. Taylor	Brasil – RJ, Cabo Frio	CE RJ SP	http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br Amado Filho <i>et al.</i> (2003) Joly (1957)
<i>Halymenia vinacea</i> M.A. Howe & W.R. Taylor	Brasil – RJ, Cabo Frio	ES RJ	Guimarães & Fujii (1998); Guimarães (2006) Yoneshigue-Valentin <i>et al.</i> (2005) http://www.algaemarisbrasilis.ccb.ufsc.br
<i>Tsengia sp.</i>		ES	Amado-Filho <i>et al.</i> (2010); Pacheco (2011)

¹ Estados da Federação Brasileira. AL: Alagoas, BA: Bahia, CE: Ceará, ES: Espírito Santo, MA: Maranhão, PB: Paraíba, PE: Pernambuco, PR: Paraná, RJ: Rio de Janeiro, RN: Rio Grande do Norte, RS: Rio Grande do Sul, SC: Santa Catarina, SP: São Paulo.
Arquipélagos. Arq. F.N.: Arquipélago de Fernando de Noronha, Arq. T. e M.V.: Arquipélago de Trindade e Martim Vaz.

Assim como os demais grupos de algas vermelhas, a ordem Halymeniales possui um histórico taxonômico conflituoso, que inclui registros de mudanças nomenclaturais e identificações equivocadas (De Smedt *et al.* 2001; Gavio & Fredericq 2002; De Clerck *et al.* 2005a; Figueroa *et al.* 2007; Lin & Liang 2011; Boo *et al.* 2013; Kim *et al.* 2013). Em todo o mundo, pesquisadores têm investigado a sistemática da ordem Halymeniales conciliando técnicas morfológicas e moleculares, o que tem promovido o reconhecimento de novos gêneros e espécies, a ressurreição de gêneros, a correção de identificações taxonômicas e a descoberta de ampla diversidade críptica no grupo (De Clerck *et al.* 2005b; Figueroa *et al.* 2007; Calderon *et al.* 2014a).

Wang *et al.* (2001), com base em dados moleculares e características morfológicas vegetativas e da ampola da célula auxiliar, defenderam a sinonimização do gênero *Prionitis* com *Grateloupia*. Posteriormente, os gêneros *Phyllymenia* e *Dermocorynus* também foram colocados em sinonímia com *Grateloupia*, por meio de estudos moleculares (De Clerck *et al.* 2005a; Wilkes *et al.* 2005). No entanto, Gargiulo *et al.* (2013) combinaram dados moleculares e anatômicos da estrutura das ampolas carpogoniais e da célula auxiliar, bem como desenvolvimento pós-fertilização, e propuseram a ressurreição dos gêneros *Prionitis*, *Phyllymenia*, *Dermocorynus* e *Pachymeniopsis*. *Pachymeniopsis*, por sua vez, havia sido sinonimizado com *Grateloupia* por Kawaguchi (1997), considerando apenas características vegetativas e reprodutivas. Hommersand *et al.* (2010) criaram o gênero *Glaphyrosiphon* Hommersand & Leister para acomodar a espécie *Grateloupia intestinalis* (Harvey) Setchell ex P.G. Parkinson, registrada na Nova Zelândia. O gênero *Neorubra* (Montagne) M.S.Calderon, G.H.Boo & S.M.Boo, descrito por Calderon *et al.* (2014b), abrange as espécies *Neorubra decipiens* (Montagne) M.S.Calderon, G.H.Boo & S.M.Boo e *Neorubra denticulata* (Montagne) M.S.Calderon, G.H.Boo & S.M.Boo, previamente atribuídas a *Prionitis decipiens* (Montagne) J.Agardh e *Grateloupia denticulata* Montagne, respectivamente.

Em relação às espécies crípticas, algumas espécies de Halymeniales que já foram consideradas de ampla distribuição geográfica são atualmente reconhecidas como complexos de espécies. De Clerck *et al.* (2005b) constataram que a espécie *Grateloupia filicina* (C.Agardh) Lamouroux, até então considerada cosmopolita, possuía distribuição restrita ao Mediterrâneo, e que os numerosos registros dessa espécie para outras regiões do

mundo correspondiam a espécies crípticas. Hernández-Kantún *et al.* (2012), ao analisarem espécies de *Halymenia* do Indo-Pacífico, verificaram que espécimes atribuídos a *Halymenia durvillei* Bory de Saint-Vincent constituíam um complexo de cinco espécies crípticas. Os mesmos autores também observaram que *Halymenia floresii* subsp. *harveyana* (J.Agardh) Womersley & Lewis, originalmente referida para Austrália, constituía uma espécie válida, e por isso ressuscitaram a espécie *Halymenia harveyana* J.Agardh. A espécie *Cryptonemia asiatica* M.Y.Yang & M.S.Kim foi descrita por Yang & Kim (2014a) para acomodar indivíduos atribuídos a *Cryptonemia seminervis* (C.Agardh) J.Agardh na Ásia.

Além disso, estudos também demonstraram que diversos gêneros da ordem Halymeniales constituem grupos não-monofiléticos (Schneider *et al.* 2010; Hernández-Kantún *et al.* 2012; Kraft & Saunders 2013; Tan *et al.* 2015). Em algumas reconstruções filogenéticas de estudos anteriores, as espécies (os gêneros) *Gelinaria ulvoidea* Sonder e *Epiphloea bullosa* (Harvey) De Toni pertencem ao mesmo clado que contém *Halymenia floresii* (Clemente) C.Agardh, espécie-tipo do gênero *Halymenia* (Hernández-Kantún *et al.* 2012; Tan *et al.* 2015). Além de *Halymenia*, outros gêneros já reconhecidos como polifiléticos incluem *Cryptonemia*, *Thamnoclonium* e *Phyllymenia* (Schneider *et al.* 2010; Kim *et al.* 2012; Manghisi *et al.* 2014; Calderon *et al.* 2014b), o que evidencia a necessidade de estudos filogenéticos para essas algas.

1.3 Importância ecológica e econômica das algas pertencentes à ordem Halymeniales

As algas da ordem Halymeniales ocorrem no infra e mesolitoral de regiões temperadas e tropicais, sobre substrato rochoso ou biogênico, e expostas a uma grande variedade de condições hidrodinâmicas, como áreas protegidas ou expostas ao embate de ondas (Figueroa *et al.* 2007; Hernández-Kantun *et al.* 2009).

Do ponto de vista ecológico, além de sua importância como produtores primários, espécies de Halymeniales têm sido reportadas em eventos de introdução de espécies exóticas em diversas regiões do mundo. Halymeniaceae é uma das famílias de Rhodophyta com maior número de espécies registradas em eventos de invasão de macroalgas (Williams & Smith 2007). Entre as espécies já referidas na literatura em eventos de introdução de

espécies não-nativas, tem-se como exemplo *Grateloupia imbricata* Holmes, *G. asiatica* S.Kawaguchi & H.W.Wang, *G. patens* (Okamura) S.Kawaguchi & H.W.Wang, *G. subpectinata* Holmes, *G. yinggehaiensis* H.W.Wang et R.X.Luan e *G. turuturu* Yamada (Verlaque *et al.* 2005; García-Jiménez *et al.* 2008; Wolf *et al.* 2014; Azevedo *et al.* 2015). Algumas vezes, a identificação taxonômica incorreta das algas retarda a constatação da presença e identidade de espécies exóticas. Como exemplo, tem-se o caso de *Grateloupia turuturu*, espécie nativa do Japão e erroneamente identificada como *Grateloupia doryphora* (Montagne) M.A.Howe, cuja presença foi observada nos litorais dos Estados Unidos, França e Inglaterra (Gavio & Fredericq 2002). Verlaque *et al.* (2005) confirmaram a identificação incorreta de *Grateloupia turuturu* como *Grateloupia doryphora* e de *G. asiatica* citada como *G. filicina* (J.V.Lamouroux) C.Agardh em estudos anteriores realizados na França. Posteriormente, a espécie *Polyopes lancifolius* (Harvey) Kawaguchi & Wang, proveniente do Japão, também foi encontrada no litoral da França formando uma pequena população (Mineur *et al.* 2010). Recentemente, a presença de *G. turuturu* no litoral do sul do Brasil foi confirmada por meio de dados moleculares e morfológicos (Azevedo *et al.* 2015).

Além de sua importância ecológica, alguns gêneros de Halymeniales apresentam importância econômica, especialmente *Grateloupia* e *Halymenia* que são componentes da alimentação humana, principalmente em países orientais (Zemke-White & Ohno 1999). O gênero *Halymenia* também é utilizado na agricultura, como fertilizante (Zemke-White & Ohno 1999). Além disso, as algas do grupo Halymeniales sintetizam galactanas sulfatadas, também conhecidas como ficocolóides, que são compostos de ampla aplicação industrial (Zibetti 2005).

As galactanas produzidas por Halymeniales apresentam estrutura química intermediária entre a carragenana e o ágar, denominada de carrágar por Chopin *et al.* (1999). Diversos estudos comprovam que esses polissacarídeos também atuam como substâncias bioativas, o que demonstra o potencial de aplicação dessas algas na produção de fármacos e cosméticos. Sen *et al.* (1994) constataram a atividade anticoagulante de uma galactana sulfatada extraída da alga *Grateloupia indica* Børgesen. Athukorala *et al.* (2003) detectaram importante atividade antioxidante de extratos de *Grateloupia filicina*. Algumas espécies de Halymeniales que ocorrem na costa brasileira tiveram seu potencial bioativo

investigado e demonstraram resultados promissores, tais como *Cryptonemia* spp. que produzem compostos contra os vírus da herpes (Talarico *et al.* 2004), dengue (Talarico *et al.* 2007) e metapneumovírus humano (Mendes *et al.* 2014).

1.4 Justificativa do estudo

Apesar das Halymeniales apresentarem significativa importância ecológica e econômica, o conhecimento de sua diversidade no Brasil é considerado insuficiente, o que leva à hipótese de que a diversidade do grupo esteja subestimada. De Clerck *et al.* (2013) afirmam que o ato de descrever e nomear espécies, chamado “taxonomia alfa”, tem uma importância que ultrapassa a simples catalogação da diversidade. A “taxonomia alfa” produz o conhecimento necessário para pesquisas científicas que refletem interesses humanos, além de promover um melhor entendimento sobre conservação da biodiversidade, serviços ecossistêmicos, mudanças climáticas e modelagem ecológica (Payo *et al.* 2013; De Clerck *et al.* 2013). Neste contexto, abordagens taxonômicas sobre a ordem Halymeniales são consideradas indispensáveis ao conhecimento e à conservação da biodiversidade marinha brasileira, além de serem necessárias para viabilizar a utilização racional dos recursos naturais marinhos do país.

2. *Objetivos*

2.1 Objetivo Geral

Investigar a diversidade e a filogenia das algas pertencentes ao grupo Halymeniales no litoral brasileiro, de forma a contribuir para o conhecimento da flora marinha do país e para a filogenia da ordem.

2.2 Objetivos Específicos

- Identificar e descrever a diversidade da ordem Halymeniales no Brasil;
- Utilizar as ferramentas morfológicas e moleculares no estudo da taxonomia das espécies de Halymeniales existentes no país;
- Testar a viabilidade de uso dos marcadores moleculares COI-5P e UPA como ferramentas na identificação de Halymeniales;
- Obter inferências filogenéticas sobre o grupo através da aplicação do marcador molecular *rbcL*.

3. Materiais e Métodos

3.1 Obtenção de Amostras

As amostras utilizadas neste estudo foram coletadas manualmente em pontos georeferenciados ao longo do litoral brasileiro (Figura 1). Foram coletados espécimes nas regiões de mesolitoral e infralitoral, assim como indivíduos arribados. Foram obtidas 256 amostras no total, sendo que foram obtidos dados moleculares para 152 amostras (Tabela 2).

Figura 1. Número de amostras obtidas neste estudo, em cada estado do litoral brasileiro, conforme as zonas de diversidade de algas de acordo com Horta *et al.* (2001).

Tabela 2. Dados de coleta das amostras incluídas neste estudo, para as quais foram gerados dados moleculares. A coluna “SPF” se refere ao número de tombamento para espécimes já incorporados ao Herbário da Universidade de São Paulo. A coluna “Marcadores Moleculares” se refere ao número de acesso no GenBank das sequências já depositadas, enquanto que “x” corresponde a sequências geradas que serão depositadas após a submissão dos artigos.

Código de Coleta	Espécie	Local de coleta	Latitude/Longitude	Coletor (s)	Data	SPF	Marcadores Moleculares		
							UPA	COI-5P	rbcL
IBT 0228	<i>Grateloupia cf. filicina</i> 2	Praia Domingas Dias, Ubatuba, SP	23°29'45"S; 45°08'46"O	M. T. Fujii	04/09/2009		X		x
IBC0054	<i>"Halymenia" floridana</i>	Praia Dura, costão esquerdo, Ubatuba, SP	23°49'51.59"S; 45°16'50.38"O	E.C. Oliveira e M. C. Oliveira	14/10/2008	57820	X		x
IBC0055	<i>"Halymenia" floridana</i>	Praia Dura, costão esquerdo, Ubatuba, SP	23°49'51.59"S; 45°16'50.38"O	E.C. Oliveira e M. C. Oliveira	14/10/2008		X		
IBC 0161	<i>"Halymenia" floridana</i>	Praia da Lagoinha, Ubatuba, SP	23°52'30,77"S; 45°19'11.30"O	E.C. Oliveira e F. Nauer	23/07/2009		X		
IBC 0295	<i>Cryptonemia seminervis</i> 1	Praia da Cruz, Marataízes, ES	21°01'58.2"S; 40°48'43.9"O	M. C. Oliveira	07/05/2012	57823	X		x
IBC 0506	<i>Grateloupia cf. filicina</i> 2	Praia da Ferradura, costão esquerdo, Armação dos Búzios, RJ	22°46'12.8"S; 41°53'00.1"O	C. Iha, B. Torrano-Silva e F. Nauer	25/09/2011	57781	X		x
IBC 2000	<i>"Grateloupia" gibbesii</i>	Prainha, costão direito, Florianópolis, SC	27°34'36.20"S; 48°25'14.51"O	E.C. Oliveira e M. C. Oliveira	17/10/2011		X		
IBC 2001	<i>"Grateloupia" gibbesii</i>	Prainha, costão direito, Florianópolis, SC	27°34'36.20"S; 48°25'14.51"O	E.C. Oliveira e M. C. Oliveira	17/10/2011		X	x	x
IBC 2002	<i>"Grateloupia" gibbesii</i>	Praia Moçambique, Florianópolis, SC	27°34'25.64"S; 48°25'21.27"O	E.C. Oliveira e M. C. Oliveira	19/10/2011		X	x	
IBC 2003	<i>"Cryptonemia" crenulata</i>	Praia de Pirambúzios, Parnamirim, RN	5°59'12.35"; 35°06'49.54"O	C. A. A. Azevedo	25/01/2012	57788	X		x
IBC 2004	<i>"Cryptonemia" crenulata</i>	Praia de Pirambúzios,	5°59'12.35"; 35°06'49.54"O	C. A. A. Azevedo	25/01/2012		X		

Tabela 2. Continuação

Código de Coleta	Espécie	Local de coleta	Latitude/Longitude	Coletor (s)	Data	SPF	Marcadores Moleculares		
							UPA	COI-5P	rbcL
IBC 2005	<i>"Cryptonemia" crenulata</i>	Parnamirim, RN Praia de Pirambúzios,	5°59'12.35"; 35°06'49.54"O	C. A. A. Azevedo	25/01/2012		X		
IBC 2006	<i>"Cryptonemia" crenulata</i>	Parnamirim, RN Praia de Paracuru, Paracuru, CE	3°40'00.00"S; 39°07'00.00"O	E. M. Plastino e L. Ayres-Ostrock	11/02/2012	57818	X		x
IBC 2008	<i>Grateloupia turuturu</i>	Praia da Armação, Florianópolis, SC	27°45'01.10"S; 48°30'02.28"O	C. A. A. Azevedo, B. Torrano-Silva, F. Nauer	26/02/2012	57787	X	KP976170	KP976173
IBC 2009	<i>Grateloupia orientalis</i>	Prainha da Ponte Pênsil, São Vicente, SP	23°58'36.32"S; 46°23'15.93"O	E.C. Oliveira	21/03/2011	57822	X	x	x
IBC 2010	<i>Grateloupia orientalis</i>	Prainha da Ponte Pênsil, São Vicente, SP	23°58'36.32"S; 46°23'15.93"O	E.C. Oliveira	21/03/2011	57807	X	x	
IBC 2011	<i>"Grateloupia" gibbesii</i>	Prainha da Ponte Pênsil, São Vicente, SP	23°58'36.32"S; 46°23'15.93"O	E.C. Oliveira	21/03/2011	57819	X	x	
IBC 2012	<i>Grateloupia</i> cf. <i>dichotoma</i>	Prainha da Ponte Pênsil, São Vicente, SP	23°58'36.32"S; 46°23'15.93"O	E.C. Oliveira	21/03/2011	57821	X	x	
IBC 2013	<i>Grateloupia orientalis</i>	Ilha Porchat, São Vicente, SP	23°58'38.32"S; 46°22'18.82"O	E.C. Oliveira	21/03/2011	57806	X	x	
IBC 2014	<i>"Grateloupia" gibbesii</i>	Praia de Areia Preta, Guarapari, ES	20°40'38.4"S; 40°30'06.0"O	B. Torrano-Silva e C. E. Amâncio	05/04/2012		X	x	x
IBC 2017	<i>"Halymenia" elongata</i>	Iri, 20 m de profundidade, Anchieta, ES	20°50'24"S; 40°39'58"O	B. Torrano-Silva e C. E. Amâncio	07/04/2012		X		x
IBC 2029	<i>"Grateloupia" gibbesii</i>	Ponta da Lagoinha, Armação dos Búzios, RJ	22°45'53"S; 41°52'41"O	V. Cassano	05/05/2012		X	x	
IBC 2030	<i>"Grateloupia" gibbesii</i>	Ponta da Lagoinha, Armação	22°45'53"S; 41°52'41"O	V. Cassano	05/05/2012	57804	X	x	x

Tabela 2. Continuação.

Código de Coleta	Espécie	Local de coleta	Latitude/Longitude	Coletor (s)	Data	SPF	Marcadores Moleculares		
							UPA	COI-5P	rbcL
IBC 2032	<i>"Grateloupia" gibbesii</i>	dos Búzios, RJ Praia de Itaoca, Itapemirim, ES	20°54'16.0"S; 40°46'37.4"O	B. Torrano-Silva, C. Iha e F. Nauer	06/05/2012		X	x	
IBC 2033	<i>Halymenia ignifera</i>	Praia de Itaoca, Itapemirim, ES	20°54'16.0"S; 40°46'37.4"O	B. Torrano-Silva, C. Iha e F. Nauer	06/05/2012	57784	X	KT807819	KT807830
IBC 2037	<i>"Grateloupia" gibbesii</i>	Praia da Cruz, Marataízes, ES	21°01'58.2"S; 40°48'43.9"O	B. Torrano-Silva, C. Iha	07/05/2012			x	
IBC 2038	<i>Grateloupia</i> cf. <i>dichotoma</i>	Praia da Cruz, Marataízes, ES	21°01'58.2"S; 40°48'43.9"O	F. Nauer e M. C. Oliveira B. Torrano-Silva, C. Iha	07/05/2012	57799	X	x	x
IBC 2040	<i>"Grateloupia" gibbesii</i>	Praia dos Namorados, Guarapari, ES	20°40'19.7"S; 40°29'41.9"O	F. Nauer e M. C. Oliveira B. Torrano-Silva, C. Iha	08/05/2012	57803	X	x	
IBC 2041	<i>Cryptonemia seminervis</i> 1	Praia de Carapibus, Conde, PB	7°17'58.2"S; 34°47'56.0"O	F. Nauer e M. C. Oliveira C. A. A. Azevedo e F. Nauer	20/07/2012		X	x	
IBC 2047	<i>Cryptonemia seminervis</i> 1	Praia de Tabatinga, Conde, PB	7°18'51.6"S; 34°48'07.0"O	C. A. A. Azevedo, F. Nauer e R. Perez	21/07/2012	57792	X		
IBC 2050	<i>Cryptonemia seminervis</i> 1	Praia de Tabatinga, Conde, PB	7°18'51.6"S; 34°48'07.0"O	C. A. A. Azevedo, F. Nauer e R. Perez	21/07/2012		X	x	
IBC 2051	<i>Cryptonemia seminervis</i> 1	Praia de Coqueirinho, Conde, PB	7°19'41.2"S; 34°47'42.6"O	C. A. A. Azevedo, F. Nauer e R. Perez	21/07/2012		X		
IBC 2052	<i>Cryptonemia seminervis</i> 1	Praia de Tambaba, Conde, PB	7°21'56.1"S; 34°47'51.4"O	C. A. A. Azevedo e F. Nauer	23/07/2012		X		
IBC 2055	<i>Cryptonemia seminervis</i> 1	Praia de Tambaba, Conde, PB	7°21'56.1"S; 34°47'51.4"O	C. A. A. Azevedo e F. Nauer	23/07/2012	57797	X		x
IBC 2057	<i>Grateloupia</i> cf. <i>dichotoma</i>	Praia de Cibratel, Itanhaém, SP	24°12'06.5"S; 46°48'40.1"O	B. Torrano-Silva, B. Vieira e W. Oliveira	20/07/2012		X	x	

Tabela 2. Continuação.

Código de Coleta	Espécie	Local de coleta	Latitude/Longitude	Coletor (s)	Data	SPF	Marcadores Moleculares		
							UPA	COI-5P	rbcL
IBC 2060	<i>Grateloupia filiformis</i>	Praia do Pedrão, Itacaré, BA	14°17'09.5"S; 38°59'06.2"O	V. Cassano	02/08/2012	57798	X		x
IBC 2070	<i>Cryptonemia seminervis</i> 1	Praia de Tartarugas, Santa Cruz Cabralia, BA	16°17'05.4"S; 39°01'18.1"O	C. A. A. Azevedo e F. Nauer	17/09/2012	57791	X		x
IBC 2071	<i>Cryptonemia seminervis</i> 1	Praia de Tartarugas, Santa Cruz Cabralia, BA	16°17'05.4"S; 39°01'18.1"O	C. A. A. Azevedo e F. Nauer	17/09/2012		X		
IBC 2072	<i>Cryptonemia seminervis</i> 1	Praia de Tartarugas, Santa Cruz Cabralia, BA	16°17'05.4"S; 39°01'18.1"O	C. A. A. Azevedo e F. Nauer	17/09/2012		X		
IBC 2076	<i>Cryptonemia seminervis</i> 1	Praia de Apuã, Santa Cruz Cabralia, BA	16°16'45.0"S; 39°01'11.0"O	C. A. A. Azevedo e F. Nauer	17/09/2012		X		
IBC 2078	<i>Cryptonemia seminervis</i> 1	Praia de Apuã, Santa Cruz Cabralia, BA	16°16'45.0"S; 39°01'11.0"O	C. A. A. Azevedo e F. Nauer	17/09/2012		X		
IBC 2079	<i>Grateloupia cf. filicina</i> 1	Praia de Vilas do Atlântico, Lauro de Freitas, BA	12°53'11"S; 38°16'58"O	V. Cassano	15/10/2012	57786	X	x	x
IBC 2080	<i>Grateloupia filiformis</i>	Praia dos Padres, Aracruz, ES	19°55'55"S; 40°07'10"O	M. T. Fujii	14/11/2012	57789	X	x	x
IBC 2082	<i>"Cryptonemia" bengryi</i>	Praia de Tabatinga, Nísia Floresta, RN	6°04'30"S; 35°06'01"O	C. A. A. Azevedo e R. F. Menezes	12/01/2013	57778	X	x	
IBC 2083	<i>"Cryptonemia" crenulata</i>	Praia de Tabatinga, Nísia Floresta, RN	6°04'30"S; 35°06'01"O	C. A. A. Azevedo e R. F. Menezes	12/01/2013		X		
IBC 2085	<i>Halymenia ignifera</i>	Praia de Rio do Fogo, Rio do Fogo, RN	5°15'56"S; 35°23'05"O	C. A. A. Azevedo e R. F. Menezes	13/01/2013	57865	X	KT807810	
IBC 2086	<i>Halymenia pinnatifida</i>	Praia de Rio do Fogo, Rio do Fogo, RN	5°15'56"S; 35°23'05"O	C. A. A. Azevedo e R. F. Menezes	13/01/2013	57871	X	KT807811	KT807828
IBC 2087	<i>Halymenia pinnatifida</i>	Praia de Rio do Fogo, Rio do Fogo, RN	5°15'56"S; 35°23'05"O	C. A. A. Azevedo e R. F. Menezes	13/01/2013	57872		KT807816	
IBC 2088	<i>Halymenia ignifera</i>	Praia de Rio do Fogo, Rio do Fogo, RN	5°15'56"S; 35°23'05"O	C. A. A. Azevedo e R. F. Menezes	13/01/2013	57866	X	KT807815	
IBC 2089	<i>Halymenia silviae</i>	Praia de Rio do Fogo, Rio do Fogo, RN	5°15'56"S; 35°23'05"O	C. A. A. Azevedo e R. F. Menezes	13/01/2013	57873	X	KT807818	

Tabela 2. Continuação.

Código de Coleta	Espécie	Local de coleta	Latitude/Longitude	Coletor (s)	Data	SPF	Marcadores Moleculares		
							UPA	COI-5P	rbcL
IBC 2090	<i>Halymenia ignifera</i>	Praia de Rio do Fogo, Rio do Fogo, RN	5°15'56"S; 35°23'05"O	C. A. A. Azevedo e R. F. Menezes	13/01/2013	57867	X	KT807821	
IBC 2094	<i>"Halymenia" elongata</i>	Praia de Rio do Fogo, Rio do Fogo, RN	5°15'56"S; 35°23'05"O	C. A. A. Azevedo e R. F. Menezes	13/01/2013	57785	X	x	x
IBC 2095	<i>"Halymenia" elongata</i>	Praia de Rio do Fogo, Rio do Fogo, RN	5°15'56"S; 35°23'05"O	C. A. A. Azevedo e R. F. Menezes	13/01/2013	57816	X		x
IBC 2096	<i>Halymenia silviae</i>	Praia de Rio do Fogo, Rio do Fogo, RN	5°15'56"S; 35°23'05"O	C. A. A. Azevedo e R. F. Menezes	13/01/2013		X		
IBC 2097	<i>Halymenia ignifera</i>	Praia de Rio do Fogo, Rio do Fogo, RN	5°15'56"S; 35°23'05"O	C. A. A. Azevedo e R. F. Menezes	13/01/2013	57868	X	KT807824	
IBC 2099	<i>Halymenia ignifera</i>	Praia de Rio do Fogo, Rio do Fogo, RN	5°15'56"S; 35°23'05"O	C. A. A. Azevedo e R. F. Menezes	13/01/2013	57817	X	KT807817	KT807829
IBC 2100	<i>Halymenia ignifera</i>	Praia de Rio do Fogo, Rio do Fogo, RN	5°15'56"S; 35°23'05"O	C. A. A. Azevedo e R. F. Menezes	13/01/2013	57815	X	KT807808	KT807826
IBC 2101	<i>Halymenia silviae</i>	Praia de Rio do Fogo, Rio do Fogo, RN	5°15'56"S; 35°23'05"O	C. A. A. Azevedo e R. F. Menezes	13/01/2013	57814	X	KT807809	KT807827
IBC 2102	<i>Halymenia ignifera</i>	Praia de Rio do Fogo, Rio do Fogo, RN	5°15'56"S; 35°23'05"O	C. A. A. Azevedo e R. F. Menezes	13/01/2013	57869	X	KT807825	
IBC 2103	<i>Halymenia silviae</i>	Praia de Ponta Verde, Maceió, AL	9°39'54"S; 35°41'42"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	10/03/2013	57813	X	KT807812	
IBC 2105	<i>"Cryptonemia" crenulata</i>	Praia de Pontal do Peba, Piaçabuçu, AL	10°21'28"S; 36°17'44"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	11/03/2013			x	
IBC 2106	<i>Halymenia silviae</i>	Praia de Pontal do Peba, Piaçabuçu, AL	10°21'28"S; 36°17'44"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	11/03/2013	57874	X	KT807820	
IBC 2108	<i>"Cryptonemia" crenulata</i>	Praia de Pontal do Peba,	10°21'28"S; 36°17'44"O	C. A. A. Azevedo, T.	11/03/2013	57782			x

Tabela 2. Continuação.

Código de Coleta	Espécie	Local de coleta	Latitude/Longitude	Coletor (s)	Data	SPF	Marcadores Moleculares		
							UPA	COI-5P	rbcL
IBC 2109	<i>"Cryptonemia" bengryi</i>	Piaçabuçu, AL	10°01'18.2"S; 36°00'48.0"O	Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	12/03/2013			x	
		Praia de Jequiá, Jequiá de Praia, AL		C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva					
IBC 2110	<i>Cryptonemia seminervis</i> 1	Praia de Jequiá, Jequiá de Praia, AL	10°01'18.2"S; 36°00'48.0"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	12/03/2013	57800			x
IBC 2114	<i>"Cryptonemia" crenulata</i>	Praia de Riacho Doce, Maceió, AL	9°56'85"S; 35°64'96"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	13/03/2013		X	x	
IBC 2115	<i>"Cryptonemia" crenulata</i>	Praia de Riacho Doce, Maceió, AL	9°56'85"S; 35°64'96"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	13/03/2013			x	
IBC 2118	<i>Halymenia silviae</i>	Praia de Munguba, Paracuru, CE	3°24'28"S; 39°01'57"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	24/04/2013	57802	X	KT807823	
IBC 2119	<i>Cryptonemia seminervis</i> 1	Praia de Munguba, Paracuru, CE	3°24'28"S; 39°01'57"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	24/04/2013	57801	X		
IBC 2123	<i>Cryptonemia seminervis</i> 1	Praia de Munguba, Paracuru, CE	3°24'28"S; 39°01'57"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	24/04/2013		X	x	
IBC 2124	<i>"Cryptonemia" crenulata</i>	Praia da Pedra Rachada, Paracuru, CE	3°23'55"S; 39°00'50"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	24/04/2013	57780	X		x
IBC 2126	<i>"Cryptonemia" crenulata</i>	Praia da Pedra Rachada,	3°23'55"S; 39°00'50"O	C. A. A. Azevedo, T.	24/04/2013		X	x	

Tabela 2. Continuação.

Código de Coleta	Espécie	Local de coleta	Latitude/Longitude	Coletor (s)	Data	SPF	Marcadores Moleculares		
							UPA	COI-5P	rbcL
		Paracuru, CE		Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva					
IBC 2127	<i>"Cryptonemia" crenulata</i>	Praia da Pedra Rachada, Paracuru, CE	3°23'55"S; 39°00'50"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	24/04/2013		X	x	x
IBC 2128	<i>"Cryptonemia" crenulata</i>	Praia da Pedra Rachada, Paracuru, CE	3°23'55"S; 39°00'50"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	24/04/2013		X	x	
IBC 2129	<i>Halymenia</i> sp. 2	Praia de Guajiru, Trairi, CE	3°14'20"S; 39°13'41"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	25/04/2013		X	x	
IBC 2132	<i>Halymenia</i> sp. 2	Praia de Guajiru, Trairi, CE	3°14'20"S; 39°13'41"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	25/04/2013		X	x	
IBC 2133	<i>Halymenia</i> sp. 2	Praia de Guajiru, Trairi, CE	3°14'20"S; 39°13'41"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	25/04/2013		X	x	
IBC 2136	<i>"Halymenia" elongata</i>	Praia de Guajiru, Trairi, CE	3°14'20"S; 39°13'41"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	25/04/2013		X	x	
IBC 2137	<i>Halymenia</i> sp. 2	Praia de Guajiru, Trairi, CE	3°14'20"S; 39°13'41"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	25/04/2013		X	x	
IBC 2138	<i>Halymenia</i> sp. 1	Praia de Guajiru, Trairi, CE	3°14'20"S; 39°13'41"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	25/04/2013	57795	X	x	x
IBC 2139	<i>Halymenia</i> sp. 2	Praia de Guajiru, Trairi, CE	3°14'20"S; 39°13'41"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B.	25/04/2013		X	x	

Tabela 2. Continuação.

Código de Coleta	Espécie	Local de coleta	Latitude/Longitude	Coletor (s)	Data	SPF	Marcadores Moleculares		
							UPA	COI-5P	rbcL
IBC 2140	<i>Halymenia</i> sp. 2	Praia de Guajiru, Trairi, CE	3°14'20"S; 39°13'41"O	Torrano-Silva C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B.	25/04/2013		X	x	
IBC 2141	<i>Halymenia</i> sp. 2	Praia de Guajiru, Trairi, CE	3°14'20"S; 39°13'41"O	Torrano-Silva C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B.	25/04/2013		X	x	
IBC 2142	<i>Halymenia</i> sp. 2	Praia de Guajiru, Trairi, CE	3°14'20"S; 39°13'41"O	Torrano-Silva C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B.	25/04/2013		X	x	
IBC 2143	<i>Halymenia</i> sp. 2	Praia do Pacheco, Caucaia, CE	3°41'09"S; 38°38'01"O	Torrano-Silva C. A. A. Azevedo, P. B. Carneiro, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	26/04/2013	57794	X	x	x
IBC 2144	<i>"Cryptonemia" crenulata</i>	Praia do Pacheco, Caucaia, CE	3°41'09"S; 38°38'01"O	C. A. A. Azevedo, P. B. Carneiro, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	26/04/2013		X	x	
IBC 2145	<i>"Cryptonemia" crenulata</i>	Praia do Pacheco, Caucaia, CE	3°41'09"S; 38°38'01"O	C. A. A. Azevedo, P. B. Carneiro, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	26/04/2013			x	
IBC 2146	<i>Cryptonemia seminervis</i> 1	Praia do Pacheco, Caucaia, CE	3°41'09"S; 38°38'01"O	C. A. A. Azevedo, P. B. Carneiro, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	26/04/2013		X		
IBC 2147	<i>Halymenia</i> sp. 2	Praia do Pacheco, Caucaia, CE	3°41'09"S; 38°38'01"O	C. A. A. Azevedo, P. B. Carneiro, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	26/04/2013	57793	X	x	
IBC 2148	<i>Halymenia</i> sp. 2	Praia do Pacheco, Caucaia, CE	3°41'09"S; 38°38'01"O	C. A. A. Azevedo, P. B. Carneiro, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	26/04/2013	57779	X	x	

Tabela 2. Continuação.

Código de Coleta	Espécie	Local de coleta	Latitude/Longitude	Coletor (s)	Data	SPF	Marcadores Moleculares		
							UPA	COI-5P	rbcL
IBC 2149	<i>Halymenia</i> sp. 2	Praia do Pacheco, Caucaia, CE	3°41'09"S; 38°38'01"O	C. A. A. Azevedo, P. B. Carneiro, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	26/04/2013			x	
IBC 2150	<i>"Cryptonemia" bengryi</i>	Praia do Pacheco, Caucaia, CE	3°41'09"S; 38°38'01"O	C. A. A. Azevedo, P. B. Carneiro, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	26/04/2013		X	x	
IBC 2151	<i>Halymenia</i> sp. 2	Praia do Pacheco, Caucaia, CE	3°41'09"S; 38°38'01"O	C. A. A. Azevedo, P. B. Carneiro, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	26/04/2013		X	x	
IBC 2152	<i>Cryptonemia seminervis</i> 1	Praia de Ponta Grossa, Icapuí, CE	4°37'37.6"S; 37°30'16.0"O	C. A. A. Azevedo e T. Vieira-Pinto	27/04/2013		X		
IBC 2153	<i>Halymenia ignifera</i>	Praia de Ponta Grossa, Icapuí, CE	4°37'37.6"S; 37°30'16.0"O	C. A. A. Azevedo e T. Vieira-Pinto	27/04/2013	57870	X	KT807813	
IBC 2154	<i>"Cryptonemia" bengryi</i>	Praia de Ponta Grossa, Icapuí, CE	4°37'37.6"S; 37°30'16.0"O	C. A. A. Azevedo e T. Vieira-Pinto	27/04/2013		X	x	
IBC 2157	<i>"Cryptonemia" bengryi</i>	Praia da Caponga, Cascavel, CE	4°02'23"S; 38°11'32"O	C. A. A. Azevedo e T. Vieira-Pinto	28/04/2013	57805	X	x	x
IBC 2158	<i>"Cryptonemia" bengryi</i>	Praia da Caponga, Cascavel, CE	4°02'23"S; 38°11'32"O	C. A. A. Azevedo e T. Vieira-Pinto	28/04/2013		X	x	
IBC 2159	<i>Cryptonemia seminervis</i> 1	Praia de Stella Maris, Salvador, BA	12°56'41.5"S; 38°20'04.7"O	C. A. A. Azevedo e T. Vieira-Pinto	22/05/2013			x	
IBC 2160	<i>Cryptonemia seminervis</i> 1	Praia de Stella Maris, Salvador, BA	12°56'41.5"S; 38°20'04.7"O	C. A. A. Azevedo e T. Vieira-Pinto	22/05/2013	57808	X		
IBC 2161	<i>Halymeniales</i> sp. 1	Banco da Panela, Salvador, BA	12°57'59"S; 38°31'37"O	B. Torrano-Silva e M. Jamas	22/05/2013	57811	X	x	x
IBC 2164	<i>Halymeniales</i> sp. 1	Banco da Panela, Salvador, BA	12°57'59"S; 38°31'37"O	B. Torrano-Silva e M. Jamas	22/05/2013		X	x	

Tabela 2. Continuação.

Código de Coleta	Espécie	Local de coleta	Latitude/Longitude	Coletor (s)	Data	SPF	Marcadores Moleculares		
							UPA	COI-5P	rbcL
IBC 2165	Halymeniales sp. 2	Banco da Panela, Salvador, BA	12°57'59"S; 38°31'37"O	B. Torrano-Silva e M. Jamas	22/05/2013			x	x
IBC 2170	<i>Cryptonemia seminervis</i> 1	Praia de Jauá, Camaçari, BA	12°44'S; 38°08'O	B. Torrano-Silva e M. Jamas	22/05/2013		X	x	
IBC 2173	<i>Cryptonemia seminervis</i> 1	Praia da Coroa, Ilha de Itaparica, Vera Cruz, BA	13°00'39.7"S; 38°38'26.6"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto, B. Torrano-Silva e M. Jamas	23/05/2013	57809	X		x
IBC 2175	<i>"Halymenia" floridana</i>	Praia de Guarajuba, Camaçari, BA	12°38'58"S; 38°03'37"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	26/05/2013	57812	X		x
IBC 2176	<i>"Cryptonemia" crenulata</i>	Praia de Guarajuba, Camaçari, BA	12°38'58"S; 38°03'37"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	26/05/2013	57810	X		x
IBC 2177	<i>"Cryptonemia" crenulata</i>	Praia de Guarajuba, Camaçari, BA	12°38'58"S; 38°03'37"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	26/05/2013		X	x	
IBC 2178	<i>"Cryptonemia" crenulata</i>	Praia de Guarajuba, Camaçari, BA	12°38'58"S; 38°03'37"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	26/05/2013		X	x	
IBC 2179	<i>"Cryptonemia" crenulata</i>	Praia de Guarajuba, Camaçari, BA	12°38'58"S; 38°03'37"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	26/05/2013		X	x	x
IBC 2180	<i>"Cryptonemia" delicatula</i>	Praia de Subaúma, Entre Rios, BA	12°13'57"S; 37°45'59"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	27/05/2013	57783	X	x	x
IBC 2181	<i>"Cryptonemia" delicatula</i>	Praia de Subaúma, Entre Rios, BA	12°13'57"S; 37°45'59"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	27/05/2013		X		

Tabela 2. Continuação.

Código de Coleta	Espécie	Local de coleta	Latitude/Longitude	Coletor (s)	Data	SPF	Marcadores Moleculares		
							UPA	COI-5P	rbcL
IBC 2182	<i>"Cryptonemia" delicatula</i>	Praia de Subaúma, Entre Rios, BA	12°13'57"S; 37°45'59"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	27/05/2013				
IBC 2183	<i>Corynomorpha</i> cf. <i>clavata</i>	Praia de Subaúma, Entre Rios, BA	12°13'57"S; 37°45'59"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	27/05/2013	57790	X	x	x
IBC 2184	<i>Corynomorpha</i> cf. <i>clavata</i>	Praia de Subaúma, Entre Rios, BA	12°13'57"S; 37°45'59"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	27/05/2013		X		
IBC 2190	<i>"Cryptonemia" crenulata</i>	Praia de Subaúma, Entre Rios, BA	12°13'57"S; 37°45'59"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	27/05/2013		X	x	
IBC 2191	<i>Corynomorpha</i> cf. <i>clavata</i>	Praia de Subaúma, Entre Rios, BA	12°13'57"S; 37°45'59"O	C. A. A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva	27/05/2013		X	x	
IBC 2193	<i>Grateloupia filiformis</i>	Praia Vermelha, Ubatuba, SP	23°30'23.7"S; 45°10'22.2"O	M. C. Oliveira e E. C. Oliveira	17/10/2013		X	x	
IBC 2194	<i>Cryptonemia seminervis</i> 2	Praia da Foca, Armação dos Búzios, RJ	22°45'55"S; 41°52'43"O	C. A. A. Azevedo, V. Cassano e M. Mungoli	14/03/2014	57776			x
IBC 2195	<i>Cryptonemia seminervis</i> 3	Praia da Foca, Armação dos Búzios, RJ	22°45'55"S; 41°52'43"O	C. A. A. Azevedo, V. Cassano e M. Mungoli	14/03/2014	57777			x
IBC 2201	<i>Grateloupia</i> cf. <i>filicina</i> 1	Praia Rasa, Armação dos Búzios, RJ	22°43'59.5"S; 41°57'26.1"O	C. A. A. Azevedo, V. Cassano e M. Mungoli	17/03/2014		X	x	
IBC 2202	<i>"Grateloupia" gibbesii</i>	Praia Rasa, Armação dos Búzios, RJ	22°43'59.5"S; 41°57'26.1"O	C. A. A. Azevedo, V. Cassano e M. Mungoli	17/03/2014		X	x	
IBC 2203	<i>Grateloupia turuturu</i>	Praia da Armação, Florianópolis, SC	27°44'57"S; 48°29'59"O	P. Horta	30/01/2011				KP976174

Tabela 2. Continuação.

Código de Coleta	Espécie	Local de coleta	Latitude/Longitude	Coletor (s)	Data	SPF	Marcadores Moleculares		
							UPA	COI-5P	rbcL
IBC 2204	<i>Grateloupia turuturu</i>	Praia do Saquinho, Florianópolis, SC	27°80'31"S; 48°53'64"O	M. B. Batista	13/09/2011		X	KP976172	KP976177
IBC 2205	<i>"Halymenia" floridana</i>	Praia Ponta das Canas, Florianópolis, SC	27°24'35.2"S; 48°25'42.9"O	M. B. Batista	16/06/2011				x
IBC 2206	<i>Grateloupia turuturu</i>	Praia do Saquinho, Florianópolis, SC	27°80'31"S; 48°53'64"O	M. B. Batista	13/09/2011				KP976176
IBC 2207	<i>Grateloupia turuturu</i>	Praia da Armação, Florianópolis, SC	27°44'57"S; 48°29'59"O	M. B. Batista	30/01/2011		X	KP976171	KP976175
IBC 2208	<i>Grateloupia</i> cf. <i>dichotoma</i>	Ilha do Mel, Ilha do Mel, PR	25°30'S; 48°18'O	V. Cassano	12/07/2014		X	x	x
IBC 2209	<i>"Grateloupia" gibbesii</i>	Praia Vermelha, Rio de Janeiro, RJ	22°57'23.4"S; 43°09'51.1"O	J. de Paula	11/08/2014		X		
IBC 2210	<i>"Halymenia" floridana</i>	Ponta de Castelhanos, Anchieta, ES	20°50'03"S; 40°37'20"O	T. Vieira-Pinto	09/09/2014		X		
IBC 2211	<i>Grateloupia</i> cf. <i>dichotoma</i>	Praia da Cruz, Marataízes, ES	21°01'58.2"S; 40°48'43.9"O	T. Vieira-Pinto	10/09/2014		X		
IBC 2212	<i>"Grateloupia" gibbesii</i>	Praia da Cruz, Marataízes, ES	21°01'58.2"S; 40°48'43.9"O	T. Vieira-Pinto	10/09/2014		X		
IBC 2213	<i>Grateloupia filiformis</i>	Praia de Japaratinga, Jarapatinga, AL	9°05'49"S; 35°15'28"O	V. Cassano			X		
IBC 2215	<i>Cryptonemia seminervis</i> 2	Ilha do Vigia, Cabo Frio, RJ	22°52'06.1"S; 41°58'50.0"O	C. A. A. Azevedo, V. Cassano e M. Mungioli	07/03/2015		X		
IBC 2216	<i>Cryptonemia seminervis</i> 3	Ilha do Vigia, Cabo Frio, RJ	22°52'06.1"S; 41°58'50.0"O	C. A. A. Azevedo, V. Cassano e M. Mungioli	07/03/2015		X		
IBC 2217	<i>Cryptonemia seminervis</i> 3	Ilha do Vigia, Cabo Frio, RJ	22°52'06.1"S; 41°58'50.0"O	C. A. A. Azevedo, V. Cassano e M. Mungioli	07/03/2015		X		
IBC 2218	<i>"Halymenia" floridana</i>	Praia Rasa, Armação dos Búzios, RJ	22°43'59.5"S; 41°57'26.1"O	C. A. A. Azevedo, V. Cassano e M. Mungioli	08/03/2015				x
IBC 2219	<i>Cryptonemia seminervis</i> 1	Praia Rasa, Armação dos	22°43'59.5"S; 41°57'26.1"O	C. A. A. Azevedo, V.	08/03/2015		X		

Tabela 2. Continuação.

Código de Coleta	Espécie	Local de coleta	Latitude/Longitude	Coletor (s)	Data	SPF	Marcadores Moleculares		
							UPA	COI-5P	rbcl
IBC 2220	<i>Cryptonemia seminervis</i> 1	Búzios, RJ Praia Rasa, Armação dos	22°43'59.5"S; 41°57'26.1"O	Cassano e M. Mungioli C. A. A. Azevedo, V.	08/03/2015		X		
IBC 2221	<i>Cryptonemia seminervis</i> 3	Búzios, RJ Praia da Ferradurinha, Armação dos Búzios, RJ	22°46'53.3"S; 41°53'59.1"O	Cassano e M. Mungioli C. A. A. Azevedo, V.	09/03/2015		X		x
IBC 2222	<i>Cryptonemia seminervis</i> 2	Praia da Ferradurinha, Armação dos Búzios, RJ	22°46'53.3"S; 41°53'59.1"O	Cassano e M. Mungioli C. A. A. Azevedo, V.	09/03/2015		X		x
IBC 2223	<i>"Grateloupia" gibbesii</i>	Praia da Foca, Armação dos Búzios, RJ	22°45'55.2"S; 41°52'43.6"O	Cassano e M. Mungioli C. A. A. Azevedo, V.	09/03/2015		X		x
IBC 2224	<i>Cryptonemia seminervis</i> 2	Praia da Foca, Armação dos Búzios, RJ	22°45'55.2"S; 41°52'43.6"O	Cassano e M. Mungioli C. A. A. Azevedo, V.	09/03/2015		X		
IBC 2225	<i>Cryptonemia seminervis</i> 2	Praia da Foca, Armação dos Búzios, RJ	22°45'55.2"S; 41°52'43.6"O	Cassano e M. Mungioli C. A. A. Azevedo, V.	09/03/2015		X		
IBC 2226	<i>"Grateloupia" gibbesii</i>	Praia de Cibratel, Itanhaém, SP	24°12'06.5"S; 46°48'40.1"O	Cassano e M. Mungioli C. A. A. Azevedo e M. Mungioli	20/03/2015				x
IBC 2228	<i>"Grateloupia" gibbesii</i>	Praia Desertinha, costão esquerdo, Peruíbe, SP	24°25'49.28"S; 47°02'46.14"O	Cassano e M. Mungioli C. A. A. Azevedo e M. Mungioli	04/05/2015				x
IBC 2235	<i>Grateloupia</i> cf. <i>dichotoma</i>	Praia de Guaraú, Peruíbe, SP	24°22'01.98"S; 47°00'32.33"O	Cassano e M. Mungioli C. A. A. Azevedo e M. Mungioli	05/05/2015				x
IBC 2247	<i>Grateloupia yangjiangensis</i>	Praia do Lázaro, Ubatuba, SP	23°30'31.12"S; 45°08'09.72"O	Cassano e M. Mungioli C. A. A. Azevedo e M. Mungioli	17/05/2015				x
IBC 2248	<i>Grateloupia orientalis</i>	Praia do Lázaro, Ubatuba, SP	23°30'31.12"S; 45°08'09.72"O	Cassano e M. Mungioli C. A. A. Azevedo e M. Mungioli	17/05/2015				x
IBC 2528	<i>Halymenia silviae</i>	Ponta do Corumbau, Prado, BA	16°54'05"S; 39°07'10"O	B. Torrano-Silva, J. Pires e A. S. Santos	13/05/2014	57875		KT807814	
IBC 2540	<i>Halymenia silviae</i>	Ponta do Corumbau, Prado, BA	16°54'05"S; 39°07'10"O	B. Torrano-Silva, J. Pires e A. S. Santos	13/05/2014	57876		KT807822	

Tabela 2. Continuação.

Código de Coleta	Espécie	Local de coleta	Latitude/Longitude	Coletor (s)	Data	SPF	Marcadores Moleculares		
							UPA	COI-5P	<i>rbcL</i>
IBC 2616	<i>Grateloupia filiformis</i>	Praia do Morro de Pernambuco, Ilhéus, BA	14°48'21.8"S; 39°01'24.4"O	J. Pires, A. S. Santos e B. Torrano-Silva	13/05/2014			x	

3.2 Procedimentos Moleculares

Para os estudos moleculares, foram retiradas porções apicais dos talos, as quais foram desidratadas e armazenadas em sílica gel. O restante da alga foi colocado em solução de formol salino 4% ou diretamente herborizadas para as análises morfológicas descritas abaixo. A extração de DNA foi feita a partir do talo desidratado e macerado manualmente em nitrogênio líquido ou submetido à homogeneização em equipamento Precellys®24-Dual (Bertin Technologies, Aix-em-Provence, França). A extração de DNA foi realizada através de método manual (Faugeron *et al.* 2001) ou com uso de resina de Chélex®100 (Bio-Rad, Hercules, EUA), segundo Goff & Moon (1993). Depois de extraído, o DNA foi submetido à eletroforese em gel de agarose e quantificado em espectrofotômetro *Nanodrop 2000* (Thermo Scientific, Waltham, EUA), para verificação da qualidade do processo de extração.

Os marcadores moleculares empregados foram UPA (Sherwood & Presting, 2007), o marcador mitocondrial COI-5P (Saunders 2005) e o *rbcL* (Freshwater *et al.* 1994). Os *primers* que resultaram em ampliações e sequenciamentos bem sucedidos estão descritos na Tabela 3, de acordo com cada marcador molecular. As reações de PCR foram realizadas com kit *Taq DNA Polymerase Recombinant* (Invitrogen, Life Technologies, Grand Island, EUA), em volume total de 50 µL. Amostras que não amplificaram nessas condições foram repetidas com uso do kit *Phire® Plant Direct PCR* (Finnzymes, Thermo Scientific, Waltham, EUA). Os ciclos de PCR utilizados para cada marcador foram:

- (i) UPA: 94°C por 2 min (desnaturação inicial) / 35 ciclos de 94°C por 20 s, 55°C por 30 s, 72°C por 30 s / 72°C por 10 min (extensão final) (Sherwood & Presting 2007);
- (ii) COI-5P: 94°C por 2 min (desnaturação inicial) / 5 ciclos de 94°C por 30 s, 45°C por 30 s, 72°C por 1 min / 35 ciclos de 94°C por 30 s, 46,5°C por 30 s, 72°C por 1 min / 72°C por 7 min (extensão final) (Saunders & Moore 2013);
- (iii) *rbcL*: 94°C por 2 min (desnaturação inicial) / 35 ciclos de 94°C por 30 s, 45°C por 1 min, 72°C por 2 min / 72°C por 4 min (extensão final) (Freshwater *et al.* 1994).

Os produtos de PCR foram purificados com Kit *Illustra™ GTX™ PCR DNA and GEL BAND PURIFICATION* (GE Healthcare, Buckinghamshire, Inglaterra), segundo instruções do fabricante. As quantificações foram realizadas em espectrofotômetro *Nanodrop 2000* (Thermo Scientific, Waltham, EUA). As reações de sequenciamento foram realizadas com uso do Kit de Sequenciamento *BigDye™ Terminator v3.1* (Applied Biosystems, Life Technologies, Grand Island, EUA), segundo instruções do fabricante. As amostras foram sequenciadas em equipamento *Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer* ou *Applied Biosystems 3730 DNA Analyzer*.

Em relação ao marcador COI-5P, houve grande dificuldade de amplificação dessa região e várias tentativas foram realizadas até a obtenção dos dados apresentados neste estudo. As sequências de COI-5P foram obtidas durante o estágio no exterior (Bolsa BEPE-FAPESP, de 23 de abril a 22 de outubro de 2014), em colaboração com o Dr. Gary Saunders, *University of New Brunswick*, Canadá, pesquisador de extensa experiência na amplificação e no sequenciamento da região gênica COI-5P em algas vermelhas. No total, foram testadas 16 combinações de *primers*, das quais 14 combinações não resultaram em amplificação (Tabela 4).

Durante a realização do estágio no exterior, as amostras foram processadas de acordo com Saunders & McDevit (2012) para extração de DNA e conforme Saunders & Moore (2013) para as reações de PCR. Esses procedimentos foram conduzidos no *Centre for Environmental & Molecular Algal Research, Department of Biology, University of New Brunswick, Fredericton, New Brunswick, Canadá*. Nesse caso, as reações de sequenciamento foram realizadas na *McGill University and Génome Québec Innovation Centre, Montréal, Canadá*.

Tabela 3. *Primers* utilizados para amplificação e sequenciamento de cada marcador molecular.

Marcador	Primers	Direção	Referência
UPA	p23SrV_f1 (GGACAGAAAGACCCTATGAA)	F	Sherwood & Presting (2007)
	p23SrV_r1 (TCAGCCTGTTATCCCTAGAG)	R	Sherwood & Presting (2007)
COI-5P	M13LF3 (TGTAACACGACGGCCAGTACHAAYCAYAARGATATHGG)	F	Saunders & Moore (2013)
	M13Rx (CAGGAAACAGCTATGACACTTCTGGRTGICCRAARAAYCA)	R	Saunders & Moore (2013)
	M13Ri (CAGGAAACAGCTATGACGGRTGICCRAARAAYCARAA)	R	Saunders & Moore (2013)
<i>rbcL</i>	FrbcL-Start (ATGTCTAACTCTGTAGAAG)	F	Freshwater <i>et al.</i> (1994)
	R753a (GCTCTTTCRTACATATCYTC)	R	Freshwater <i>et al.</i> (1994)
	F492a (CGYATGGAYAAATTTGGACG)	F	Freshwater <i>et al.</i> (1994)
	R1150 (GCATTTGTCCGAGTGAATACC)	R	Freshwater <i>et al.</i> (1994)
	F993 (GGTACTGTTGTAGGTAAATTWGAAGG)	F	Freshwater <i>et al.</i> (1994)
	RbcS-Start (GTTCTTGTTAATCTCAC)	R	Freshwater <i>et al.</i> (1994)
	F57 (GTAATTCCATATGCTAAAATGGG)	F	Freshwater & Rueness (1994)
	TLR4 (AAYTCWGCCCTTTCRTACAT)	R	Saunders & Moore (2013)
	TLF5 (TCWCARCCWTTYATGCGTTGG)	F	Saunders & Moore (2013)
	rbcLrevNew (ACATTTGCTGTTGGAGTYTC)	R	Saunders & Moore (2013)

Tabela 4. Combinações de *primers* testados para o marcador COI-5P que não resultaram em amplificação.

<i>Primer F</i>		<i>Primer R</i>
GazF1 (TCAACAAATCATAAAGATATTGG) Saunders (2005)	x	GazR1 (ACTTCTGGATGTCCAAAAAYCA) Saunders (2005)
GWSFn (TCAACAAAYCAYAAAGATATYGG) Yang <i>et al.</i> (2013)	x	GWSRn (GGRTGTCCRAARAAYCARAA) Yang & Kim (2014b)
GazF1 (TCAACAAATCATAAAGATATTGG) Saunders (2005)	x	COX1R1 (GTATACATATGATGHGCTCAA) Saunders (2008)
GWSFn (TCAACAAAYCAYAAAGATATYGG) Yang <i>et al.</i> (2013)	x	GWSRx (ACTTCTGGRTGICCRAARAAYCA) Saunders & Moore (2013)
GWSLF2 (CAAAYCAYAARGATATHGGNAC) Saunders & Moore (2013)	x	GWSRi (GGRTGICCRAARAAYCARAA) Saunders & Moore (2013)
GWSFn (TCAACAAAYCAYAAAGATATYGG) Yang <i>et al.</i> (2013)	x	GWSRi (GGRTGICCRAARAAYCARAA) Saunders & Moore (2013)
GWSLF2 (CAAAYCAYAARGATATHGGNAC) Saunders & Moore (2013)	x	GWSRx (ACTTCTGGRTGICCRAARAAYCA) Saunders & Moore (2013)
GWSLF3 (ACHAAYCAYAARGATATHGG) Saunders & Moore (2013)	x	GWSRn (GGRTGTCCRAARAAYCARAA) Yang & Kim (2014b)
GazF1 (TCAACAAATCATAAAGATATTGG) Saunders (2005)	x	GWSRx (ACTTCTGGRTGICCRAARAAYCA) Saunders & Moore (2013)
GWSFn (TCAACAAAYCAYAAAGATATYGG) Yang <i>et al.</i> (2013)	x	GazR1 (ACTTCTGGATGTCCAAAAAYCA) Saunders (2005)
GWSFn (TCAACAAAYCAYAAAGATATYGG) Yang <i>et al.</i> (2013)	x	GWSRx (ACTTCTGGRTGICCRAARAAYCA) Saunders & Moore (2013)
GWSLF3 (ACHAAYCAYAARGATATHGG) Saunders & Moore (2013)	x	GWSRx (ACTTCTGGRTGICCRAARAAYCA) Saunders & Moore (2013)
M13LF2 (TGTAACGACGCGCCAGTCAAAYCAYAARGATATHGGNAC) Saunders & Moore (2013)	x	M13Rx (CAGGAAACAGCTATGACACTTCTGGRTGICCRAARAAYCA) Saunders & Moore (2013)
M13LF2 (TGTAACGACGCGCCAGTCAAAYCAYAARGATATHGGNAC) Saunders & Moore (2013)	x	M13Ri (CAGGAAACAGCTATGACGGRTGICCRAARAAYCARAA) Saunders & Moore (2013)

3.3 Análises Moleculares:

As sequências consenso foram geradas a partir do alinhamento entre a sequência direta e a reversa, realizado nos programas computacionais BioEdit 7.0.9.0 (Hall 1999) ou Sequencher 5.0 (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI). Os cromatogramas foram conferidos nas posições que apresentaram divergências. As sequências geradas neste estudo já foram incluídas no banco de dados BOLD, *The Barcode of Life Data System* (www.barcodinglife.org) (Ratnasingham & Hebert 2007), e estão sendo submetidas ao banco de dados GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) à medida que os artigos científicos estão sendo produzidos. Neste estudo, foram geradas 282 sequências de Halymeniales, sendo 136 do marcador UPA, 88 de COI-5P e 58 de *rbcL*.

As sequências de UPA foram utilizadas para geração de uma árvore de agrupamento, através da aplicação do algoritmo *Neighbor-joining* (NJ), no programa computacional Mega 6 (Tamura *et al.* 2013). A análise de UPA foi realizada com 129 sequências, com 370 pares de base. Os valores de suporte correspondem a 1000 replicações de *Bootstrap*. As distâncias genéticas foram calculadas utilizando o método de *p-Distance* (Nei & Kumar 2000). As posições contendo *gaps* ou dados ausentes foram eliminadas para cada par de sequências (*pairwise deletion*).

Para o COI-5P, a análise de agrupamento também foi realizada através do algoritmo de NJ, no *software* MEGA 6 (Tamura *et al.* 2013). O alinhamento era composto por 88 sequências, com 612 pb. Os valores de *Bootstrap* foram inferidos a partir de 1000 réplicas. O método de *p-Distance* (Nei & Kumar 2000) foi utilizado para estimar as distâncias evolutivas. As posições com ambiguidades foram removidas para cada par de sequências.

Para cada agrupamento genético obtido com os marcadores UPA e COI-5P, foram escolhidos alguns espécimes para produção de sequências de *rbcL*, de maneira a representar todas as linhagens coletadas em um contexto filogenético. Além das sequências de *rbcL* geradas neste estudo, foram incluídas também sequências depositadas nos bancos de dados BOLD e GenBank (os números de acesso dessas sequências estão incluídos nas árvores e na Tabela 5). De acordo com a disponibilidade, foram utilizadas sequências de pelo menos um representante de cada gênero da ordem Halymeniales, e, sempre que possível, foram usadas sequências das espécies-tipo dos gêneros, de preferência

provenientes das localidades-tipo. Além disso, foram incluídas também sequências referentes a espécies citadas para a costa brasileira.

Foram produzidas duas reconstruções filogenéticas: uma considerando apenas o marcador *rbcL*, e outra baseada em um alinhamento concatenado com sequências de COI-5P e *rbcL*. A inferência filogenética apresentada neste estudo foi construída a partir de 99 sequências de *rbcL*, sendo 58 geradas neste estudo. A sequência identificada como “*Cryptonemia limensis* CNU067563 Peru” foi gentilmente cedida por Martha Calderón (Chungnam National University, Daejeon, Coreia). A sequência identificada como “*Tsengia lanceolata* AY294386 South Africa-Western Cape” foi utilizada como grupo externo. O alinhamento final, com 1392 pb de comprimento, foi submetido à análise de Máxima Verossimilhança (ML) na plataforma *online RaxML Blackbox* (Stamatakis *et al.* 2008), utilizando o modelo GTR+G+I (por padronização – *by default*). O alinhamento foi particionado de acordo com as posições dos códons, correspondendo, portanto, a três partições. Os valores de *Bootstrap* foram obtidos a partir de 100 replicações.

A análise concatenada (COI-5P + *rbcL*) foi realizada utilizando apenas uma sequência representante de cada linhagem obtida até o momento. O alinhamento concatenado foi composto por 73 sequências, com 2053 pb. Os números de acesso referentes às sequências obtidas nos bancos de dados BOLD e GenBank estão apresentados na Tabela 5. A sequência identificada como “*Tsengia* sp. (2LH) GWS023643” foi gentilmente cedida pelo Dr. Gary W. Saunders e utilizada como grupo externo. O alinhamento foi então submetido à análise de ML na plataforma *online RaxML Blackbox* (Stamatakis *et al.* 2008), utilizando o modelo de substituição de nucleotídeos GTR+G+I (por padronização – *by default*). O alinhamento foi particionado por gene e de acordo com as posições dos códons, totalizando seis partições. Os valores de *Bootstrap* foram inferidos a partir de 100 replicações.

Tabela 5. Números de acesso para sequências utilizadas na análise concatenada. A sequência obtida no banco de dados BOLD está indicada. As demais sequências foram obtidas no banco de dados GenBank.

Espécie e Local de Coleta	COI-5P	RbcL
<i>Acrodiscus vidovichii</i> Croácia, Mar Adriático	-	KJ594952
<i>Aeodes nitidissima</i> Nova Zelândia, Pacífico Sul	-	EU497914
<i>Amalthea freemaniae</i> Nova Zelândia, Pacífico Sul	-	KJ606651
<i>Carpopeltis phyllophora</i> Austrália, Mar da Tasmânia	-	FN908164
<i>Codiophyllum natalense</i> África do Sul, Oceano Índico	-	FN908160
<i>Corynomorpha prismatica</i> Madagascar, Canal de Moçambique	KJ594946	KJ594955
<i>Corynomorpha clavata</i> EUA, Flórida, Atlântico Norte	-	AY294360
<i>Cryptonemia bengryi</i> Panamá, Mar do Caribe	-	AY178766
<i>Cryptonemia lomation</i> França, Mar Mediterrâneo	-	FN908155
<i>Cryptonemia luxurians</i> Brasil, RJ	-	AF488813
<i>Dermocorynus dichotomus</i> França, Mar Mediterrâneo	-	AY775387
<i>Dermocorynus montagnei</i> Irlanda, Atlântico Norte	-	AY435171
<i>Epiphloea bullosa</i> Austrália, Oceano Índico	-	FN908149
<i>Felcinia marginata</i> França, Mar Tirreno	-	KJ594954
<i>Galene profunda</i> Nova Zelândia, Mar da Tasmânia	-	KJ606645
<i>Gelinaria ulvoidea</i> Austrália, Oceano Índico	-	FN908154
<i>Glaphyrosiphon intestinalis</i> Nova Zelândia, Pacífico Sul	-	GU252163
<i>"Grateloupia dichotoma"</i> Brasil, ES	-	AF488823
<i>Grateloupia doryphora</i> Peru, Pacífico Sul	-	AF488817
<i>Grateloupia filicina</i> Itália, Mar Adriático	-	AB055472
<i>Grateloupia filiformis</i> Brasil, ES	-	AF488822
<i>Grateloupia gibbesii</i> EUA, Carolina do Sul, Atlântico Norte	-	JX645160
<i>Grateloupia orientalis</i> China, Mar da China Meridional	-	LNU092102
<i>Grateloupia subpectinata</i> Japão, Pacífico Norte	KJ648542	KF156718
<i>Grateloupia turuturu</i> Japão, Pacífico Norte	KF475725	AB038611
<i>Grateloupia yangjiangensis</i> China	-	HQ324237
<i>Halymenia floresii</i> Península Ibérica, Atlântico Norte	GQ862071	AY772019 (BOLD)
<i>Halymenia pseudofloresii</i> Bermudas, Atlântico Norte	GQ862076	ABMMC3746-09
<i>Neorubra decipiens</i> Peru, Pacífico Sul	-	KJ561157
<i>Pachymenia carnosa</i> África do Sul, Atlântico Sul	-	AF385640
<i>Pachymeniopsis lanceolata</i> Japão, Baía de Sagami	JX474995	JX475042
<i>Phyllymenia belangeri</i> África do Sul, Atlântico Sul	-	AY772035
<i>Polyopes constrictus</i> Austrália, Estreito de Bass	-	AB084535
<i>Prionitis lanceolata</i> EUA, Califórnia, Pacífico Norte	GQ497308	PLU04216
<i>Ramirezia osornoensis</i> Sul do Chile, Pacífico Sul	-	KF601433
<i>Spongophloea tissotii</i> Austrália, Oceano Índico	-	FN908162
<i>Thamnoclonium dichotomum</i> Austrália, Mar da Tasmânia	-	FN908152
<i>Yonagunia tenuifolia</i> Japão, Mar da China Oriental	-	AB116248

Os índices de divergência entre linhagens correspondem a valores de *p-Distance*, calculados no *software* Mega 6 (Tamura *et al.* 2013). Foi utilizada a *pairwise deletion* de posições com ambiguidades, isto é, as posições com dados ausentes foram removidas para cada par de sequências.

3.4 Estudos Morfológicos:

Para os estudos morfológicos, as amostras foram preservadas em solução de formol salino 4% ou diretamente herborizadas. Os exemplares herborizados foram depositados no Herbário da Universidade de São Paulo (SPF). Foram analisados cinco indivíduos de cada táxon, quando possível. Os protocolos de análise morfológica utilizados neste estudo envolvem aspectos macroscópicos e microscópicos, bem como caracteres vegetativos e reprodutivos (Anexos I e II). Entre as características macroscópicas, foram observados os seguintes aspectos do talo: cor, formato (folioso, achatado ou cilíndrico), textura, tipo de ramificação, altura do talo, largura das frondes, forma e tamanho do estipe, forma e tamanho do apressório e presença de nervura. Aspectos microscópicos foram analisados em microscópio óptico, através de cortes histológicos à mão livre, corados com azul de anilina 1% acidificada com HCl 1N. Os cortes histológicos foram realizados em três regiões do talo: apical (a uma distância de até 0,5 cm do ápice), mediana (equidistante entre o ápice e a base) e basal (na fronde, imediatamente acima do estipe). As preparações de esmagamento foram feitas após imersão em HCl 1% por 3-5 minutos. Os caracteres vegetativos analisados foram: espessura do talo, disposição das células no córtex e na Região medular, medidas das células corticais e Região medularres e presença de células ganglionares e estreladas. Para diferenciar células ganglionares e estreladas, foi adotada a definição de Guimarães & Fujii (1998), segundo a qual células ganglionares consistem em filamentos conectados com conteúdo refringente, paralelos à superfície do talo, enquanto que células estreladas possuem conteúdo normal e são derivadas do esticamento do talo em crescimento. Já os caracteres reprodutivos foram: localização e desenvolvimento de espermatângios, aspecto das ampolas da célula auxiliar, localização e medidas dos cistocarpos e desenvolvimento e medidas dos tetrasporângios.

As imagens macroscópicas foram obtidas com câmera *Panasonic Lumix DMC-TS20* (Japão) ou com Lupa ZEISS Discovery V8 (Carl Zeiss, Oberkochen, Alemanha). As imagens microscópicas, por sua vez, foram capturadas com câmera Leica DFC 420 acoplada ao microscópio Leica DM 4000B (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha), ou com câmera *Panasonic Lumix DMC-TS20* (Japão) acoplada ao microscópio Nikon Eclipse E200 (Tóquio, Japão).

4. Resultados e Discussão

4.1 Sinopse dos táxons encontrados

Halymeniaceae Kützing

Corynomorpha J. Agardh

Corynomorpha cf. *clavata* (Harvey) J. Agardh**

Cryptonemia J. Agardh

“Cryptonemia” bengryi W.R. Taylor

“Cryptonemia” crenulata 1 (J. Agardh) J. Agardh

“Cryptonemia” crenulata 2 (J. Agardh) J. Agardh

“Cryptonemia” crenulata 3 (J. Agardh) J. Agardh

“Cryptonemia” delicatula Joly & Cordeiro

Cryptonemia seminervis 1 (C. Agardh) J. Agardh

Cryptonemia seminervis 2 (C. Agardh) J. Agardh**

Cryptonemia seminervis 3 (C. Agardh) J. Agardh**

Halymenia C. Agardh

“Halymenia” elongata Sonder

“Halymenia” floridana J. Agardh

Halymenia ignifera C.A.A. Azevedo, Cassano & M.C. Oliveira**

Halymenia pinnatifida C.A.A. Azevedo, Cassano & M.C. Oliveira**

Halymenia silviae C.A.A. Azevedo, Cassano & M.C. Oliveira**

Halymenia sp. 1

Halymenia sp. 2

Grateloupia C. Agardh

Grateloupia cf. *dichotoma* J. Agardh**

Grateloupia cf. *filicina* 1 (J.V. Lamouroux) C. Agardh**

Grateloupia cf. *filicina* 2 (J.V. Lamouroux) C. Agardh**

Grateloupia filiformis Kützing

“Grateloupia” gibbesii Harvey

Grateloupia orientalis Showe M. Ling & H.Y. Liang*

“Grateloupia” turuturu Yamada*

Grateloupia yangjiangensis W.-X. Li & Z.-F. Ding*

Halymeniales sp. 1**

Halymeniales sp. 2**

² * Indica novas citações para o Atlântico Sudoeste;

** Indica espécies novas para a ciência;

Nomes com gêneros grafados entre aspas se referem a espécies que, segundo dados moleculares, não correspondem ao gênero no qual estão atualmente incluídas.

Neste estudo, foram encontrados 26 táxons. Antes da realização deste estudo, havia registros de 24 espécies de Halymeniales para a costa brasileira, das quais nove não foram coletadas no presente estudo, são elas: *Cryptonemia flabellifolia*, *Grateloupia subpectinata*, *Halymenia brasiliana*, *H. clathrata*, *H. duchassaingii*, *H. integra*, *H. rosea*, *H. vinacea* e *Tsengia* sp. Três outros táxons citados anteriormente para o Brasil, *Cryptonemia limensis*, *Grateloupia cuneifolia* e *G. doryphora*, foram redefinidos com base em nossos dados moleculares.

Dentre as espécies citadas na “Sinopse dos táxons”, três delas, *Halymenia ignifera*, *H. pinnatifida* e *H. silviae* foram descritas como novas para a ciência em um manuscrito submetido ao periódico *Phycologia* (Anexo III).

4.2 Resultados Moleculares

A partir da análise das árvores obtidas (Figuras 2, 3, 4 e 5) e das matrizes de divergência dos nucleotídeos (Tabelas 6 e 7), é possível observar que foram coletadas e sequenciadas pelo menos 26 espécies de Halymeniales.

UPA

Para o marcador UPA, entre as 136 sequências geradas, sete se posicionaram em clados de diferentes espécies e até diferentes gêneros, conflitantes com os outros marcadores obtidos. Por essa razão, essas amostras foram consideradas resultantes de

contaminações e, portanto, foram excluídas da análise de NJ (Figura 2). Não foi possível obter sequências desse marcador para os táxons *Grateloupia yangjiangensis* e “Halymeniales sp. 2”. A análise de agrupamento de UPA resultou, portanto, na delimitação de 22 grupos genéticos, dos quais a maioria apresentou elevado suporte de *Bootstrap*.

Espécimes de *Corynomorpha* cf. *clavata* formaram um clado de suporte máximo de *Bootstrap* (100%), assim como “*Cryptonemia*” *bengryi*, “*Cryptonemia*” *crenulata*, *Grateloupia* cf. *filicina* 2 e Halymeniales sp. 1. Indivíduos de “*Cryptonemia*” *delicatula* constituíram um clado com 99% de suporte, enquanto que amostras atribuídas a *Cryptonemia seminervis* estiveram divididas em três clados distintos, nomeados *Cryptonemia seminervis* 1, *Cryptonemia seminervis* 2 e *Cryptonemia seminervis* 3, cujos valores de *Bootstrap* foram, respectivamente, 93, 84 e 91%.

Em relação às amostras até então atribuídas ao gênero *Halymenia*, “*Halymenia*” *elongata* e “*Halymenia*” *floridana* apresentaram suporte de 99 e 93%, respectivamente. Espécimes que até a realização deste estudo eram morfologicamente atribuídos a *Halymenia floresii* constituíram dois clados distintos correspondentes às espécies novas *Halymenia ignifera* e *Halymenia pinnatifida*. O suporte foi inferior a 50% no clado de UPA de *Halymenia ignifera*, enquanto que para *Halymenia pinnatifida*, apenas uma sequência de UPA foi obtida, e, portanto, o cálculo de *Bootstrap* não se aplica. Para as espécies *Halymenia silviae* e *Halymenia* sp. 2, esses valores foram de 97 e 99%. *H. silviae* é uma nova espécie proposta para acomodar indivíduos previamente identificados como *H. pseudofloresii*.

Exemplares morfologicamente identificados como *Grateloupia filicina* formaram dois clados diferentes, tratados aqui como *Grateloupia* cf. *filicina* 1 e *Grateloupia* cf. *filicina* 2, cujos valores de suporte foram 88% e 100%, respectivamente. Para as espécies *Grateloupia* cf. *dichotoma*, “*Grateloupia*” *gibbesii*, *Grateloupia filiformis* e “*Grateloupia*” *turuturu*, os valores foram de 99%, 98%, 95% e 94%, respectivamente. *Grateloupia orientalis* constituiu um clado com 57% de suporte de *Bootstrap*.

Neste estudo, a divergência intraespecífica do marcador UPA variou de 0-1,1%. O maior índice de divergência intraespecífica foi registrada no táxon *Halymenia ignifera*, cujo valor de *p-Distance* foi de 1,1%, correspondente a uma diferença de 4 pares de base (Tabela 6). Em seguida, tem-se os clados de “*Halymenia*” *elongata* e *Grateloupia*

filiformis com divergência de 0,5% (diferença de 2 pb), enquanto que para “*Cryptonemia*” *crenulata*, *Cryptonemia seminervis* 1, *Grateloupia* cf. *dichotoma* e “*Grateloupia*” *gibbesii* esse valor foi de 0,3% (diferença de 1 pb). Para todos os outros táxons, não foi observada divergência.

Neste estudo, a divergência interespecífica do marcador UPA variou de 0,5-3,2%. Esses valores são comparáveis aos encontrados em estudos prévios com outros gêneros de Rhodophyta, tais como, *Gracilariopsis* (0,8-3,7%), *Hypnea* (2,5-4,4%) e *Gelidium* (0,6%) (Costa *et al.* 2012; Nauer *et al.* 2014; Iha *et al.* 2015). Considerando o gênero *Cryptonemia*, os menores valores foram observados entre *Cryptonemia seminervis* 1 e *Cryptonemia seminervis* 2 (0,8-1,1%), *Cryptonemia seminervis* 2 e *Cryptonemia seminervis* 3 (0,8%) e *Cryptonemia seminervis* 2 e “*Halymenia*” *floridana* (0,8%). O maior valor ocorreu entre *Cryptonemia seminervis* 1 e “*Halymenia*” *floridana* (1,6-2,0%). Os dados de *rbcL* que serão detalhados adiante suportam a transferência de “*Halymenia*” *floridana* para o gênero *Cryptonemia*. Para o gênero *Halymenia*, o menor valor foi de 0,8-1,6%, entre *Halymenia ignifera* e *Halymenia pinnatifida*, e o maior foi de 3,2%, entre *Halymenia* sp. 1 e *Halymenia* sp. 2. Em relação ao gênero *Grateloupia*, a menor divergência interespecífica ocorreu entre os táxons *Grateloupia* cf. *filicina* 2 e *Grateloupia orientalis*, que divergiram em apenas 0,5 %, enquanto que o maior valor foi de 2,4-3,0%, entre *Grateloupia* cf. *filicina* 2 e *Grateloupia filiformis* (Tabela 7). Neste estudo, observa-se uma sobreposição entre os valores de divergência intra e interespecífica para o marcador UPA, o que também já foi encontrado em estudos anteriores de Halymeniaceae (Yang & Kim 2014b).

COI-5P:

Em relação ao marcador COI-5P, observou-se grande dificuldade de amplificação dessa região gênica. Estudos relatam dificuldades na amplificação desse marcador em alguns grupos de algas vermelhas, tais como amplificação de contaminantes e necessidade de uso de várias combinações de *primers* ou a necessidade de desenvolver *primers* específicos para algumas linhagens (Clarkston & Saunders 2010; Milstein *et al.* 2012).

Devido à dificuldade de amplificação do COI-5P, foi possível obter esse marcador para apenas 19 grupos genéticos, que corresponderam aos respectivos grupos obtidos com o marcador UPA. O suporte de *Bootstrap* foi 100% para todos os clados. Não foi possível

obter sequências de COI-5P para cinco espécies: “*Halymenia floridana*”, *Cryptonemia seminervis* 2, *Cryptonemia seminervis* 3, *Grateloupia* cf. *filicina* 2 e *Grateloupia yangjiangensis*.

Os agrupamentos de “*Cryptonemia*” *crenulata* e *Cryptonemia seminervis* 1 exibiram os maiores índices de divergência intraespecífica, cujos valores foram 1,2 (diferença de 7 pb) e 1,1 (diferença de 6 pb), respectivamente. Para *Halymenia ignifera*, esse valor foi de 0,5%, correspondente a 4 pb de diferença. Os clados de *Halymenia silviae* e *Grateloupia orientalis* apresentaram divergência intraespecífica de 0,3% (2 pb de diferença). O valor de *p-Distance* foi de 0,2% (diferença de 1 pb), tanto para “*Cryptonemia*” *bengryi* quanto para “*Grateloupia*” *gibbesii*. Para os demais clados, não houve divergência intraespecífica (Tabela 6).

Para o marcador COI-5P, a divergência interespecífica variou de 6,6-11,9% (Tabela 7), que corrobora valores relatados por estudos anteriores com *Gracilaria* (5,8-6,5%), *Hypnea* (10,1-16,3%) e *Gelidium* (5,8-6,2%) (Costa *et al.* 2012; Nauer *et al.* 2014; Iha *et al.* 2015). Não foi possível calcular esse parâmetro para o gênero *Cryptonemia*, uma vez que só foram obtidas sequências desse marcador para o táxon *Cryptonemia seminervis* 1. Para o gênero *Halymenia*, *Halymenia ignifera* e *Halymenia* sp. 2 apresentaram a menor divergência (7,4-8,4%), enquanto que *Halymenia pinnatifida* e *Halymenia* sp. 1 apresentaram a maior (11,8-11,9%). Em relação ao gênero *Grateloupia*, o menor valor foi registrado entre *Grateloupia* cf. *filicina* 1 e *Grateloupia filiformis* (6,6%), e o maior entre *Grateloupia* cf. *dichotoma* e *Grateloupia orientalis* (6,9-7,7%).

***rbcL*:**

O marcador *rbcL*, por sua vez, foi de amplificação relativamente mais fácil para o grupo, de maneira que foram obtidas sequências dessa região para todos os táxons encontrados neste estudo (24 espécies). No entanto, a necessidade de aplicação de *primers* internos faz com que o sequenciamento desse marcador seja mais laborioso que os anteriores.

Nas árvores filogenéticas obtidas (Figuras 4 e 5), os gêneros *Cryptonemia*, *Halymenia* e *Grateloupia* não representam grupos monofiléticos. *Halymenia* e *Cryptonemia* constituem grupos polifiléticos, enquanto que *Grateloupia* é parafilético nas nossas

análises. Outros estudos também sugerem que alguns gêneros de Halymeniales constituem grupos não-monofiléticos (Schneider *et al.* 2010; Hernández-Kantún *et al.* 2012; Kraft & Saunders 2013). Esses resultados ressaltam a necessidade de investigações detalhadas sobre a taxonomia e a filogenia dessas algas.

Nas filogenias apresentadas neste estudo, o gênero *Corynomorpha* forma um clado de elevado suporte (100%), que inclui três espécies, uma das quais era tratada no Brasil como *Corynomorpha clavata*.

O clado que contém a espécie-tipo do gênero *Cryptonemia*, *Cryptonemia lomation* (Bertoloni) J.Agardh, inclui também *Cryptonemia seminervis* 1, *Cryptonemia seminervis* 2, *Cryptonemia seminervis* 3 e é grupo irmão de “*Halymenia*” *floridana*, com suporte de *Bootstrap* de 66% na árvore de *rbcL* e de 93% na análise concatenada (Figuras 4 e 5). Esse resultado demonstra a necessidade de transferência da espécie “*Halymenia*” *floridana* para um novo gênero. Espécies até então tratadas como *Cryptonemia*, tais como “*C*”. *bengryi*, “*C*”. *crenulata* e “*C*”. *delicatula* não pertencem ao clado de *Cryptonemia* e, portanto, constituem gêneros distintos, que serão comentados com mais detalhes no item “Comentários taxonômicos”.

O clado que contém a espécie-tipo (*Halymenia floresii*) do gênero *Halymenia*, por sua vez, forma um agrupamento com suporte de *Bootstrap* de 66% e 84% nas análises de *rbcL* e concatenada, respectivamente (Figuras 4 e 5). Além de *Halymenia ignifera*, *Halymenia pinnatifida*, *Halymenia silviae*, *Halymenia* sp. 1 e *Halymenia* sp. 2, esse clado inclui também *Gelinaria ulvoidea* Sonder e *Epiphloea bullosa* (Harvey) De Toni, assim como o encontrado por estudos prévios (Hernández-Kantún *et al.* 2012; Yang *et al.* 2013; Tan *et al.* 2015). Yang *et al.* (2013) mencionaram a possibilidade de incorporação de *Gelinaria* Sonder e *Epiphloea* J.Agardh ao gênero *Halymenia*, e os dados obtidos aqui reforçam essa proposta. A espécie citada no Brasil como “*Halymenia*” *elongata* não pertence a esse clado que contém a espécie-tipo do gênero, e, portanto, constitui um gênero distinto.

O agrupamento que contém a espécie-tipo do gênero *Grateloupia*, *Grateloupia filicina*, inclui também *G. cf. dichotoma*, *G. cf. filicina* 1, *G. cf. filicina* 2, *G. filiformis*, *G. orientalis* e *G. yangjiangensis*. O suporte desse clado é de 72% na análise de *rbcL* e 77% na

concatenada. Os táxons “*Grateloupia*” *gibbesii* e “*Grateloupia*” *turuturu* não fazem parte do clado que contém *G. filicina* e, portanto, devem ser descritos como novos gêneros.

Figura 2. Árvore de agrupamento para sequências de UPA, gerada através do algoritmo *Neighbor-joining*. Os números nos nós representam valores de *Bootstrap* para 1000 réplicas. Valores abaixo de 50 não são mostrados. Todas as sequências foram geradas neste estudo e são precedidas pelo código de campo (IBC).

Figura 3. Árvore de agrupamento para sequências de COI-5P, gerada através do algoritmo *Neighbor-joining*. Os números nos nós representam valores de *Bootstrap* para 1000 réplicas. Valores abaixo de 50 não são mostrados. Todas as sequências foram geradas neste estudo e são precedidas pelo código de campo (IBC).

Tabela 6. Valores de divergência intraespecífica em % e o número de pares de base (pb) entre parênteses nos grupos genéticos obtidos com os marcadores UPA e COI-5P. n.a.: não se aplica.

	UPA	COI-5P
<i>Corynomorpha</i> cf. <i>clavata</i>	0	0
" <i>Cryptonemia</i> " <i>bengryi</i>	0	0 - 0,2 (0-1 pb)
" <i>Cryptonemia</i> " <i>crenulata</i>	0 - 0,3 (0-1 pb)	0 - 1,2 (0-7 pb)
" <i>Cryptonemia</i> " <i>delicatula</i>	0	n.a.
<i>Cryptonemia</i> <i>seminervis</i> 1	0 - 0,3 (0-1 pb)	0 - 1,1 (0-6 pb)
<i>Cryptonemia</i> <i>seminervis</i> 2	0	n.a.
<i>Cryptonemia</i> <i>seminervis</i> 3	0	n.a.
" <i>Halymenia</i> " <i>elongata</i>	0 - 0,5 (0-2 pb)	0
" <i>Halymenia</i> " <i>floridana</i>	0	n.a.
<i>Halymenia</i> <i>ignifera</i>	0 - 1,1 (0-4 pb)	0 - 0,5 (0-4 pb)
<i>Halymenia</i> <i>pinnatifida</i>	n.a.	0,2
<i>Halymenia</i> <i>silviae</i>	0	0 - 0,3 (0-2 pb)
<i>Halymenia</i> sp. 1	n.a.	n.a.
<i>Halymenia</i> sp. 2	0	0 - 0,5 (0-4 pb)
<i>Grateloupia</i> cf. <i>dichotoma</i>	0 - 0,3 (0-1 pb)	0
<i>Grateloupia</i> cf. <i>filicina</i> 1	0	0
<i>Grateloupia</i> cf. <i>filicina</i> 2	0	n.a.
<i>Grateloupia</i> <i>filiformis</i>	0 - 0,5 (0-2 pb)	0
" <i>Grateloupia</i> " <i>gibbesii</i>	0 - 0,3 (0-1 pb)	0 - 0,2 (0-1 pb)
<i>Grateloupia</i> <i>orientalis</i>	0	0 - 0,3 (0-2 pb)
" <i>Grateloupia</i> " <i>turuturu</i>	0	0
<i>Grateloupia</i> <i>yangjiagensis</i>	n.a.	n.a.
<i>Halymeniales</i> sp. 1	0	0
<i>Halymeniales</i> sp. 2	n.a.	n.a.

Tabela 7. Valores de divergência interespecífica (%) nos grupos genéticos obtidos com os marcadores UPA (abaixo da diagonal indicada por -) e COI-5P (acima da diagonal). n.a.: não se aplica.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 <i>Corynomorpha</i> cf. <i>clavata</i>	-	10,2-10,3	11,7-12,8	9,3	11,3-12,0	n.a.	n.a.	11,3	n.a.	11,0-11,7	12,4-12,5	13,8-14,1
2 " <i>Cryptonemia</i> " <i>bengryi</i>	6,5	-	10,0-11,3	6,5-6,6	7,5-8,1	n.a.	n.a.	8,9-9,0	n.a.	9,2-9,7	10,3-10,6	9,3-9,9
3 " <i>Cryptonemia</i> " <i>crenulata</i>	7,3-7,6	6,2-6,5	-	7,4-8,4	11,0-12,6	n.a.	n.a.	9,6-10,4	n.a.	10,2-11,3	13,0-13,9	12,0-13,3
4 " <i>Cryptonemia</i> " <i>delicatula</i>	5,7	3,2	5,4-5,7	-	7,5-7,7	n.a.	n.a.	8,1	n.a.	6,5-6,8	10,3-10,4	9,3-9,8
5 <i>Cryptonemia</i> <i>seminervis</i> 1	6,2-6,9	3,2-3,7	5,7-6,3	2,7-3,1	-	n.a.	n.a.	9,8-10,3	n.a.	9,3-10,0	12,6-13,2	11,1-12,0
6 <i>Cryptonemia</i> <i>seminervis</i> 2	5,4	3,5	5,4-5,7	2,7	0,8-1,1	-	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
7 <i>Cryptonemia</i> <i>seminervis</i> 3	5,4	2,7	5,1-5,4	2,2	1,1	0,8	-	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
8 " <i>Halymenia</i> " <i>elongata</i>	5,9-6,2	4,3-4,6	6,2-6,8	2,7-3,0	3,8-4,9	4,1-4,6	3,8-4,1	-	n.a.	9,0-9,4	11,8-11,9	11,6-11,7
9 " <i>Halymenia</i> " <i>floridana</i>	5,4	3,2	5,7-5,9	2,4	1,6-2,0	0,8	1,1	3,5-4,1	-	n.a.	n.a.	n.a.
10 <i>Halymenia</i> <i>ignifera</i>	4,9-5,4	4,1-4,3	5,4-5,9	2,2-2,4	3,5-4,0	2,7-3,0	2,4-3,0	3,0-3,5	2,4-2,7	-	10,5-11,1	10,0-10,9
11 <i>Halymenia</i> <i>pinnatifida</i>	5,9	4,9	6,2-6,5	2,7	3,8-4,0	3,0	3,2	3,5-4,1	2,7	0,8-1,6	-	11,0-11,4
12 <i>Halymenia</i> <i>silviae</i>	5,7	4,1	6,5-6,8	3,2	4,1-4,3	3,2	3,5	3,2-3,8	2,4	1,1-1,9	1,4	-
13 <i>Halymenia</i> sp. 1	6,5	4,6	6,2-6,5	2,7	4,1-4,3	4,1	3,5	3,5-3,8	3,8	1,4-2,2	2,2	2,4
14 <i>Halymenia</i> sp. 2	6,8	5,4	7,0-7,3	3,2	4,3-4,6	4,3	4,3	4,1-4,6	4,1	2,2-3,0	1,4	2,7
15 <i>Grateloupia</i> cf. <i>dichotoma</i>	7,0-7,3	6,8-7,0	7,0-7,6	5,9-6,2	5,7-6,6	6,5-6,8	5,9-6,2	5,4-5,9	5,4-5,9	5,9-6,8	7,0-7,3	6,8-7,0
16 <i>Grateloupia</i> cf. <i>filicina</i> 1	7,0	5,9	6,8-7,0	4,9	5,1-5,7	5,4	4,9	4,9-5,1	4,9	5,7-5,9	6,5	6,2
17 <i>Grateloupia</i> cf. <i>filicina</i> 2	8,4	7,3	8,9-9,2	6,8	6,5-7,1	7,3	6,8	6,2-6,5	6,8	7,0-7,3	7,8	6,5
18 <i>Grateloupia</i> <i>filiformis</i>	6,8-7,3	6,8-7,3	7,6-8,4	5,7-6,2	5,4-6,6	5,7-6,2	5,1-5,7	5,7-6,5	5,1-5,7	5,9-6,8	6,8-7,3	6,5-7,0
19 " <i>Grateloupia</i> " <i>gibbesii</i>	8,1-8,4	5,9-6,2	7,6-8,1	5,4-5,7	5,4-6,3	5,7-5,9	5,1-5,4	5,4-5,9	5,1-5,4	6,2-6,8	7,0-7,3	6,8-7,0
20 <i>Grateloupia</i> <i>orientalis</i>	7,0	5,9	6,8-7,0	4,9	5,1-5,7	5,4	4,9	4,9-5,1	4,9	5,7-5,9	6,2	6,2
21 " <i>Grateloupia</i> " <i>turuturu</i>	6,8	6,2	7,0-7,3	4,6	4,9-5,4	5,1	4,6	5,7-5,9	5,1	5,4-5,7	7,0	6,5
22 <i>Grateloupia</i> <i>yangiagensis</i>	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
23 <i>Halymeniales</i> sp. 1	6,2	4,1	6,5-6,8	2,4	3,2-3,7	3,5	3,0	2,4-2,7	3,5	2,7-3,0	3,5	3,2
24 <i>Halymeniales</i> sp. 2	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

Tabela 7. Continuação.

	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1 <i>Corynomorpha</i> cf. <i>clavata</i>	12,5	11,0-11,3	11,0	11,3	n.a.	12,5	13,0-13,1	9,5-9,9	13,1	n.a.	11,0	8,5
2 " <i>Cryptonemia</i> " <i>bengryi</i>	11,3-11,6	7,5-8,0	10,5-10,7	10,5-10,6	n.a.	11,1-11,3	12,5-12,8	9,9-10,6	10,7-10,8	n.a.	9,2-9,4	7,2-7,4
3 " <i>Cryptonemia</i> " <i>crenulata</i>	11,5-12,9	10,2-12,1	11,6-12,7	10,4-11,1	n.a.	12,2-13,2	11,5-12,8	11,7-12,8	12,7-13,8	n.a.	10,7-11,5	9,9-11,1
4 " <i>Cryptonemia</i> " <i>delicatula</i>	9,1	6,6-7,2	9,8	9,6	n.a.	9,8	11,4-11,5	9,8	11,4	n.a.	7,9	6,6
5 <i>Cryptonemia</i> <i>seminervis</i> 1	12,4-12,6	9,7-10,1	10,6-11,2	11,8-12,3	n.a.	12,2-12,6	12,8-13,6	12,3-13,0	12,8-13,3	n.a.	11,1-11,5	9,2-9,4
6 <i>Cryptonemia</i> <i>seminervis</i> 2	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
7 <i>Cryptonemia</i> <i>seminervis</i> 3	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
8 " <i>Halymenia</i> " <i>elongata</i>	12,3	10,1-10,7	10,2	11,1	n.a.	11,0	12,8-13,0	10,3-10,4	11,6	n.a.	10,2	8,4
9 " <i>Halymenia</i> " <i>floridana</i>	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	
10 <i>Halymenia</i> <i>ignifera</i>	8,7-9,2	7,4-8,4	9,9-11,5	10,3-10,7	n.a.	10,8-11,2	12,3-12,8	10,3-10,8	11,6-12,0	n.a.	9,5-10,0	8,2-8,7
11 <i>Halymenia</i> <i>pinnatifida</i>	11,8-11,9	10,1-10,7	12,9-13,0	13,2-13,3	n.a.	13,6-13,7	16,1-16,4	11,7-12,0	14,2-14,3	n.a.	11,3-11,6	10,7
12 <i>Halymenia</i> <i>silviae</i>	10,7-11,2	8,3-9,2	12,3-12,8	12,4-13,0	n.a.	12,8-14,0	15,0-15,9	12,0-13,5	13,8-14,3	n.a.	12,6-13,0	11,0-12,6
13 <i>Halymenia</i> sp. 1	-	9,6-10,1	12,5	11,9	n.a.	12,8	12,6-12,9	12,5-12,6	13,7	n.a.	13,3	10,5
14 <i>Halymenia</i> sp. 2	3,2	-	11,3-11,8	6,9	n.a.	7,1	12,6-13,3	10,0-11,1	11,8-12,3	n.a.	9,7-10,2	7,2-7,5
15 <i>Grateloupia</i> cf. <i>dichotoma</i>	6,8-7,0	5,1-5,4	-	6,9	n.a.	7,1	9,4-9,5	6,9-7,7	9,7	n.a.	12,2	9,2
16 <i>Grateloupia</i> cf. <i>filicina</i> 1	6,2	4,6	1,9-2,2	-	n.a.	6,6	10,1-10,3	7,0-7,6	9,7	n.a.	11,0	8,8
17 <i>Grateloupia</i> cf. <i>filicina</i> 2	7,6	4,9	2,4-2,7	2,7	-	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
18 <i>Grateloupia</i> <i>filiformis</i>	7,0-7,6	4,9-5,4	2,2-3,0	1,4-1,9	2,4-3,0	-	10,7-10,8	6,7-6,8	10,2	n.a.	11,3	9,8
19 " <i>Grateloupia</i> " <i>gibbesii</i>	6,8-7,0	4,6-4,9	2,7-3,2	1,9-2,2	3,0-3,2	2,2-3,0	-	10,5-11,3	10,3-10,5	n.a.	13,3-13,5	12,0-13,1
20 <i>Grateloupia</i> <i>orientalis</i>	6,2	4,1	1,9-2,2	0,5	2,2	0,8-1,4	1,4-1,6	-	9,4-9,7	n.a.	11,8	9,8-9,9
21 " <i>Grateloupia</i> " <i>turuturu</i>	5,9	3,8	2,7-3,0	1,4	5,1	1,6-2,2	2,2-2,4	0,8	-	n.a.	13,5	11,3
22 <i>Grateloupia</i> <i>yangjiagensis</i>	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	-	n.a.	n.a.
23 <i>Halymeniales</i> sp. 1	3,2	4,1	5,1-5,4	4,6	4,9	4,9-5,4	4,6-4,9	4,1	3,8	n.a.	-	7,5
24 <i>Halymeniales</i> sp. 2	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	-

Figura 4. Árvore filogenética com sequências de *rbcL*, gerada através do algoritmo de Máxima Verossimilhança. Os números nos nós representam valores de *Bootstrap* para 100 réplicas. Valores de *Bootstrap* inferiores a 50 não apresentados. Espécies-tipo dos gêneros estão em negrito. Espécies coletadas em sua localidade-tipo estão indicadas por *. Sequências geradas neste estudo são precedidas pelo código de campo (IBC). Os números de acesso para as sequências obtidas no BOLD e no GenBank estão na Tabela 5.

Figura 5. Árvore filogenética com sequências concatenadas de COI-5P e *rbcL*, gerada através do algoritmo de Máxima Verossimilhança. Os números nos nós representam valores de *Bootstrap* para 100 réplicas. Valores de *Bootstrap* inferiores a 50 não apresentados. Espécies-tipo dos gêneros estão em negrito. Sequências geradas neste estudo precedidas pelo código institucional (IBC). Os números de acesso para as sequências obtidas no BOLD e no GenBank estão na Tabela 5. As áreas sombreadas indicam os cinco principais clados obtidos (numerados de 1 a 5), que refletem dados de distribuição geográfica discutidos no texto.

4.2 Distribuição geográfica de espécies

A Figura 6 corresponde à distribuição geográfica dos táxons encontrados neste estudo. De maneira geral, esse resultado concorda com as zonas de diversidade de algas propostas por Horta *et al.* (2001).

Figura 6. Distribuição geográfica de espécies encontradas neste estudo, de acordo com o estado da federação brasileira. As áreas sombreadas indicam as zonas de diversidade de algas de acordo com Horta *et al.* (2001).

Algumas espécies foram registradas apenas na Zona Tropical, como é o caso de *Halymenia pinnatifida*, *Halymenia silviae*, *Halymenia* sp. 1, *Halymenia* sp. 2, *Halymeniales* sp. 1, *Halymeniales* sp. 2, “*Cryptonemia*” *delicatula*, “*Cryptonemia*” *crenulata*, “*Cryptonemia*” *bengryi* e *Corynomorpha* cf. *clavata*. Táxons exclusivos da Zona Temperada Quente incluem “*Grateloupia*” *turuturu*, *Grateloupia* cf. *filicina* 2, *Grateloupia orientalis*, *Grateloupia yangjiangensis*, *Cryptonemia seminervis* 2 e *Cryptonemia seminervis* 3. A Zona de Transição, por sua vez, não apresentou nenhum táxon exclusivo, e sim espécies comuns à Zona Tropical ou à Zona Temperada Quente. Apenas dois táxons foram encontrados nas três zonas: “*Halymenia*” *floridana* e *Grateloupia filiformis*. *Grateloupia* cf. *filicina* 1 foi a única espécie registrada na Zona Tropical e na Zona Temperada Quente.

É possível notar um padrão geográfico na distribuição dos gêneros. Considerando apenas os gêneros autênticos, foi observado que espécies de *Halymenia* ocorrem exclusivamente nas Zonas Tropical e de Transição, enquanto o gênero *Grateloupia* é encontrado predominantemente nas Zonas de Transição e Temperada Quente. “*Halymenia*” *floridana*, espécie registrada nas três zonas, não pertence ao gênero *Halymenia*, como demonstrado pelos dados moleculares encontrados neste estudo. Em relação ao gênero *Cryptonemia*, os dados obtidos demonstram que seus integrantes ocorrem principalmente nas Zonas Tropical e de Transição. A espécie *Cryptonemia seminervis*, considerada como amplamente distribuída, corresponde a três entidades distintas, de distribuição mais restrita: uma encontrada nas Zonas Tropical e de Transição (*Cryptonemia seminervis* 1), e outras duas que ocorrem exclusivamente na Zona Temperada Quente (*Cryptonemia seminervis* 2 e *Cryptonemia seminervis* 3), em praias de Armação dos Búzios e Cabo Frio (RJ), áreas sujeitas a influência de ressurgência.

Considerando a análise apresentada na Figura 5, é possível observar que há um sinal filogenético em relação à distribuição geográfica das espécies representadas. A análise filogenética concatenada resultou em cinco principais clados, numerados de 1 a 5. A ocorrência desses clados está representada no mapa da Figura 7. O clado 1 é constituído pela espécie “*Halymenia*” *elongata*, coletada na zona tropical brasileira, no Rio Grande do Norte.

Os representantes coletados na zona tropical do Brasil pertencem predominantemente ao clado 2, juntamente com espécies de locais temperados do Pacífico Sul, Oceano Índico, Atlântico Norte e Mar Mediterrâneo. Apenas três espécies da Zona Temperada Quente brasileira estão incluídas no clado 2: *Cryptonemia seminervis* 2, *Cryptonemia seminervis* 3 e “*Halymenia*” *floridana*. O clado 3, por sua vez, reúne todas as demais amostras obtidas na Zona Temperada Quente do Brasil e na Zona de Transição (Espírito Santo), além de incluir também espécimes de áreas temperadas do Atlântico Norte, Atlântico Sul, Pacífico Norte e do Pacífico Sul. O clado 3 inclui também as espécies *Grateloupia* cf. *filicina* 1 e *Halymeniales* sp. 1, ambas coletadas na zona tropical, no estado da Bahia. O clado 4 é composto por representantes coletados em águas temperadas dos Mares Adriático e Tirreno, enquanto que espécies pertencentes ao clado 5 são encontradas em regiões tropicais do globo.

Figura 7. Distribuição global dos clados numerados de 1 a 5 e representados na análise filogenética concatenada apresentada na Figura 5. Os números nos círculos indicam a ocorrência dos cinco clados principais segundo a Figura 5. As zonas coloridas indicam a temperatura (°C) da superfície do mar no dia em que a imagem foi obtida (26 de junho de 2015). Imagem adaptada de <http://www.ospo.noaa.gov>.

4.3 Comentários Taxonômicos:

A seguir, apresenta-se comentários taxonômicos sobre os táxons encontrados, considerando dados moleculares de UPA, COI-5P e *rbcL* e observações morfológicas.

***Corynomorpha* J. Agardh**

Do grego *coryno*: semelhante a uma clava + *morpha*: forma.

Espécie-tipo do gênero: *Corynomorpha prismatica* (J. Agardh) J. Agardh.

Descrição: Talos cilíndricos, mas que colapsam e se tornam prismáticos quando herborizados, clavados, eretos, firmes e elásticos a sub-cartilagosos, ramificados sub-dicotomicamente até quarta ordem, com estipe curto e apressório discoide pequeno. Córtex com células sub-esféricas ou elípticas, em camadas anticlinais, que aumentam de tamanho em direção à região medular. Região medular com filamentos frouxos entrelaçados e células estreladas. Células rizoidais presentes na região medular. Plantas dioicas. Estruturas reprodutivas em nematécios na região distal. Desenvolvimento procárpico. Ampola com até 10 ramos carpogoniais de duas células. A ampola também inclui célula auxiliar intercalar. O carpogônio fertilizado contacta diretamente a célula auxiliar. Uma única inicial dos gonimoblastos é cortada a partir da célula auxiliar em direção à superfície do talo, produzindo um filamento gonimoblástico axial primário unisseriado, a partir do qual se desenvolvem agrupamentos de células gonimoblásticas. Todas as células do gonimoblasto amadurecem e produzem carposporângios. Ostíolos presentes. Espermatângios formados em uma curta série catenada de células terminais de filamentos nemateciais. Tetrasporófitos e gametófitos isomórficos. Tetrasporângios cruciados irregularmente, produzidos a partir de células interiores do nematécio cortadas lateralmente.

(Guiry & Guiry 2016)

***Corynomorpha cf. clavata* Harvey (J. Agardh)**

Figs 8 e 9

Do latim *clavata*: em forma de clava.

Localidade-tipo: Estados Unidos da América, Flórida, Key West.

Aspecto Geral: Talo de cor vermelha, firme e não mucilaginoso, com até 6 cm de altura e 0,5 cm de diâmetro. Frondes cilíndricas, claviformes, estreitas na base e mais largas na região mediana, com ápices clavados. Talo com leves constrições. Uma ou mais frondes partem de um mesmo apressório. Frondes não ramificadas. Estipe cilíndrico, com 0,7 cm de comprimento e 1 mm de diâmetro. Nervura e proliferações ausentes.

Figura 8. Aspecto geral. Barra de escala: 1 cm.

Região Apical: Talo com 2300-2375 μm de diâmetro. Região cortical espessa, composta por aproximadamente oito camadas de células alongadas e estreitas, de 5-7 μm de altura e 2-3 μm de largura. Região medular densa, com abundantes filamentos irregularmente distribuídos, de 4-5 μm de diâmetro. Células ganglionares não observadas. Células estreladas espalhadas em toda a região medular, com 19-33 μm em sua maior medida, unindo os filamentos medulares.

Região Mediana: Talo com 5 mm de diâmetro. Região cortical composta por duas camadas de células alongadas, de 5 μm de altura e 2,5 μm de largura. Região subcortical constituída por 3 camadas de células esféricas, de 5-7,5 μm de diâmetro. Região medular tão densa quanto na região apical, com abundantes filamentos irregulares de 6-10 μm de diâmetro. Células ganglionares não encontradas. Células estreladas próximas à região subcortical e espalhadas em toda a região medular, com 18-20 μm em sua maior medida.

Região Basal: Talo com 720-820 μm de diâmetro. Região cortical com 2-3 camadas de células alongadas, de 4-5 μm de altura e 2 μm de largura. Região subcortical com 2-3 camadas esféricas de 3-5 μm . Região medular bastante densa, com muitos filamentos longitudinais, semelhantes a rizines, com 5 μm de diâmetro, e também

filamentos irregulares, de 4-5 μm de diâmetro. Células ganglionares não encontradas. Células estreladas obscurecidas pelos densos filamentos.

Estruturas Reprodutivas: Ampola e cistocarpos maduros visualizados na região apical. Ampola bastante ramificada, com filamentos ramificados de aproximadamente oito células de comprimento. Ampola de formato oval, com 90 μm de diâmetro. Célula auxiliar alongada, com 7,5 μm de altura e 15 μm de largura. Filamento conectivo longo e bastante espesso, com aproximadamente 10 μm de diâmetro. Carposporófitos envoltos por pericarpo, formando cistocarpos de formato oval, imersos no talo. Cistocarpo com 100-172,5 μm de diâmetro e com 150-187,5 μm considerando o pericarpo, com um ou dois gonimolobos. Carposporângios de formato irregular, ovóides ou quadráticos, com 10-12,5 μm na maior medida. Gametófitos masculinos e tetrasporófitos não observados.

Material Examinado:

Brasil, Bahia, Entre Rios, Praia de Subaúma, 27 de maio de 2013, C.A.A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva (IBC 2183; 2184; 2185- gametófito feminino; 2186 e 2191).

Comentários:

O gênero *Corynomorpha* atualmente compreende apenas as espécies *Corynomorpha prismatica*, espécie-tipo do gênero, e *Corynomorpha clavata*, a qual foi citada para o Brasil pela primeira vez por Joly *et al.* (1965b), para as costas do Ceará e do Espírito Santo. Os espécimes encontrados neste estudo estão de acordo com as ilustrações de Joly *et al.* (1965b) e com a descrição original de *Corynomorpha clavata* feita por Harvey (1853). Harvey (1853) descreve a morfologia externa dos espécimes, que são claviformes, simples ou bifurcados, que adquirem aspecto prismático quando desidratados, o que está de acordo com o material encontrado neste estudo.

As reconstruções filogenéticas mostram que a entidade coletada no Brasil se agrupa com as sequências de materiais de *C. clavata* e *C. prismatica* provenientes das respectivas localidades-tipo (Figuras 4 e 5). No entanto, a sequência de *rbcL* do material brasileiro diverge 3,7% em relação à primeira, e 4,1% em relação à segunda, valores altos o suficiente para indicar que o agrupamento é composto por três espécies distintas. Por essa razão, o

táxon é tratado neste estudo como *Corynomorpha* cf. *clavata*, mas futuramente deverá ser descrita como uma nova espécie para o gênero. Este estudo foi o primeiro a encontrar estruturas reprodutivas femininas dessa espécie.

Figura 9. *Corynomorpha* cf. *clavata*. Anatomia vegetativa e reprodutiva. Todas as imagens são de IBC 2185.

(a) Aspecto geral. Barra de escala: 1 cm;

(b) Corte transversal na região apical do talo. Seta aponta cistocarpos maduros. Barra de escala: 0,5 mm;

(c) Detalhe do corte transversal na região apical, mostrando as células do Região cortical (seta). Barra de escala: 50 μ m;

(d) Detalhe de corte transversal na região apical, mostrando filamentos Região medularres e células estreladas na Região medular (seta). Barra de escala: 50 μ m;

(e) Corte transversal na região mediana do talo. Barra de escala: 50 μ m;

- (f) Corte transversal na região basal do talo. Barra de escala: 50 μm ;
- (g) Corte transversal na região apical do talo mostrando ampola. Seta e ponta de seta indicam célula auxiliar e filamento ampolar, respectivamente. Barra de escala: 50 μm ;
- (h) Corte transversal do talo, com visão longitudinal do cistocarpo maduro totalmente imerso no talo. Seta indica carposporângio. Barra de escala: 50 μm ;
- (i) Corte transversal do talo, com visão longitudinal do cistocarpo maduro totalmente imerso. Seta indica pericarpo. Barra de escala: 50 μm .

***Cryptonemia* J. Agardh**

Do grego *crypto*: obscuro, encoberto + *nema*: fio.

Espécie-tipo do gênero: *Cryptonemia lomation* (Bertoloni) J. Agardh

Talos achatados, foliosos, lineares, lanceolados, expandidos, lobados, inteiros ou abundantemente ramificados. Râmulos marginais abundantes em alguns espécimes. Estipe geralmente bastante conspícuo e perene, que pode apresentar anéis de crescimento. Apressório discoide. Células da região cortical esféricas ou elipsoides, que diminuem de tamanho em direção à superfície do talo. Células da região subcortical arredondadas ou clavadas. Células estreladas presentes. Região medular filamentosa, com filamentos predominantemente periclinais, que podem apresentar denso conteúdo refringente. Rizoides (filamentos longitudinais) e conexões secundárias presentes. Ramos carpogoniais e células auxiliares em ampolas separadas. Estruturas reprodutivas femininas em ampolas com ramos de até quarta ordem. Ramo carpogonial com duas células, originadas em filamentos ampolares primários ou secundários. Após a fertilização, os filamentos conectivos emitidos pelo carpogônio entram em contato com as células auxiliares e uma célula auxiliar de fusão pequena é formada. Célula auxiliar é basal ou suprabasal em um filamento ampolar de segunda ou terceira ordem. A célula auxiliar diploidizada dá origem a uma única inicial dos gonimoblastos, a qual produz um cistocarpo compacto com muitos carposporângios pequenos. O pericarpo, que envolve o cistocarpo, é composto por células ampolares alongadas. Cistocarpos imersos e espalhados, formando pequena protuberância na superfície do talo. Ostíolo presente. Espermatângios localizados na superfície do talo. Gametófitos e tetrasporófitos isomórficos. Tetrasporângios pequenos, cruciados, espalhados pelo córtex ou em soros subapicais.

(Guiry & Guiry 2016)

***“Cryptonemia” bengryi* W. R. Taylor**

Figs 10 e 11

Em homenagem ao coletor R. P. Bengry.

Localidade-tipo: Jamaica.

Aspecto Geral: Talo vermelho, firme, cartilaginoso, não mucilaginoso. Frondes em forma de fitas de até 8,5 cm de altura e 2 cm de largura, irregularmente ramificadas. Base alargada, assim como a região mediana. Ápices arredondados ou de formato irregular. Proliferações marginais e apicais não estipitadas. Nervura ausente. Frondes levemente retorcidas e onduladas. Estipe ramificado, cilíndrico, de 0,7 cm de comprimento e 1 mm de diâmetro. Apressório discoide, com 1 mm de diâmetro.

Figura 10. Aspecto geral. Barra de escala: 1 cm.

Região Apical: Talo com 92,5-117,5 μm de espessura. Região cortical com uma camada de células retangulares de 7-9 μm de altura e 3-4 μm de largura. Região subcortical com duas camadas de células esféricas, de 4-8 μm de diâmetro, que aumentam progressivamente de tamanho em direção à região medular. Região medular com filamentos irregulares de 2-3 μm de diâmetro. Inclusões esféricas de conteúdo refringente presentes nas células da região subcortical e nos filamentos medulares. Células ganglionares pequenas e raras. Células estreladas presentes, com 10-17 μm de largura, conectando as células da região subcortical aos filamentos medulares.

Região Mediana: Talo com 175-192,5 μm de espessura. Região cortical com uma camada de células retangulares de 5-8 μm de altura e 3-4 μm de largura. Região subcortical com 3-4 camadas de células redondas de 5-19 μm de diâmetro, que aumentam progressivamente de tamanho em direção à região medular. Região medular com filamentos irregulares de 4-9 μm de diâmetro. Inclusões esféricas de conteúdo refringente presentes nas células da região subcortical e nos filamentos medulares, mais abundantes

que nas regiões apical e basal. Células ganglionares conspícuas e abundantes. Células estreladas presentes, com 26-35 μm de largura.

Região Basal: Talo com 330-380 μm de espessura. Região cortical com uma camada de células retangulares de 7,5-10 μm de altura e 5 μm de largura. Região subcortical com 4-5 camadas de células esféricas de 7,5-27,5 μm de diâmetro. Região medular muito densa, completamente preenchida por filamentos irregulares de 5-10 μm de diâmetro. Inclusões esféricas de conteúdo refringente presentes nas células da região subcortical e nos filamentos medulares. Células incolores esféricas presentes nas regiões periféricas da região medular. Células ganglionares presentes, porém em menor número e mais discretas que na região mediana. Células estreladas obscurecidas pelos densos filamentos medulares.

Estruturas Reprodutivas: Não observadas.

Material Examinado:

Brasil, Ceará, Caponga, Praia da Caponga, 28 de abril de 2013, C.A.A. Azevedo e T. Vieira-Pinto (IBC 2157; IBC 2158). Caucaia, Praia do Pacheco, 24 de abril de 2013, C.A.A. Azevedo, P.B. Carneiro, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva (IBC 2150). Icapuí, Praia de Ponta Grossa, 27 de abril de 2013, C.A.A. Azevedo e T. Vieira-Pinto (IBC 2154). **Rio Grande do Norte,** Nísia Floresta, Praia de Tabatinga, 12 de janeiro de 2013, C.A.A. Azevedo e R.F. Menezes (SPF 57778/IBC 2082). **Alagoas,** Jequiá de Praia, Praia de Jequiá, 12 de março de 2013, C.A.A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva (IBC 2109).

Comentários:

A análise de *rbcL* demonstra que a espécie que ocorre no Brasil corresponde à autêntica *Cryptonemia bengryi*, uma vez que a sequência de material brasileiro agrupa com a sequência de material coletado na localidade-tipo (Caribe) (Figura 4). A divergência entre essas duas sequências é de apenas 0,1%. No entanto, segundo as filogenias aqui apresentadas (Figuras 4 e 5), os representantes de *C. bengryi* não integram o clado que contem *Cryptonemia lomation*, a espécie-tipo do gênero *Cryptonemia*, o que é um indicativo de que *C. bengryi* constitui um gênero distinto. Por essa razão, o táxon é tratado aqui como “*Cryptonemia*” *bengryi* (gênero escrito entre aspas).

Em relação à morfologia, os indivíduos concordam com os descritos por Pinheiro-Joventino (1977) e Guimarães (1990) para *C. bengryi*. As mesmas estruturas citadas aqui como inclusões esféricas refringentes, também chamadas de conteúdo granular, foram observadas por D'Archino *et al.* (2014) em células corticais internas e estreladas e nos filamentos Região medularres de *Galene profunda* D'Archino & Zuccarello. *Galene* D'Archino & Zuccarello é um gênero recentemente descrito para a costa da Nova Zelândia (D'Archino *et al.* 2014), para acomodar indivíduos previamente tratados como *Cryptonemia*.

Figura 11. “*Cryptonemia*” *bengryi*. Anatomia vegetativa. Todas as imagens são de SPF 57778/IBC 2082.

(a) Aspecto geral. Barra de escala: 1 cm;

(b) Corte transversal na região apical do talo. Barra de escala: 50 µm;

(c) Corte transversal na região mediana do talo. Seta indica filamento ganglionar. Barra de escala: 50 µm;

(d) Detalhe de corte transversal na região mediana do talo. Setas indicam inclusões esféricas no córtex e na Região medular. Barra de escala: 50 µm;

(e) Corte transversal na região basal do talo. Seta indica célula incolor esférica presente na Região medular. Barra de escala: 50 µm.

“*Cryptonemia*” *crenulata* (J. Agardh) J. Agardh

Figs 12 e 13

Do latim *crenulata*: denteado, serreado.

Localidade-tipo: Brasil, sul da Bahia.

Aspecto Geral: Talo de cor rosa ou vermelha, firme, não mucilaginoso e de consistência áspera. Frondes em forma de fitas, com até 17 cm de altura e 4 cm de largura. Ramificação predominantemente dicotômica, mas também irregular. Frondes com base estreita, porém a largura aumenta em

Figura 12. Aspecto geral. Barra de escala: 2 cm

direção à região mediana. Ápices arredondados e com margens denteadas. Frondes onduladas e retorcidas. Margens lisas na região basal e denteadas a partir da região mediana em direção ao ápice. Bordas das lâminas dilatadas. Proliferações marginais, superficiais e apicais presentes em alguns espécimes e ausentes em outros. Nervura ausente. Estipe achatado, com até 0,7 cm de comprimento e 2 mm de largura. Apressório discoide, com até 3 mm de diâmetro.

Região Apical: Talo com 110-145,4 μm de espessura. Região cortical composta por uma camada de células quadráticas, de 4-5 μm de altura e 4-5 μm de largura. Região subcortical composta por três camadas de células esféricas, de 5-22 μm de diâmetro, que aumentam gradualmente de tamanho em direção à região medular. Região medular com filamentos predominantemente longitudinais e alguns periclinais, de 4-5 μm de diâmetro. Abundantes inclusões esféricas de conteúdo refringente, principalmente nas células da região subcortical. Raros filamentos refringentes imersos na região medular, que se assemelham a pequenas células ganglionares. Células estreladas expandidas, medindo 10-18 μm em sua maior medida, conectadas apenas periclinalmente.

Região Mediana: Talo com 112,5-152,5 μm de espessura. Região cortical com 1-2 camadas de células quadráticas de 4-5 μm de altura e 3-5 μm de largura. Região subcortical

com 2-3 camadas de células esféricas, de 4-27,5 µm de diâmetro, que aumentam de tamanho em direção à região medular. Região medular com filamentos longitudinais de 5-8 µm de diâmetro. Abundantes inclusões esféricas de conteúdo refringente, principalmente nas células da região subcortical. Células ganglionares e filamentos ganglionares presentes. Células estreladas expandidas, de 15-20 µm em sua maior medida, conectadas apenas periclinamente.

Região Basal: Talo com 349,2-400 µm de espessura. Região cortical com 1-2 camadas de células quadráticas, de 3-5 µm de altura e 2-5 µm de largura. Região subcortical com 5-7 camadas de células esféricas, de 4-32 µm de diâmetro, que aumentam gradualmente de tamanho em direção à região medular. Região medular densa, preenchida por filamentos longitudinais de 3-8 µm de diâmetro. Inclusões esféricas de conteúdo refringente, principalmente nas células da região subcortical, menos abundantes que nas regiões apical e mediana. Células ganglionares ou filamentos refringentes não observados. Células estreladas expandidas, com 20-25 µm em sua maior medida.

Estruturas Reprodutivas: Não observadas.

Material Examinado:

Brasil, Ceará, Paracuru, Praia da Pedra Rachada, 24 de abril de 2013, C.A.A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva (SPF 57780/IBC 2124-infértil; IBC 2126; IBC 2127; IBC 2128). Paracuru, 11 de fevereiro de 2012, E. Plastino e L. Ayres-Ostrock (SPF 57818/IBC 2006). Caucaia, Praia do Pacheco, 26 de abril de 2013, C.A.A. Azevedo, P.B. Carneiro, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva (IBC 2144; IBC 2145). **Rio Grande do Norte,** Parnamirim, Praia de Pirambúzios, 25 de janeiro de 2012, C.A.A. Azevedo (IBC 2004; SPF 57788/IBC 2003-infértil; IBC 2005). Nísia Floresta, Praia de Tabatinga, C.A.A. Azevedo e R.F. Menezes, 12 de janeiro de 2013. **Alagoas,** Piaçabuçu, Praia de Pontal do Peba, 11 de março de 2013, C.A.A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva (IBC 2105; SPF 57782/IBC 2108). Maceió, Praia de Riacho Doce, C.A.A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva, 13 de março de 2013 (IBC 2114; IBC2115). **Bahia,** Camaçari, Praia de Guarajuba, 26 de maio de 2013, C.A.A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva (IBC 2176; IBC 2177; IBC 2178; IBC 2179-infértil). Entre Rios, Praia de Subaúma, 27 de maio de 2013, C.A.A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva (IBC 2190).

Comentários:

O táxon *Cryptonemia crenulata* é amplamente citado para a costa do Brasil, desde o estado do Maranhão até São Paulo (Guimarães 1990). De acordo com nosso conhecimento, este estudo constitui a primeira citação para o estado de Alagoas. Morfologicamente, os espécimes estão de acordo com Guimarães (1990).

Os dados filogenéticos (Figuras 4 e 5) mostram ainda que essa entidade não corresponde ao gênero *Cryptonemia*, uma vez que não pertence ao clado que contém a espécie-tipo do gênero, *C. lomation*. Os dados moleculares de UPA (Figura 2) e COI-5P (Figura 3) mostram indivíduos de “*Cryptonemia*” *crenulata* inseridos em um único clado, que possuem divergência intraespecífica de 0-0,3 e 0-1,2%, respectivamente. No entanto, as sequências de *rbcL* (Figura 4; Tabela 8) apontam a existência de três espécies crípticas atualmente tratadas como *C. crenulata*:

- (i) *C. crenulata* 1: representada pela amostra IBC 2006, ocorre no Ceará;
- (ii) *C. crenulata* 2: representada por IBC 2124, registrada no Ceará;
- (iii) *C. crenulata* 3: corresponde a IBC 2003 (RN), IBC 2108 (AL), IBC 2127 (CE), IBC 2176 (BA) e IBC 2179 (BA). A divergência entre os indivíduos deste grupo é de 0-1,3% (Tabela 8). Este clado representa a autêntica *Cryptonemia crenulata*, pois inclui sequências de amostras coletadas na localidade-tipo (Bahia).

Tabela 8. Valores de divergência de *rbcL* em % entre amostras de “*Cryptonemia*” *crenulata*.

		IBC 2006	IBC 2124	IBC 2003	IBC 2108	IBC 2127	IBC 2176	IBC 2179
i	"C." <i>crenulata</i> 1	IBC 2006						
ii	"C." <i>crenulata</i> 2	IBC 2124	3,1					
iii	"C." <i>crenulata</i> 3	IBC 2003	3,3	1,4				
		IBC 2108	3,9	1,4	1,3			
		IBC 2127	3,9	1,3	1	0,9		
		IBC 2176	3,6	0,9	0,7	0,7	0,1	
		IBC 2179	3,8	1,2	0,9	0,9	0	0,1

Esses resultados indicam que *Cryptonemia crenulata* corresponde a um complexo de espécies, no entanto, dos três marcadores utilizados, apenas o *rbcL* apontou uma diferenciação de linhagens. Além disso, não foram encontradas diferenças morfológicas entre essas entidades apontadas pela filogenia. Por essa razão, as aparentes três linhagens de *C. crenulata* são provisoriamente consideradas uma só. É necessário incluir mais estudos morfológicos e moleculares para esclarecer as relações filogenéticas e a delimitação de espécies dentro desse complexo.

Figura 13. Complexo “*Cryptonemia*” *crenulata*. Anatomia vegetativa.

(a) *C. crenulata* 3. Aspecto geral. Barra de escala: 2 cm (IBC 2179);

(b) *C. crenulata* 3. Aspecto geral. Barra de escala: 2 cm (IBC 2108);

(c) *C. crenulata* 1. Aspecto geral. Barra de escala: 2 cm (IBC 2006);

- (d) *C. crenulata* 2. Aspecto geral. Barra de escala: 2 cm (IBC 2124);
- (e) *C. crenulata* 3. Aspecto geral. Barra de escala: 2 cm (IBC 2003);
- (f) Corte transversal na região apical do talo mostrando filamento ganglionar (seta). Barra de escala: 50 μ m (IBC 2179);
- (g) Detalhe de corte transversal na região apical mostrando região cortical (seta) e células da região subcortical (pontas de seta) com abundante conteúdo granular. Barra de escala: 50 μ m (IBC 2179);
- (h) Corte transversal na região mediana do talo mostrando filamentos medulares longitudinais (seta). Barra de escala: 50 μ m (IBC 2124);
- (i) Corte transversal na região basal do talo mostrando células da região subcortical com abundante conteúdo granular (setas) e região medular densamente preenchida com filamentos longitudinais (pontas de seta). Barra de escala: 50 μ m (IBC 2179).

***“Cryptonemia” delicatula* A.B. Joly & M. Cordeiro**

Figs 14 e 15

Do latin *delicatus, delicata*: delicada.

Localidade-tipo: Brasil, estado de São Paulo, Ubatuba, Praia do Lázaro.

Aspecto Geral: Talo de cor rosa, mucilaginoso, flácido e bastante delicado. Frondes em forma de fitas de até 4,5 cm de altura e até 0,8 cm de largura, com ramificação escassa e irregular. Frondes estreitas na base, que se alargam em direção à região mediana e ao ápice. Ápices arredondados, obtusos. Frondes muito onduladas em toda a sua extensão. Algumas frondes de um mesmo espécime apresentam

Figura 14. Aspecto geral. Barra de escala: 1 cm.

rugosidades. Abundantes proliferações superficiais, apicais e laterais. Margens levemente dilatadas, inteiras em alguns espécimes, e irregularmente e levemente denteadas em outros, visíveis apenas sob estereoscópio. Base cuneada. Nervura discreta. Estipe cilíndrico, de 0,5 cm de comprimento e 0,5 mm de diâmetro, ou ausente em alguns espécimes. Apressório discoide, com aproximadamente 1 mm de diâmetro.

Região Apical: Talo com 29-47,5 μm de espessura. Região cortical composta por uma camada de células de formato irregular, retangulares, quadráticas ou arredondadas, de 2-7 μm de altura e 4-8 μm de largura. Região subcortical não diferenciada, ou constituída por uma camada de células arredondadas, periclinalmente alongadas, de 8-10 μm de diâmetro, aparentemente não conectadas. Região medular muito frouxa, com aparência de vazia, com poucos filamentos periclinais de 2-3 μm de diâmetro. Células ganglionares presentes, imersas na região medular. Células estreladas não encontradas.

Região Mediana: Talo com 41-62 μm de espessura. Região cortical composta por 1-2 camadas de células de formato irregular, retangulares, quadráticas ou arredondadas,

com 2-9 μm de altura e 2-10 μm de largura. Região subcortical constituída por uma camada não contínua de células alongadas, de 8-15 μm de diâmetro. Região medular muito estreita, com aparência de vazia, dificilmente diferenciada da região subcortical. A região medular apresenta células esféricas incolores, irregularmente distribuídas, e alguns filamentos periclinais de aproximadamente 5 μm de diâmetro. Células ganglionares e estreladas não encontradas.

Região Basal: Talo com 95-167,5 μm de espessura. Região cortical composta por 3-4 camadas de células retangulares ou quadráticas, de 5-10 μm de altura e 7,5-15 μm de largura. Região subcortical pouco diferenciada, constituído por aproximadamente quatro camadas não contínuas de células alongadas, de 5-17,5 μm de diâmetro. Região medular bastante densa, com células incolores irregularmente distribuídas e filamentos longitudinais. Conteúdo granular esparsa observado nas células das regiões cortical e subcortical. Células ganglionares e estreladas não encontradas.

Estruturas Reprodutivas: Cistocarpos visíveis a olho nu, formando protuberâncias em ambas as faces do talo. Em corte transversal, é possível observar o grande alargamento no talo causado pelos cistocarpos totalmente imersos. Cistocarpos com 212,5-270 μm de diâmetro. Pericarpo não diferenciado. Carposporângios de formatos variados, medindo aproximadamente 7,5-10 μm de largura. Na base do carposporófito há uma célula grande, provavelmente a célula de fusão, medindo 42,5 μm de altura e 22,5 μm de largura. A partir dessa célula partem minúsculos filamentos, que podem corresponder aos filamentos conectivos emitidos após a fertilização da célula auxiliar. Gametófitos masculinos e tetrasporófitos não observados.

Material Examinado:

Brasil, Bahia, Entre Rios, Praia de Subaúma, gametófito feminino, 27 de maio de 2013, C.A.A. Azevedo, T. Vieira-Pinto, B. Torrano-Silva (IBC 2180; IBC 2181 – gametófito feminino; IBC 2182).

Comentários:

As árvores filogenéticas (Figuras 4 e 5) demonstram que “*Cryptonemia*” *delicatula* não pertence ao clado do gênero *Cryptonemia*, e que, portanto, essa entidade corresponde a um gênero distinto.

Durante as expedições de coleta realizadas neste estudo, a localidade-tipo da espécie (Praia do Lázaro, Ubatuba, São Paulo) foi visitada, porém não foram encontradas amostras. Os espécimes de “*Cryptonemia*” *delicatula* encontrados neste estudo estão de acordo com as descrições de Joly *et al.* (1965a), Pinheiro-Joventino (1977) e Guimarães (1990). O material examinado por esses autores apresenta margens lisas, enquanto que neste estudo foram observadas tanto margens lisas quanto levemente denteadas, em indivíduos diferentes. Guimarães (1990) descreve a presença de uma nervura tênue na base da fronde, a qual foi encontrada nos espécimes incluídos neste estudo.

Os estudos previamente citados não relatam uma distinção entre região cortical e subcortical, nem a presença de conteúdo granular nas células corticais encontrado neste estudo. Os indivíduos aqui analisados apresentam região subcortical composta por uma camada não contínua de células, dificilmente distinguida da região cortical. Células estreladas também não foram mencionadas, assim como neste estudo.

A descrição original de Joly *et al.* (1965a) cita a presença de filamentos altamente refringentes dispostos irregularmente na região medular, mas os autores dizem que não encontraram células ganglionares. Pinheiro-Joventino (1977) descreve que as células ganglionares são visíveis apenas em material dissociado. No entanto, neste estudo foi possível observar tais estruturas em cortes transversais na região apical, assim como Guimarães (1990), que encontrou filamentos e células ganglionares em cortes transversais e longitudinais. Os raros filamentos medulares longitudinais encontrados por Guimarães (1990) foram observados apenas na região basal das frondes neste estudo.

Em relação às estruturas reprodutivas, a protuberância no talo causada pelo cistocarpo e o pericarpo não diferenciado já foram relatados na literatura (Joly *et al.* 1965a; Pinheiro-Joventino 1977; Guimarães 1990). Joly *et al.* (1965a) descrevem que os carposporângios são unidos pela base por uma grande célula retangular. Essa célula provavelmente corresponde à célula chamada neste estudo de célula de fusão.

Cryptonemia augustata (Setchell & N.L.Gardner) E.Y.Dawson, cuja localidade-tipo é Baja California, no México, é uma espécie de talo membranoso assim como *C. delicatula*.

Na descrição original, *C. delicatula* é diferenciada de *C. augustata* apenas pelo fato da última incluir indivíduos maiores (Joly *et al.* 1965a). Ao comparar a descrição original de *C. augustata* com os espécimes aqui encontrados, não é possível apontar nenhuma diferença morfológica significativa entre as duas entidades (Dawson 1954). No entanto, seria precipitado sugerir coespecificidade entre os dois táxons, uma vez que neste estudo não foram examinados representantes de *C. augustata*, além de não existirem sequências moleculares disponíveis para essa espécie.

Figura 15. “*Cryptonemia*” *delicatula*. Anatomia vegetativa e reprodutiva.

- (a) Aspecto geral mostrando talo em forma de fitas que partem diretamente a partir do apressório. Barra de escala: 1 cm (IBC 2181);
- (b) Aspecto geral mostrando talo em forma de fitas que partem a partir do estipe. Barra de escala: 1 cm (IBC 2182);
- (c) Detalhe da superfície de uma fronde mostrando rugosidades semelhantes a bolhas (setas) e perfurações (ponta de seta). Barra de escala: 2 mm (IBC 2182);
- (d) Corte transversal na região apical do talo. Seta, ponta de seta e seta dupla indicam célula da região cortical, célula da região subcortical e filamentos ganglionares, respectivamente. Barra de escala: 50 μ m (IBC 2182);
- (e) Corte transversal na região mediana do talo mostrando conteúdo granular nas células da região cortical (seta) e região subcortical (ponta de seta). Barra de escala: 50 μ m (IBC 2182);
- (f) Corte transversal na região mediana do talo. Seta indica célula incolor esférica imersa na região medular. Barra de escala: 50 μ m (IBC 2182);
- (g) Corte transversal na região basal do talo, com conteúdo granular visível nas células do córtex e na região medular. Barra de escala: 50 μ m (IBC 2182);
- (h) Corte transversal na região mediana do talo mostrando protuberância causada pelo cistocarpo (o cistocarpo acidentalmente saiu de dentro do talo durante o corte). Barra de escala: 50 μ m (IBC 2181);
- (i) Corte transversal na região mediana do talo mostrando grande célula de fusão (seta) abaixo do gonimoblasto (ponta de seta). Barra de escala: 50 μ m (IBC 2181).

Complexo *Cryptonemia seminervis* (C.Agardh) J.Agardh

Do latim *semi*: parcialmente + *nervis*: com veias.

Localidade-tipo: Espanha, Bahia de Cádiz.

O táxon *Cryptonemia seminervis* foi frequentemente referido para o litoral brasileiro como *Cryptonemia luxurians*, cuja localidade-tipo é o Brasil. Porém, alguns autores reconhecem *C.luxurians* como sinônimo de *C. seminervis* (Price *et al.* 1986; Guimarães 2006; Dawes & Mathieson 2008). Indivíduos morfologicamente atribuídos a esse táxon foram obtidos neste estudo.

No agrupamento de UPA (Figura 2) e na filogenia inferida a partir do gene *rbcL* (Figura 4), é possível verificar a existência de três linhagens distintas compostas por amostras que morfologicamente correspondem a *C. seminervis*. Uma das linhagens é composta por representantes provenientes das regiões Nordeste e Sudeste, enquanto que as outras duas incluem exemplares coletados na região Sudeste, no estado do Rio de Janeiro. Assim como observado para *C. crenulata*, *C. seminervis* é possivelmente um complexo de espécies crípticas.

Em relação ao marcador UPA, a divergência entre *Cryptonemia seminervis* 1 e *Cryptonemia seminervis* 2 é de 0,8-1,1%. Entre *Cryptonemia seminervis* 1 e *Cryptonemia seminervis* 3, o valor é de 1,1%, enquanto que entre *Cryptonemia seminervis* 2 e *Cryptonemia seminervis* 3, a divergência é de 0,8%.

Os valores de divergência para o *rbcL* são apresentados na Tabela 9. As divergências intraespecíficas são 0,1-1,8%, 0,0 e 0,5% para *Cryptonemia seminervis* 1, *Cryptonemia seminervis* 2 e *Cryptonemia seminervis* 3, respectivamente. As divergências interespecíficas entre as linhagens são: (i) *Cryptonemia seminervis* 1 e *Cryptonemia seminervis* 2: 2,0-2,9%; (ii) *Cryptonemia seminervis* 1 e *Cryptonemia seminervis* 3: 2,3-3,6%; (iii) *Cryptonemia seminervis* 2 e *Cryptonemia seminervis* 3: 0,9-1,3%.

Tabela 9. Valores de divergência de *rbcL* para amostras de *Cryptonemia seminervis*.

		IBC 0295	IBC 2055	IBC 2110	IBC 2170	IBC 2173	IBC 2194	IBC 2222	IBC 2195	IBC 2221
i	<i>C. seminervis</i> 1	IBC 0295								
		IBC 2055	1,8							
		IBC 2110	0,9	1,2						
		IBC 2170	0,9	1,3	0,2					
		IBC 2173	0,9	1,2	0,1	0,1				
ii	<i>C. seminervis</i> 2	IBC 2194	2,8	2,8	2,0	2,2	2,1			
		IBC 2222	2,8	2,9	2,0	2,2	2,0	0,0		
iii	<i>C. seminervis</i> 3	IBC 2195	3,6	3,5	2,7	2,2	2,8	1,3	1,3	
		IBC 2221	3,2	3,3	2,3	2,6	2,4	0,9	0,9	0,5

Morfológicamente, não é possível apontar nenhuma diferença consistente entre os três táxons, uma vez que há uma sobreposição das características. Externamente, *Cryptonemia seminervis* 1 pode apresentar tanto talos levemente quanto intensamente ondulados, enquanto que *Cryptonemia seminervis* 2 inclui indivíduos de fronde bastante retorcida e ondulada. Os representantes de *Cryptonemia seminervis* 3, assim como *Cryptonemia seminervis* 1, podem ser lisos ou ondulados e retorcidos. Internamente, a estrutura é a mesma nos três táxons.

Não foi possível comparar molecularmente o material brasileiro com material da localidade-tipo, devido à inexistência de sequências deste último nos bancos de dados. É necessário realizar estudos moleculares e morfológicos mais detalhados para delimitar *C. seminervis* e *C. luxurians*. Caso seja comprovada a distinção entre esses dois táxons, o nome *Cryptonemia luxurians* teria que ser ressuscitado para acomodar uma das linhagens de *C. seminervis* observadas na costa do Brasil. De acordo com nosso conhecimento, esta é a primeira vez que o táxon é citado para o estado de Alagoas.

Cryptonemia seminervis 1

Figs 16 e 17

Aspecto Geral: Talo de cor vermelha escura, firme, não mucilaginoso. Talo com até 23 cm de altura e frondes com até 2 cm de largura. Frondes em forma de fitas levemente ou intensamente onduladas, algumas retorcidas. Margens lisas em alguns espécimes ou com proliferações em outros. Ápices arredondados, com abundantes proliferações. Nervura em toda a sua extensão alcançando até a distância de 1 cm do ápice.

Figura 16. Aspecto geral. Barra de escala: 2 cm.

Proliferações estipitadas abundantes em ambas as faces do talo e também sobre a nervura. Ramificação irregular abundante. Estipe cilíndrico, robusto, com 0,5-2 cm de comprimento e 1-2 mm de diâmetro. Apressório discoide, com 2 mm de diâmetro.

Região Apical: Talo com 67,2-125 μm de espessura. Região cortical composta por uma camada de células retangulares, de 9-10 μm de altura e 2-5 μm de largura. Região subcortical constituída por 2-3 camadas de células esféricas ou periclinamente alongadas, de 4-10 μm de diâmetro ou largura. Região medular com filamentos periclinais e longitudinais, de 2-3 μm de diâmetro. Células ganglionares abundantes, orientadas paralelamente ao córtex. Células estreladas presentes, com 11-15 μm de largura.

Região Mediana: Talo com espessura de 95-135,8 μm nas lâminas, e 223,1-440 μm na região da nervura. Bordas das lâminas dilatadas. Região cortical composta por 1-2 camadas de células quadráticas ou retangulares, de 5-10 μm de altura e 5-7,5 μm de largura. Região subcortical constituída por 2-3 camadas de células esféricas ou periclinamente alongadas, de 5-22,5 μm de diâmetro. Região medular preenchida por densos filamentos longitudinais e periclinais, de 2,5-7,5 μm de diâmetro. Células ganglionares presentes, porém em menor número e menos evidentes que na região apical.

Região Basal: Talo com 65-100 μm de espessura na lâmina, e 400-480 μm na nervura. Região cortical composta por uma camada de células quadráticas, de 5-7,5 μm de

altura e 5-7,5 µm de largura. Região subcortical constituída por células arredondadas, de 7,5-10 µm de diâmetro. Região medular muito densa e preenchida por filamentos longitudinais de 5-7,5 µm de diâmetro. Células ganglionares presentes, porém menos evidentes que na região mediana.

Estruturas Reprodutivas: Não observadas.

Material examinado:

Brasil, Ceará, Icapuí, Praia de Ponta Grossa, 27 de abril de 2013, C.A.A. Azevedo e T. Vieira-Pinto (IBC 2152). Caucaia, Praia do Pacheco, 26 de abril de 2013, C.A.A. Azevedo, P.B. Carneiro, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva (IBC 2146). Paracuru, Praia de Munguba, 24 de abril de 2013, C.A.A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva (IBC 2119; IBC 2123). **Paraíba,** Conde, Praia de Tambaba, 23 de julho de 2012, C.A.A. Azevedo e F. Nauer (IBC 2052; SPF 57797/IBC 2055). Conde, Praia de Tabatinga, 21 de julho de 2012, C.A.A. Azevedo, F. Nauer e R. Perez (IBC 2047; IBC 2050). Conde, Praia de Carapibus, 20 de julho de 2012, C.A.A. Azevedo e F. Nauer (IBC 2041). **Bahia,** Camaçari, Praia de Jauá, 22 de maio de 2013, C.A.A. Azevedo, T. Vieira-Pinto, B. Torrano-Silva e M. Jamas (IBC 2170; IBC 2173). Salvador, Praia de Stella Maris, 22 de maio de 2013, C.A.A. Azevedo e T. Vieira-Pinto. (IBC 2159; IBC 2160). Santa Cruz Cabrália, Praia de Tartarugas, C.A.A. Azevedo e F. Nauer (IBC 2070; IBC 2071). Santa Cruz Cabrália, Praia de Apuã, 17 de setembro de 2012, C.A.A. Azevedo e F. Nauer (IBC 2072; IBC 2076; IBC 2078). Vera Cruz, Ilha de Itaparica, Praia da Coroa, 23 de maio de 2013, C.A.A. Azevedo, T. Vieira-Pinto, B. Torrano-Silva e M. Jamas (IBC 2173). **Espírito Santo,** Marataízes, Praia da Cruz, 07 de maio de 2012, M.C. Oliveira. **Rio de Janeiro,** Armação dos Búzios, Praia Rasa, 08 de março de 2015, C.A.A. Azevedo, V. Cassano e M. Mungiolli (IBC 2219; IBC 2220).

Comentários:

O exemplar IBC 0295, coletado no ES, seria identificado como *Cryptonemia guaymasensis* (E.Y.Dawson) E.Y.Dawson seguindo Pinheiro-Joventino (1977). O exemplar coletado neste estudo é pequeno (5,5 cm) e apresenta nervura restrita à base e ápices arredondados. Todos os demais aspectos (número de camadas corticais, medidas de células,

disposição dos filamentos medulares e presença de células ganglionares) concordam com *C. seminervis*. A filogenia (Figura 4) mostra esse espécime inserido em um clado com outras amostras identificadas como *C. seminervis*.

Pinheiro-Joventino (1977) foi a primeira a citar *C. guaymasensis* para a costa brasileira, seguida por Oliveira Filho (1977), Guimarães (1990) e Creed *et al.* (2015), para os estados do Ceará, Espírito Santo, Rio de Janeiro e São Paulo. *Cryptonemia guaymasensis* foi descrita por Dawson (1954) e sua localidade-tipo é o Pacífico Mexicano. No entanto, Lewis (1990) propôs a sinonimização de *C. guaymasensis* com *Cryptonemia limensis*, cuja localidade-tipo é o Peru.

Pinheiro-Joventino (1977) distingue *Cryptonemia guaymasensis* de *C. seminervis* (como *C. luxurians*) pelo menor tamanho (até 5 cm) e pela nervura pouco evidente e restrita à base na primeira, enquanto que na segunda, ocorrem plantas maiores (até 28 cm) e a nervura é muito evidente e está presente em toda a extensão do talo, quase alcançando o ápice. Segundo a descrição de Dawson (1954), *Cryptonemia guaymasensis* ocorre tanto no mesolitoral quanto no infralitoral, sendo que nas plantas do mesolitoral existe uma nervura na região basal que às vezes alcança a altura da primeira dicotomia, enquanto que no material de infralitoral a nervura é indiferenciada ou ausente. O material aqui encontrado concorda com Dawson (1954) em relação à nervura. As frondes são predominantemente não ramificadas, mas algumas apresentam dicotomia, concordando também com Dawson (1954).

Nós incluímos na filogenia de *rbcL* (Figura 4), uma sequência identificada como *Cryptonemia limensis* que foi coletada na localidade-tipo e gentilmente cedida por Martha Calderón (*Chungnam National University*, Daejeon, Coreia), juntamente com imagens de exsicatas identificadas pela mesma. No entanto, o material de herbário apresenta ápices agudos, distintos dos ápices obtusos e arredondados descritos para *Cryptonemia limensis*. Nós suspeitamos que essa identificação possa estar equivocada. De qualquer maneira, essa sequência não agrupa com nenhuma amostra coletada no litoral brasileiro, o que nos sugere que os registros de *Cryptonemia guaymasensis* e *Cryptonemia limensis* para a costa do Brasil também são identificações equivocadas.

Figura 17. *Cryptonemia seminervis* 1. Anatomia vegetativa.

- (a) Aspecto geral. Barra de escala: 2 cm (IBC 0295);
- (b) Aspecto geral. Barra de escala: 2 cm (IBC 2170);
- (c) Aspecto geral. Barra de escala: 2 cm (IBC 2055);
- (d) Aspecto geral. Barra de escala: 2 cm (IBC 2070);
- (e) Detalhe mostrando ápice arredondado. Barra de escala: 2 mm (IBC 2170);
- (f) Detalhe mostrando proliferação apical (seta). Barra de escala: 2 mm (IBC 2170);
- (g) Detalhe mostrando proliferação superficial estipitada (seta) sobre a nervura (ponta de seta). Barra de escala: 2 mm (IBC 2170);
- (h) Corte transversal na região apical do talo mostrando célula ganglionar (seta). Barra de escala: 50 μ m (IBC 2170);
- (i) Corte transversal na região apical do talo mostrando filamentos ganglionares (setas). Barra de escala: 50 μ m (IBC 2055);
- (j) Corte transversal na região mediana do talo mostrando corticação secundária (seta) e nervura (ponta de seta). Barra de escala: 300 μ m (IBC 2170);
- (k) Corte transversal na região mediana do talo. Seta aponta filamentos medulares longitudinais. Barra de escala: 50 μ m (IBC 2170);
- (l) Corte transversal na região basal do talo. Seta aponta nervura. Barra de escala: 50 μ m (IBC 0295).

Cryptonemia seminervis 2

Figs 18 e 20

Aspecto Geral: Talo de cor vermelha, não mucilaginoso, firme e rígido. Frondes em forma de fitas bastante retorcidas e onduladas, com altura de 14 cm e largura de 0,8 cm. Ápices arredondados, com proliferações. Região basal alada. Ramificação irregular, dicotômica em algumas porções, alternada em outras. Nervura muito conspícua, que parte da base e alcança até aproximadamente 1 cm de distância do ápice. Estipe cilíndrico, com 0,5 cm de comprimento e 1,5 mm de diâmetro. Apressório discoide, com 1,5 mm de diâmetro. Proliferações superficiais não foram encontradas.

Figura 18. Aspecto geral. Barra de escala: 2 cm

Região Apical: Talo com 97,5-105 μm de espessura. Região cortical composta por uma camada de células quadráticas, de 5 μm de altura e 2,5 μm de largura. Região subcortical constituída por 3-4 camadas de células arredondadas ou alongadas, de 5-9 μm de diâmetro. Região medular com filamentos periclinais, de 2-3 μm de diâmetro. Células ganglionares e estreladas não encontradas.

Região Mediana: Talo com 122,5-147,5 μm de espessura na lâmina e 770-790 μm na nervura. Região cortical composta por 1-2 camadas de células quadráticas ou retangulares, de 5-7,5 μm de altura e 2,5-5 μm de largura. Região subcortical constituída por 4-5 camadas de células arredondadas, de 4-14 μm de diâmetro, menores perto da região cortical e que aumentam de tamanho em direção à região medular. Região medular bastante densa, compacta. Poucas células ganglionares, pequenas e de conteúdo discreto. Células estreladas não encontradas.

Região Basal: Espessura de 1700-1875 μm . Corticação secundária bastante desenvolvida, com anéis de crescimento.

Estruturas Reprodutivas: Não observadas.

Material Examinado:

Brasil, Rio de Janeiro, Armação dos Búzios, Praia da Foca, infértil, 15 de março de 2014, C.A.A. Azevedo, V. Cassano e M. Mungioli (SPF 57776/IBC 2194; IBC 2224; IBC 2225). Praia da Ferradurinha, 09 de março de 2015, C.A.A. Azevedo, V. Cassano e M. Mungioli (IBC 2222). Cabo Frio, Ilha do Vigia, 07 de março de 2015, C.A.A. Azevedo, V. Cassano e M. Mungioli (IBC 2215).

Cryptonemia seminervis 3 (C.Agardh) J.Agardh

Figs. 19 e 20

Aspecto Geral: Talo de cor vermelha, firme, não mucilaginoso. Frondes em forma de fitas onduladas e retorcidas, com altura de até 5,7 cm e largura de até 1,2 cm. Ápices arredondados. Margens levemente denteadas ou lisas. Ramificação predominantemente dicotômica, mas também com algumas ramificações laterais. Nervura parte da base e alcança a região mediana, até a distância de 3 cm da

Figura 20. Aspecto geral. Barra de escala: 2 cm

base em alguns espécimes, ou até aproximadamente 0,5 cm do ápice em outros. Estipe cilíndrico, com até 0,5 cm de comprimento e 1 mm de diâmetro. Proliferações superficiais ao longo da nervura podem ocorrer em alguns exemplares. Algumas proliferações foram observadas em porções aparentemente danificadas do talo. Proliferações marginais não observadas.

Região Apical: Talo com 100-115 μm de espessura. Região cortical composta por uma camada de células retangulares, de 7,5-10 μm de altura e 2,5-5 μm de largura. Região subcortical constituída por 1-2 camadas de células esféricas, de 5-7,5 μm de diâmetro. Região medular frouxa, com filamentos periclinais e alguns longitudinais. Células ganglionares grandes e abundantes. Células estreladas não encontradas.

Região Mediana: Talo com 137,5-177,5 μm de espessura na lâmina e 480-510 μm na nervura. Região cortical composta por 1-2 camadas de células quadráticas ou retangulares, de 2,5-5 μm de altura e 2,5 μm de largura. Região subcortical constituída por 3-4 camadas de células esféricas ou periclinamente alongadas, de 5-20 μm de diâmetro, menores perto da região cortical e que aumentam de tamanho em direção à região medular. Região medular bastante densa, compacta. Poucas células ganglionares, pequenas e de

conteúdo discreto, menos abundantes que na região apical. Células estreladas não encontradas.

Região Basal: Talo com 60-85 μm de espessura na lâmina e 600-660 μm na nervura. Região cortical com 1-2 camadas de células quadráticas ou mais largas que altas, com 2,5 μm de altura e 2,5-5 μm de largura. Região subcortical com células esféricas ou periclinamente alongadas, de 5-15 μm de diâmetro. Região medular bastante densa, dificilmente distinguida da região subcortical, composta por pequenas células esféricas de 2,5 μm de diâmetro. Poucos filamentos ganglionares, discretos. Células estreladas não encontradas.

Estruturas Reprodutivas: Não observadas.

Material Examinado:

Brasil, Rio de Janeiro, Armação dos Búzios, Praia da Foca, 14 de março de 2014, C.A.A. Azevedo, V. Cassano e M. Mungioli (IBC 2195/SPF 57777 – infértil). Armação dos Búzios, Praia da Ferradurinha, 09 de março de 2015, C.A.A. Azevedo, V. Cassano e M. Mungioli (IBC 2221 - infértil). Cabo Frio, Ilha do Vigia, 07 de março de 2015, C.A.A. Azevedo, V. Cassano e M. Mungioli (IBC 2216 e IBC 2217 - inférteis).

Figura 20. *Cryptonemia seminervis* 2 (a-c) e *Cryptonemia seminervis* 3 (d-f). Variação e convergência morfológica.

(a) Aspecto geral. Barra de escala: 2 cm (IBC 2194);

(b) Aspecto geral. Barra de escala: 2 cm (IBC 2222);

(c) Aspecto geral. Barra de escala: 2 cm (IBC 2225);

(d) Aspecto geral. Barra de escala: 2 cm (IBC 2195);

(e) Aspecto geral. Barra de escala: 2 cm (IBC 2221);

(f) Aspecto geral. Barra de escala: 2 cm (IBC 2216).

***Halymenia* C. Agardh**

Do grego *hals*: o mar; *hali*: sal + *humen*: membrana.

Espécie-tipo do gênero: *Halymenia floresii* (Clemente) C. Agardh

O gênero *Halymenia* é caracterizado por apresentar talo cilíndrico ou achatado ou folioso, lanceolado a orbiculado, inteiro, fendido, bifurcado ou prolífero, distintamente estipitado. Consistência gelatinosa a firme. Região medular com poucos filamentos, predominantemente anticlinais. Filamentos estrelados de conteúdo normal entre região cortical e região medular. Filamentos refractivos formam células ganglionares de conteúdo refringente, imersos na região medular, orientados paralelamente à superfície do talo. Células corticais mais ou menos isodiamétricas, progressivamente menores em direção à cutícula. Espécies monoicas ou dioicas. Estruturas reprodutivas femininas em ampolas, com ramos de 3ª e 4ª ordem. Ramo carpogonial com duas células, intercalares em filamentos ampolares primários ou secundários. Filamentos conectivos partem diretamente do carpogônio fertilizado ou a partir de célula de fusão incluindo a célula hipógina, e conectam uma sucessão de células auxiliares em ampolas separadas. A inicial do gonimoblasto é direcionada à superfície do talo. Cistocarpo compacto, imerso e com muitos carposporângios pequenos. Pericarpo e ostíolo presentes. Espermatângios superficiais, cortados por paredes oblíquas, localizados em toda a fronde ou restritos às margens. Tetrasporófitos e gametófitos isomórficos. Tetrasporângios pequenos, cruciados, espalhados pelo córtex.

(Guiry & Guiry 2016)

***“Halymenia” elongata* C. Agardh**

Figs 21 e 22

Do latin *elongata*: longo, alongado.

Localidade-tipo: Espanha.

Aspecto Geral: Talo de cor rosa, mucilaginoso e flácido. Frondes tubulares, cilíndrico-comprimidas, com até 14 cm de altura e até 1,3 cm de largura nas dicotomias. Ramificação dicotômica, até 7ª ordem. Ápices afilados e bifurcados. Nervura ausente. Estipe cilíndrico, com 1 cm de comprimento e 3 mm de diâmetro. Apressório discoide, com 2 mm de diâmetro.

Figura 21. Aspecto geral. Barra de escala: 1 cm

Região Apical: Região cortical com 1-2 camadas de células elipsoidais ou ovoides, de 3-5 μm de altura e 2-4 μm de largura. Região medular frouxa, com filamentos irregulares de 3-5 μm de diâmetro. Células ganglionares ausentes. Células estrelas com 17,5-27,5 μm de largura.

Região Mediana: Região cortical com 1-2 camadas de células elipsoidais ou ovoides, de 5-8 μm de altura e 3-4 μm de largura. Região subcortical com 1-2 camadas de células arredondadas, de 10-13 μm de diâmetro. Região medular com filamentos irregulares de 3-5 μm de diâmetro. Células ganglionares ausentes. Células estreladas presentes, com 16-21 μm de largura.

Região Basal: Região cortical em vista superficial composto por células esféricas, elipsoidais ou ovoides, de 3-6 μm de diâmetro. Região medular com filamentos irregulares de 2-4 μm de diâmetro. Células ganglionares ausentes. Células estreladas com 37,5-55 μm de largura.

Estruturas Reprodutivas: Ampola da célula auxiliar ramificada irregularmente, composta por vários filamentos de células alongadas de aproximadamente 20 μm de comprimento. Célula auxiliar ovoide, com 14-15 μm de altura e 11-12 μm de largura.

Cistocarpos maduros visualizados nas regiões apical e mediana, com 112,5 µm de diâmetro. Gametófitos masculinos e tetrasporófitos não observados.

Material examinado:

Brasil, Ceará, Trairi, Praia de Guajiru, 25 de abril de 2013, C.A.A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva. **Rio Grande do Norte,** Rio do Fogo, Praia de Rio do Fogo, 13 de janeiro de 2013, C.A.A. Azevedo e R.F. Menezes (SPF 57816/IBC 2095; SPF 57785/IBC 2094 - gametófito feminino). **Espírito Santo,** Anchieta, Iriri, 20 m de profundidade, 07 de abril de 2012, B. Torrano-Silva e C.E. Amâncio (IBC 2017).

Comentários:

Halymenia elongata foi diversas vezes citada para o litoral do Brasil, incluindo os estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Bahia, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina (Oliveira Filho 1977). Muitas das citações são feitas sob o nome *Halymenia agardhii* De Toni, sendo Joly (1964) o primeiro autor a citar esse táxon para a costa brasileira. No entanto, atualmente *H. agardhii* é considerada sinônimo de *Sebdenia flabellata* (J.Agardh) P.G.Parkinson (Dawes & Mathieson 2008).

O clado de "*Halymenia*" *elongata* está distantemente posicionado do clado que inclui a espécie-tipo do gênero, *Halymenia floresii* (Figuras 4 e 5). Além disso, esse táxon não apresenta relação próxima com nenhum outro gênero presente na análise filogenética, o que sugere que esses indivíduos representam um gênero distinto de *Halymenia*, possivelmente novo para a ciência.

Figura 22. "*Halymenia*" *elongata*. Anatomia vegetativa e reprodutiva.

(a) Aspecto geral de "*Halymenia*" *elongata*. Barra de escala: 1 cm (IBC 2136);

(b) Aspecto geral de "*Halymenia*" *elongata*. Barra de escala: 1 cm (SPF 57785/IBC 2094);

(c) Corte transversal na região apical do talo. Seta indica filamento Região medular. Barra de escala: 50 µm (SPF 57785/IBC 2094);

(d) Corte transversal na região mediana do talo. Seta indica célula da região cortical, enquanto que ponta de seta indica parte do cistocarpo. Barra de escala: 50 µm (SPF 57785/IBC 2094);

(e) Detalhe de corte transversal na região mediana mostrando células da região subcortical (setas) e células estreladas (pontas de seta). Barra de escala: 50 µm (SPF 57785/IBC 2094);

- (f) Preparação de esmagamento na região apical mostrando ampola da célula auxiliar. Seta aponta célula auxiliar e pontas de seta indicam filamentos ampolares. Barra de escala: 50 μm (SPF 57785/IBC 2094);
- (g) Preparação de esmagamento na região apical mostrando cistocarpo em desenvolvimento. Seta, ponta de seta e seta dupla apontam, respectivamente, célula de fusão, gonimoblasto imaturo e filamentos do pericarpo. Barra de escala: 50 μm (SPF 57785/IBC 2094);
- (h) Preparação de esmagamento na região apical mostrando cistocarpo maduro. Seta, ponta de seta e seta dupla apontam, respectivamente, célula de fusão, gonimoblasto maduro e filamentos do pericarpo. Barra de escala: 50 μm (SPF 57785/IBC 2094).

***“Halymenia” floridana* J.Agardh**

Figs 23 e 24

Do latim *floridana*: da Flórida.

Localidade-tipo: Estados Unidos da América, Flórida.

Aspecto Geral: Talo de cor rosa ou vermelha, flácido, pouco mucilaginoso, com até 6 cm de altura e 4 cm de largura. Frondes foliosas, de formato irregular, algumas lanceoladas, obovadas ou expandidas, irregularmente ramificadas. Margens inteiras e levemente onduladas e proliferações marginais presentes em alguns espécimes. Ápices arredondados. Poucas perforações em alguns espécimes. Nervura presente apenas na região basal. Estipe ramificado, cilíndrico, com 0,5 cm de comprimento e menos de 1 mm de diâmetro. Apressório discoide, com 1 mm de diâmetro.

Figura 23. Aspecto geral. Barra de escala: 1 cm.

Região Apical: Talo com 97-127,5 μm de espessura. Região cortical com 1-2 camadas de células de formato irregular, algumas quadráticas, outras arredondadas ou ovóides, com 5-7 μm de altura e 3-4 μm de largura. Região subcortical com uma camada de células arredondadas alongadas periclinamente, de 10-15 μm de diâmetro. Região medular frouxa, com poucos filamentos anticlinais e alguns periclinais, de 2-3 μm de diâmetro. Células ganglionares numerosas, grandes e conspícuas, imersas na região medular. Filamentos ganglionares de formato tubular e conteúdo refringente, muito visíveis. Células estreladas com 18-20 μm de diâmetro, conectando as células da região subcortical aos filamentos medulares.

Região Mediana: Talo com 70-140 μm de espessura. Região cortical com 1-2 camadas de células retangulares, mais largas que altas, de 3-5 μm de altura e 5-8 μm de largura. Região subcortical com 1-2 camadas de células arredondadas, alongadas

periclinalmente, com 12-14 μm de diâmetro. Região medular frouxa, com filamentos anticlinais e periclinais de 2-4 μm de diâmetro. Células ganglionares numerosas e grandes. Filamentos ganglionares de formato tubular (aproximadamente 5 μm de diâmetro) e conteúdo refringente, orientados periclinalmente e que se expandem formando as células ganglionares. Células estreladas com 10 μm de diâmetro, conectando as células da região subcortical aos filamentos medulares.

Região Basal: Talo com 67,5-105 μm de espessura na lâmina e 237,5-390 μm na nervura. Região cortical composta por uma camada de células quadráticas ou retangulares, com 4-7 μm de altura e 4-5 μm de largura. Região subcortical com uma camada de células arredondadas ou periclinalmente alongadas, de 9-11 μm de diâmetro. Região medular muito densa, preenchida por células de lúmen grande de 12,5-16 μm de diâmetro e filamentos irregulares de 2-3 μm de diâmetro. Células ganglionares presentes. Células estreladas obscurecidas pelos densos filamentos.

Estruturas Reprodutivas: Tetrasporângios imaturos observados imersos no córtex da região apical, cortados apenas transversalmente, com 12,5-17,5 μm de altura e 7,5-10 μm de largura. Gametófitos femininos e masculinos não observados.

Material Examinado:

Brasil, Bahia, Camaçari, Praia de Guarajuba, 24 de maio de 2013, C.A.A. Azevedo, T. Vieira-Pinto, B. Torrano-Silva e M. Jamas (SPF 57812/IBC 2175 - tetrasporófito). **Espírito Santo,** Anchieta, Praia de Castelhanos, 09 de setembro de 2014, T. Vieira-Pinto (IBC 2210). **Rio de Janeiro,** Armação dos Búzios, Praia Rasa, 08 de março de 2015, C.A.A. Azevedo, V. Cassano e M. Mungioli (IBC 2218). **São Paulo,** Ubatuba, Praia Dura, 14 de outubro de 2008, E.C. Oliveira e M.C. Oliveira (SPF 57820/IBC 0054; IBC 0055). Ubatuba, Praia da Lagoinha, 23 de julho de 2009, E.C. Oliveira e F. Nauer (IBC 2161). **Santa Catarina,** Florianópolis, Praia de Ponta das Canas, 16 de junho de 2011, M.B. Batista (IBC 2205).

Comentários:

A espécie foi coletada nos estados da Bahia, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina. De acordo com o nosso conhecimento, esta é a primeira citação de *H. floridana* para o estado de Santa Catarina.

Nossos dados moleculares indicam que esse táxon corresponde a um gênero distinto de *Halymenia*. Várias tentativas de amplificação da região COI-5P foram realizadas com amostras pertencentes a esse táxon, porém todas falharam. Consequentemente, apenas dados de UPA (Figura 2) e *rbcL* (Figura 4) foram obtidos. Não foi possível comparar molecularmente a entidade brasileira com sequências de material da localidade-tipo devido à indisponibilidade das últimas. Para o marcador UPA, a divergência entre “*Halymenia*” *floridana* e outros integrantes de *Cryptonemia*, como *Cryptonemia seminervis* 2 e *Cryptonemia seminervis* 3, foi de apenas 0,8% e 1,1%, respectivamente. Esse resultado indica que o táxon “*H.*” *floridana* é mais próximo de *Cryptonemia* do que de *Halymenia*.

Nas filogenias apresentadas neste estudo (Figuras 4 e 5), *H. floridana* aparece como grupo-irmão do clado que contém a espécie-tipo do gênero *Cryptonemia*. Na árvore de *rbcL*, o suporte de *Bootstrap* para esse clado é de 66%, enquanto que na análise concatenada, o valor é de 93%.

Morfológicamente, os indivíduos encontrados neste estudo concordam com a espécie identificada por Guimarães (1990) e Taylor (1960) como *Halymenia bermudensis* F.S. Collins & M.A. Howe. Quando descrita, *H. bermudensis* foi diferenciada de *H. floridana* por apresentar coloração mais escura, talo mais lobado, textura mais firme, córtex mais espesso, abundância e anatomia das células ganglionares e pela aparente falta de reprodução sexual (Collins & Howe 1916). No entanto, *H. floridana*, *H. bermudensis* e *H. gelinaria* F.S. Collins & M.A. Howe foram sinonimizadas por Schneider & Searles (1991), prevalecendo o nome mais antigo *Halymenia floridana*.

Guimarães (1990) cita que a ampola da célula auxiliar de *Halymenia floridana* (como *H. bermudensis*) difere do sistema de Chiang (1970) por apresentar formato mais cônico que o modelo de ampola do tipo *Halymenia*. Em relação ao número de filamentos ampolares, Guimarães (1990) também cita que encontrou tanto ampolas menos densas quanto mais densas. Essas ampolas cônicas e densas poderiam então se enquadrar na ampola do tipo *Cryptonemia* do sistema de Chiang.

Em relação ao seu habitat, essa é a única espécie até então tratada como *Halymenia* citada para a costa brasileira que ocorre no mesolitoral. Todas as demais espécies de *Halymenia* ocorrem no infralitoral. Além disso, esta é a única espécie de *Halymenia* que foi coletada também em estações diferentes do verão. Joly (1964) descreve que *H. floridana* (como *H. rosea*) é encontrada em rochas do mesolitoral e é abundante durante os meses de inverno, e raríssima no verão. Essas características coincidem com as encontradas para espécies de *Cryptonemia*, as quais ocorrem no mesolitoral, em toda a extensão do litoral brasileiro e em todas as estações do ano. Segundo Guiry & Irvine (1974), o espessamento na margem do talo é uma característica do gênero *Cryptonemia*. Guimarães (1990), ao analisar material até então identificado como *Halymenia bermudensis*, descreve esse espessamento. Esses elementos reforçam a transferência dessa entidade para o gênero *Cryptonemia* ou para um novo gênero.

Figura 24. "*Halymenia*" *floridana*. Anatomia vegetativa e reprodutiva.

(a, b) Aspecto geral de "*Halymenia*" *floridana*. Seta indica a nervura restrita à base. Barras de escala: 1 cm (IBC 0055);

(c) Corte transversal na região apical do talo. Seta e ponta de seta indicam célula ganglionar e estrelada, respectivamente. Barra de escala: 50 μ m (IBC 0055);

(d) Corte transversal na região mediana do talo. Seta aponta célula da região cortical, enquanto que ponta de seta indica filamento medular. Barra de escala: 50 μ m (IBC 2175);

- (e) Corte transversal na região mediana do talo. Setas indicam filamentos ganglionares de aspecto tubular. Barra de escala: 50 μm (IBC 2175);
- (f) Corte transversal na região basal do talo. Seta aponta região da nervura. Barra de escala: 300 μm (IBC 0054);
- (g) Corte transversal na região apical do talo mostrando tetrasporângio imaturo (seta) dividido apenas transversalmente. Barra de escala: 50 μm (IBC 2175).

***Halymenia ignifera* C.A.A. Azevedo, Cassano & M.C. Oliveira**

***Halymenia pinnatifida* C.A.A. Azevedo, Cassano & M.C.**

Oliveira

***Halymenia silviae* C.A.A. Azevedo, Cassano & M.C. Oliveira**

Esses três táxons são apresentados no manuscrito intitulado “Diversity of *Halymenia floresii* (Halymeniales, Rhodophyta) complex on the Brazilian coast: molecular and morphological approaches reveal three new species”, que corresponde ao Anexo III, submetido para o periódico *Phycologia*.

Halymenia sp. 1

Figs 25 e 26

Aspecto geral: Talo mucilaginoso, de cor rosa, folioso e com lobos, com 9 cm de altura e até 4 cm de largura. Fronde apresenta perfurações e abundantes máculas superficiais uniformemente distribuídas em toda a superfície. Margens levemente onduladas. Apressório, estipe, nervura e proliferações superficiais ausentes na amostra.

Região apical: Talo com 87,5 μm de espessura. Região cortical constituída por 1 camada de células alongadas, com 12-14 μm de altura e 1-2 μm de largura. Região subcortical composta por 1-2 camadas de células arredondadas, com 6-7 μm de diâmetro. Região medular frouxa, com filamentos periclinais. Células ganglionares raras, com conteúdo pouco refringente e discreto. Células estreladas alongadas, aparentemente conectadas apenas periclinamente, com 10-14 μm de altura e 6 μm de largura.

Região mediana: Talo com 110-117,5 μm de espessura. Região cortical composta por 1-2 camadas de células alongadas e estreitas, mais altas que largas, de 12-13 μm de altura e 2-3 μm de largura. Região subcortical constituída por 2-3 camadas de células arredondadas, de 6-9 μm de diâmetro. Região medular com filamentos periclinais, de 1-2 μm de diâmetro. Células ganglionares presentes, porém muito discretas. Células estreladas presentes, com 13-15 μm de altura e 8-10 μm de largura, conectadas apenas periclinamente.

Região basal: Talo com 135-140 μm de espessura. Região cortical com 1-2 camadas de células alongadas e estreitas, de 13-15 μm de altura e 2-3 μm de largura. Região subcortical com 2-3 camadas de células arredondadas, de 7-11 μm de diâmetro. Região medular com filamentos periclinais de 1-2 μm de diâmetro. Células ganglionares

Figura 25. Aspecto geral. Barra de escala: 2 cm.

presentes, pouco numerosas. Células estreladas alongadas, de 11-14 µm de altura e 5-6 µm de largura.

Estruturas Reprodutivas: Não observadas.

Material examinado:

Brasil, Ceará, Trairi, Praia de Guajirú, material arribado, infértil, 25 de abril de 2013, C.A.A. Azevedo, B. Torrano-Silva e T. Vieira-Pinto (SPF 57795/IBC 2138).

Comentários:

O táxon tratado aqui como *Halymenia* sp. 1 apresenta aspecto geral bem característico do gênero *Halymenia*, tais como talo folioso e mucilaginoso, além de numerosas manchas distribuídas uniformemente em toda a superfície do talo. No entanto, internamente, os filamentos medulares são periclinais, não coincidindo com os típicos filamentos anticlinais frequentemente observados em espécies de *Halymenia*. Apenas um indivíduo foi coletado, no estado do Ceará.

Na análise de agrupamento com dados de COI-5P (Figura 3), esse táxon aparece isolado, e tendo relação mais próxima com *Halymenia ignifera*. Os dados de *rbcL* mostram que a linhagem mais próxima de *Halymenia* sp. 1 é *Epiphloea bullosa* (Harvey) De Toni (Figura 4).

O espécime concorda morfológicamente com *Halymenia mirabilis* D.L. Ballantine & H. Ruiz, cuja localidade-tipo é Granada, Caribe (Ballantine & Ruiz 2004). No entanto, não existem sequências disponíveis de *H. mirabilis*, e, ainda, foi encontrada apenas uma amostra que é um fragmento do talo. A correta identificação desse táxon requer a coleta de um maior número de indivíduos para a realização de mais observações morfológicas.

Figura 26. *Halymenia* sp. 1. Anatomia vegetativa. Todas as imagens são de IBC 2138.

(a) Aspecto geral mostrando manchas na superfície do talo. Barra de escala: 2 cm;

(b) Corte transversal na região apical do talo. Seta, ponta de seta e seta dupla indicam célula da região cortical, célula da região subcortical e célula estrelada, respectivamente. Barra de escala: 50 μm;

(c) Corte transversal na região mediana do talo. Seta indica filamento refringente. Barra de escala: 50 μm;

(d) Corte transversal na região basal do talo. Seta indica filamento ganglionar. Barra de escala: 50 μm.

(e) Corte transversal na região basal do talo. Seta indica célula ganglionar. Barra de escala: 50 μm;

Halymenia sp. 2

Figs 27-29

Aspecto Geral: Talo de cor rosa ou vermelha escura, folioso, mucilaginoso, porém firme. Frondes com lâminas fendidas, lobadas ou obovadas, de até 33 cm de altura e 23 cm de largura na região mediana. Talos de ramificação irregular ou não ramificados. Em alguns espécimes, várias lâminas podem se originar de um mesmo apressório. Talo com estruturas com aspecto de bolhas e rugosidades abundantes na região distal, e menos numerosas na região proximal em alguns espécimes. Em outros exemplares, bolhas, rugosidades e papilas espalhadas em toda a superfície do talo. Perforações superficiais raras, pequenas e distribuídas irregularmente. Ápices de formato irregular. Margens lisas na região distal e levemente denteadas na região basal. Em alguns exemplares, as margens são irregulares, com projeções denteadas pequenas e irregularmente distribuídas. Nervura ausente. Base não cuneada, alargada, com largura de 4 cm logo acima do estipe. Proliferações apicais e superficiais ausentes. Estipe achatado, pouco diferenciado, alcançando até 5 mm de comprimento e 3 mm de largura. Apressório discoide, com até 4 mm de diâmetro.

Figura 27. Aspecto geral. Barra de escala: 5 cm.

Região Apical: Talo com 62,5-320 μm de espessura. Região cortical composta por 1-2 camadas de células elipsoides ou ovóides, de 5-8 μm de altura e 2-5 μm de largura. Região subcortical constituída por 1-3 camada de células arredondadas ou periclinamente alongadas, de 4-25 μm de diâmetro. Região medular frouxa, com filamentos anticlinais com *pit-connections* bastante evidentes e alguns periclinais, de 2-12,5 μm de diâmetro. Células ganglionares abundantes e muito conspicuas, de conteúdo refringente, imersas na

região medular. Células estreladas de conteúdo normal, com 18-22 μm de largura, conectando as células da região subcortical aos filamentos medulares e periclinais.

Região Mediana: Talo com 75-500 μm de espessura. Região cortical com 1-2 camadas de células elipsoides ou ovóides, de 5-7,5 μm de altura e 4-5 μm de largura. Região subcortical constituída por 1-2 camadas de células arredondadas ou periclinamente alongadas, de 4-15 μm de diâmetro. Região medular mais densa que na região apical, com filamentos predominantemente anticlinais, mas também com filamentos irregulares, de 3-15 μm de diâmetro. Células ganglionares muito abundantes, de conteúdo refringente, imersas na região medular. Células estreladas de conteúdo normal, com 18-20 μm de diâmetro, conectando as células da região subcortical aos filamentos medulares e periclinais.

Região Basal: Talo com 520-740 μm de espessura. Região cortical composta por 1-3 camadas de células elipsoides ou ovóides, de 5-10 μm de altura e 2,5-5 μm de largura. Região subcortical constituída por 3-4 camadas de células arredondadas, de 8-15 μm de diâmetro. Região medular muito densa, com filamentos irregulares e entrelaçados de 2-17,5 μm de diâmetro. Poucas células ganglionares. Células estreladas com aproximadamente 17 μm de diâmetro.

Estruturas de Reprodução: Célula auxiliar alongada, com 24 μm de altura e 12 μm de largura. Ampola não fertilizada com 75-87,5 μm e diâmetro, e com diâmetro de 100 μm após a fertilização. Cistocarpos imersos no talo nas regiões apical e mediana, com três gonimolobos e 62,5-90 μm de diâmetro. Gametófitos masculinos e tetrasporófitos não observados.

Material Examinado:

Brasil, estado do Ceará, Trairi, Praia de Guajiru, 25 de abril de 2013, C.A.A. Azevedo, T. Vieira-Pinto e B. Torrano-Silva (IBC 2129 - gametófito feminino; IBC 2132 - gametófito feminino; IBC 2133 – infértil; IBC 2134 – infértil; IBC 2140 - gametófito feminino). Praia do Pacheco, infértil, 26 de abril de 2013, C.A.A. Azevedo, P.B. Carneiro, T. Vieira-Pinto, B. Torrano-Silva (SPF 57794/IBC 2143 – infértil; SPF 57793; IBC 2147 - infértil).

Comentários:

Os indivíduos de *Halymenia* sp. 2 foram coletados no estado do Ceará. A árvore de *rbcL* mostra essa linhagem proximamente relacionada a *Halymenia floresii* e *Halymenia pseudofloresii* (Figura 4).

Este material apresenta papilas superficiais (Figura 28, c) que lembram as de *H. duchassaingii*, no entanto, essa entidade possui papilas muito mais escassas e menos conspícuas que o descrito na literatura para *H. duchassaingii*, (Joly *et al.* 1965b; Taylor 1960). Este material difere de *H. brasiliana* por apresentar numerosas e conspícuas células ganglionares, em toda a extensão do talo.

O aspecto geral se assemelha muito a *Halymenia* sp. 4 descrita por Guimarães (1990) como material com superfície bastante rugosa. Essa espécie é objeto de um manuscrito em preparação.

Figura 28. *Halymenia* sp. 2. Variação morfológica nos espécimes encontrados.

(a) Aspecto geral de espécime com rugosidades abundantes. Barra de escala: 5 cm (IBC 2129);

(b) Detalhe da região basal, mostrando papilas de formato globular (setas). Barra de escala: 1 cm (IBC 2129);

(c) Detalhe da região apical, mostrando papilas de formato espinescente (setas). Barra de escala: 1 cm (IBC 2134);

- (d) Aspecto geral de espécime com rugosidades e base larga. Barra de escala: 5 cm (IBC 2132);
- (e) Aspecto geral de espécime com superfície lisa. Várias frondes partem de um mesmo apressório. Barra de escala: 1 cm (IBC 2143);
- (f) Aspecto geral de espécime com poupas papilas e rugosidades. Barra de escala: 1 cm (IBC 2147).

Figura 29. *Halymenia* sp. 2. Anatomia vegetativa e reprodutiva.

- (a) Corte transversal na região apical do talo. Seta aponta célula ganglionar. Barra de escala: 50 μ m (IBC 2132);
- (b) Corte transversal na região mediana do talo. Setas e ponta de seta indicam células estreladas e filamento medular anticlinal, respectivamente. Barra de escala: 50 μ m (IBC 2133);
- (c) Corte transversal na região basal do talo. Barra de escala: 300 μ m (IBC 2132);
- (d) Detalhe de corte transversal na região basal mostrando célula ganglionar (seta). Barra de escala: 50 μ m (IBC 2132);

- (e) Corte transversal na região mediana mostrando ampola da célula auxiliar. Seta indica célula auxiliar (fora de foco), enquanto que ponta de seta indica filamento ampolar. Barra de escala: 50 μm (IBC 2132);
- (f-j) Sequência de desenvolvimento do cistocarpo;
- (f) Corte transversal na região apical mostrando início do desenvolvimento do carposporófito. Seta e ponta de seta indicam célula de fusão e inicial dos gonimoblastos, respectivamente. Barra de escala: 50 μm (IBC 2129);
- (g) Corte transversal na região apical mostrando célula de fusão (seta) e filamentos conectivos (pontas de seta). Barra de escala: 50 μm (IBC 2129);
- (h) Corte transversal na região apical mostrando gonimoblasto imaturo (seta). Barra de escala: 50 μm (IBC 2129);
- (i) Corte transversal na região apical mostrando gonimoblasto em desenvolvimento (seta). Barra de escala: 50 μm (IBC 2129);
- (j) Preparação de esmagamento na região apical mostrando cistocarpo maduro. Seta, ponta de seta e seta dupla indicam célula de fusão, inicial dos gonimoblastos e carposporângios, respectivamente. Barra de escala: 50 μm (IBC 2129).

***Grateloupia* C. Agardh**

***Grateloupia*: em homenagem ao naturalista francês J. P. F. Grateloup.**

Espécie-tipo do gênero: *Grateloupia filicina* (J.V.Lamouroux) C.Agardh

Talos mucilaginosos, achatados, foliosos, lineares ou lanceolados. Frondes inteiras, lobadas ou abundantemente ramificadas em uma a mais ordens, em um ou mais planos. Proliferações superficiais e marginais presentes em algumas espécies. Frondes com estipes cilíndricos ou achatados e apressórios discoides. Estrutura multiaxial. Região cortical com fileiras anticlinais de células mais ou menos isodiamétricas, progressivamente menores em direção à cutícula. Região subcortical com células arredondadas. Região medular esparsa, com filamentos irregulares predominantemente periclinais, algumas vezes com rizoides. Células estreladas presentes entre a região subcortical e a região medular externa. Gametófitos monoicos ou dioicos. Estruturas reprodutivas em ampolas, ramificadas geralmente apenas até segunda ordem. Ramos carpogoniais e células auxiliares em ampolas separadas. Filamentos ampolares ramificados de 1-2 ordens. Ampola da célula auxiliar consiste de um filamento primário e de 1-3 filamentos secundários não ramificados. Ramos carpogoniais com duas células. Após a fertilização, os filamentos conectivos se desenvolvem e podem se fundir com várias células auxiliares em ampolas separadas. Uma célula auxiliar de fusão pequena é formada. Uma única célula inicial dos gonimoblastos direcionada à superfície do talo produz um cistocarpo compacto e imerso com muitos carposporângios pequenos, envolto por um invólucro derivado dos filamentos ampolares e medulares. Cistocarpos geralmente de formato cônico e pequeno ostíolo geralmente presente. Espermatângios superficiais, espalhados pela superfície do talo e algumas vezes em soros nemateciais. Células-mãe de espermatângios formadas a partir de células superficiais. Gametófitos e tetrasporófitos isomórficos. Tetrasporângios cruciados, fixos na base das células do córtex intermediário e espalhados pela superfície do talo.

(Guiry & Guiry 2016)

Grateloupia cf. dichotoma J. Agardh

Figs 30 e 31

Do grego *dichotomos*: bifurcado ou igualmente dividido.

Localidade-tipo: França, Mediterrâneo.

Aspecto Geral: Talo vermelho-escuro ou marrom, firme, em forma de fita. Ramificação irregular ou não ramificado. Frondes com até 4 cm de altura e 3 mm de largura. Ápices bifurcados ou afilados, e alguns râmulos marginais na região distal. Proliferações superficiais ou marginais ausentes em alguns espécimes. Margens levemente denteadas. Nervura ausente e estipe não diferenciado. Apressório discoide, com 1-2 mm de diâmetro.

Figura 30. Aspecto geral. Barra de escala: 1 cm.

Região Apical: Talo com espessura de 80-175 μm . Região cortical composta por 1 camada de células retangulares ou quadráticas, de 5-6 μm de altura e 2-4 μm de largura. Região subcortical constituída por 1-2 camadas de células esféricas, de 3-8 μm de diâmetro. Região medular frouxa, com filamentos irregulares de 2-4 μm de diâmetro. Células ganglionares não encontradas. Células estreladas presentes, expandidas, com 9-10 μm de diâmetro, conectando as células da região subcortical aos filamentos medulares.

Região Mediana: Talo com espessura de 260-340 μm . Região cortical composta por 3-4 camadas de células quadráticas ou retangulares, com 4-6 μm de altura e 2-5 μm de largura. Região subcortical constituída por 2-3 camadas de células arredondadas, com 4-10 μm de diâmetro. Região medular densa, com abundantes filamentos irregulares e entrelaçados, com 3-4 μm de diâmetro. Células ganglionares não encontradas. Células estreladas poligonais, com 12,5-17,5 μm de diâmetro.

Região Basal: Talo com espessura de 250-350 μm . Região cortical com 2-4 camadas de células quadráticas ou retangulares, com 3-5 μm de altura e 2-4 μm de largura. Região subcortical constituída por 2-3 camadas de células arredondadas, com 3-8 μm de

diâmetro. Região medular bastante densa, com abundantes filamentos medulares e entrelaçados, alguns com aspecto de rizines, com 2-6 µm de diâmetro. Células ganglionares não encontradas. Células estreladas não visualizadas e provavelmente obscurecidas pelos filamentos densos.

Estruturas Reprodutivas: Tetrasporângios cruciados-decussados, imersos no Região cortical da região mediana, com 26-30 µm de altura e 10-14 µm de largura. Gametófitos femininos e masculinos não observados.

Material Examinado:

Brasil, Espírito Santo, Marataízes, Praia da Cruz, tetrasporófito, 07 de maio de 2012, B. Torrano-Silva, C. Iha, F. Nauer e M.C. Oliveira (SPF 57799/IBC 2038). Marataízes, Praia da Cruz, 10 de setembro de 2014, T. Vieira-Pinto (IBC 2211). **São Paulo,** São Vicente, Prainha da Ponte Pênsil, infértil, 21 de março de 2011, E.C. Oliveira (SPF 57821/IBC 2012). Itanhaém, Praia de Cibratel, 20 de julho de 2013, B. Torrano-Silva, B. Vieira e W. Oliveira (IBC 2057). Peruíbe, Praia de Guaraú, 05 de maio de 2015, C.A.A. Azevedo e M. Mungoli (IBC 2235). **Paraná,** Ilha do Mel, 12 de julho de 2014, V. Cassano (IBC 2208).

Comentários:

A espécie *Grateloupia dichotoma* foi recentemente sinonimizada com *Dermocorynus dichotomus* (J.Agardh) Gargiulo, M.Morabito & Manghisi (Gargiulo *et al.* 2013). *G. dichotoma* foi citada para o Brasil para os estados do Ceará, Espírito Santo, São Paulo e Santa Catarina (Guimarães 1990; Soares 2015). De acordo com nosso conhecimento, este estudo é a primeira citação do táxon para o litoral do Paraná.

Na árvore de *rbcL*, amostras de *Grateloupia* cf. *dichotoma* não se agrupam com a sequência de *Dermocorynus dichotomus* coletado na localidade-tipo (Figura 4). Além disso, as amostras aparecem inseridas no clado que contém *Grateloupia filicina*, a espécie-tipo do gênero *Grateloupia* (Figuras 4 e 5). Por essa razão, essa entidade é tratada como *Grateloupa* cf. *dichotoma* neste estudo. Os resultados obtidos aqui demonstram que os registros brasileiros de *Grateloupia dichotoma* não correspondem ao autêntico

Dermocorynus dichotomus, nome atualmente válido, e sugerem ainda que essas algas constituem uma espécie do gênero *Grateloupia*, possivelmente nova para a ciência.

O material encontrado aqui difere de *Grateloupia dichotoma* identificada por Cordeiro-Marino (1978) para Santa Catarina por apresentar ramificação irregular, a qual é dicotômica no material catarinense. Além disso, Guimarães (1990) descreve margens lisas, enquanto que neste estudo foram encontradas margens levemente denteadas. Guimarães (1990) cita ainda duas camadas na região cortical na região mediana, enquanto que neste estudo foram observadas 3-4 camadas.

Figura 31. *Grateloupia* cf. *dichotoma*. Anatomia vegetativa e reprodutiva.

- (a, b) Aspecto geral. Barras de escala: 1 cm (SPF 57821/IBC 2012);
- (c, d) Corte transversal na região apical do talo. Barras de escala: 50 μm (SPF 57821/IBC 2012; IBC 2038);
- (e) Corte transversal na região mediana do talo. Barra de escala: 50 μm (IBC 2038);
- (f) Corte transversal na região basal do talo. Barra de escala: 50 μm (IBC 2038);
- (g) Corte transversal na região mediana do talo mostrando tetrasporângios. Barra de escala: 50 μm (IBC 2038).

Complexo *Grateloupia* cf. *filicina* (J.V.Lamouroux) C.Agardh

Do Latim *filix*: filho. Provavelmente em referência à semelhança com plantas vasculares da Classe Filicinae, tais como fetos e avencas.

Localidade-tipo: Trieste, Itália.

Neste estudo, considera-se como *Grateloupia* cf. *filicina* algas de eixos principais achatados, com ramos cilíndrico-comprimidos, conforme adotado por Guimarães (1990). Apesar de ser uma espécie amplamente citada para a costa brasileira, os dados moleculares mostram que nenhum dos espécimes coletados até o momento corresponde à autêntica *Grateloupia filicina*, cuja localidade-tipo é a Itália, e, ainda, sugerem que existem duas linhagens distintas com a mesma morfologia geral. Uma das linhagens está representada na filogenia inferida a partir do marcador *rbcL* (Figura 4) pela sequência “IBC 2079 *Grateloupia* cf. *filicina* BA”, e apresenta maior afinidade com *Grateloupia* cf. *dichotoma*. A outra linhagem, por sua vez, inclui representantes coletados nos estados de São Paulo e Rio de Janeiro, e é próxima de *Grateloupia filiformis* e *G. orientalis*. A correta identificação desses dois táxons requer a realização de mais observações morfológicas.

Grateloupia cf. filicina 1

Figs 32 e 33

Aspecto Geral: Talo mucilaginoso, porém firme. Frondes de até 13 cm de altura, cilíndricas na base e achatadas na região mediana, porção em que alcançam até 3 mm de largura. Ápices afilados. Talo abundantemente ramificado irregularmente, com várias ramificações pinadas e algumas alternadas. Ramos laterais constrictos na base e de ápices afilados, também ramificados pinadamente. Foram observadas proliferações

Figura 32. Aspecto geral. Barra de escala: 1 cm.

marginais e superficiais, de aspecto dentado, visíveis apenas sob estereoscópio. Nervura ausente. Estipe não diferenciado. Apressório discóide, com 1 mm de diâmetro.

Região Apical: Talo com 110-125 μm de espessura. Região cortical composta por uma camada de células cujo formato não estava claro em corte transversal, porém, em visão superficial correspondem a células elipsoides, de 5-8 μm de altura e 3-4 μm de largura. Região subcortical constituída por 2-3 células arredondadas e levemente alongadas, com 6-9 μm de diâmetro. Região medular frouxa, com aparência de vazia, com poucos filamentos irregulares de 2-4 μm de diâmetro. Células ganglionares e estreladas não foram observadas.

Região Mediana: Talo com 580-740 μm de espessura. Região cortical composta por 4-5 camadas de células elipsoides dispostas de forma moniliforme, de 5-12,5 μm de altura e 2,5-5 μm de largura. Região subcortical constituída por 2-3 camadas de células arredondadas, de 17,5-27,5 μm de diâmetro. Região medular preenchida por filamentos irregulares, de 2-4 μm de diâmetro. Filamentos densos com disposição longitudinal observados próximo à região subcortical. Células ganglionares não observadas. Células estreladas não encontradas, porém provavelmente obscurecidas pelos densos filamentos medulares.

Região Basal: Talo com 1020-1150 μm de espessura. Região cortical composta por 5-6 camadas de células elipsoides, de 5-10 μm de altura e 2,5-5 μm de largura. Região

subcortical constituída por 2-3 camadas de células arredondadas, de 10-15 μm de diâmetro. Região medular bastante densa, preenchida por filamentos entrelaçados de 5-7,5 μm de diâmetro. Células ganglionares não observadas. Células estreladas não encontradas, porém, provavelmente obscurecidas pelos densos filamentos medulares.

Estruturas Reprodutivas: Não observadas.

Material examinado:

Brasil, Bahia, Lauro de Freitas, Praia de Vilas do Atlântico, infértil, 15 de outubro de 2012, V. Cassano (SPF 57786/IBC 2079). **Rio de Janeiro**, Armação dos Búzios, Praia Rasa, 17 de março de 2014, C.A.A. Azevedo, V. Cassano e M. Mungioli (IBC 2201).

Figura 33. *Grateloupia* cf. *filicina* 1. Anatomia vegetativa. Todas as imagens são de SPF 57786/IBC 2079.

- (a) Aspecto geral. Barra de escala: 1 cm;
- (b) Detalhe da região apical mostrando ramificação pinada. Barra de escala: 1 mm;
- (c) Detalhe da região apical mostrando constrição na base dos ramos (seta) e proliferações marginais denteadas (ponta de seta). Barra de escala: 0,5 mm;
- (d) Detalhe da região distal mostrando proliferações superficiais (setas). Barra de escala: 0,5 mm;
- (e) Corte transversal na região apical do talo. Barra de escala: 50 μ m;
- (f) Corte transversal na região mediana do talo. Barra de escala: 300 μ m;
- (g) Corte transversal na região mediana do talo. Barra de escala: 50 μ m;
- (h) Corte transversal na região basal do talo Barra de escala: 50 μ m.

Grateloupia cf. filicina 2 (J.V.Lamouroux) C.Agardh

Figs 34 e 35

Aspecto Geral: Talo mucilaginoso, porém firme, cilíndrico na base e achatado na região mediana, com ápices afilados. Planta com 2 cm de altura e 1 mm de largura na região mediana. Ramificação dicotômica na base e pinada na porção superior do talo. Ramos laterais com até 3 mm de comprimento, não constrictos na base. Nervura ausente. Estipe não diferenciado. Apressório discoide com 0,5 mm de diâmetro.

Figura 34. Aspecto geral. Barra de escala: 0,5 mm.

Região Apical: Talo com 112,5 μm de espessura. Região cortical composta por uma camada de células retangulares, com 5-9 μm de altura e 3-4 μm de largura. Região subcortical com 3-4 camadas de células esféricas, de 4-8 μm de diâmetro. Região medular com aparência de vazia, de maneira que não foram visualizados os filamentos medulares. Células ganglionares e estreladas não observadas.

Região Mediana: Talo com espessura de 135-152,5 μm . Região cortical composta por 2-3 camadas de células quadráticas, de 3-4 μm de altura e 2-3 μm de largura. Região subcortical constituída por 3-4 camadas de células esféricas ou alongadas, de 4-16 μm de diâmetro, que aumentam progressivamente de tamanho a partir da região cortical em direção à região medular. Região medular densa, completamente preenchida por filamentos entrelaçados de 3-4 μm de diâmetro. Células ganglionares e estreladas não observadas.

Região Basal: Talo com 260-290 μm de espessura. Região cortical espessada, com aproximadamente 10 camadas de células retangulares ou quadráticas, com 3-4 μm de altura e 2-3 μm de largura. Região subcortical constituída por 2-3 camadas de células esféricas ou alongadas, de 6-8 μm de diâmetro. Região medular bastante densa, completamente preenchida por filamentos entrelaçados de 4-5 μm de diâmetro. Alguns filamentos são longitudinais. Células ganglionares e estreladas não observadas.

Estruturas Reprodutivas: Não observadas.

Material examinado:

Brasil, Rio de Janeiro, Armação dos Búzios, Praia da Ferradura, infértil, 25 de setembro de 2011, C. Iha, B. Torrano-Silva e F. Nauer (SPF 57781/IBC 0506). **São Paulo**, Ubatuba, Praia Domingas Dias, infértil, 04 de setembro de 2009, M. T. Fujii (IBT 0228).

Comentários:

Grateloupia cf. *filicina* 1 e *Grateloupia* cf. *filicina* 2 são muito semelhantes tanto em relação à morfologia externa, quanto à anatomia interna, sendo que na região mediana de *Grateloupia* cf. *filicina* 1 são observados filamentos densos de disposição longitudinal, localizados entre a região subcortical e a região medular. Esses filamentos não estão presentes em *Grateloupia* cf. *filicina* 2.

Figura 35. *Grateloupia* cf. *filicina* 2. Anatomia vegetativa. Todas as imagens são de SPF 57781/IBC 0506.

- (a) Aspecto geral. Barra de escala: 0,5 cm;
- (b) Detalhe da região mediana mostrando ramificação pinada. Barra de escala: 0,5 mm;
- (c) Detalhe mostrando ramos laterais não constrictos na base. Barra de escala: 0,2 mm;
- (d) Corte transversal na região apical do talo. Barra de escala: 50 µm;
- (e) Corte transversal na região mediana do talo. Barra de escala: 50 µm;
- (f) Corte transversal na região basal do talo. Barra de escala: 50 µm.

Grateloupia filiformis Kützinger

Figs 36 e 37

Do latim *fili*: fio + *formus*: forma.

Localidade-tipo: Peru.

Aspecto Geral: Talo cilíndrico na base e na região mediana e achatado nos ápices, com até 10 cm de altura e 2 mm de largura. Ramificação irregular. Ápices afilados. Eixos com ramificação pinada ou unilateral. Râmulos laterais longos (com até 1,5 cm de comprimento), e de ápices afilados, sendo alguns levemente constrictos na base e outros não. Proliferações superficiais presentes. Nervura ausente. Estipe indiferenciado. Apressório discoide, com 2 mm de diâmetro.

Figura 36. Aspecto geral. Barra de escala: 2 cm.

Região Apical: Talo com 38-44 μm de espessura. Região cortical composta por uma camada de células retangulares de 6-9 μm de altura e 4-5 μm de largura. Região subcortical constituída por 1-2 camadas de células arredondadas de 5-7 μm de diâmetro. Região medular bastante frouxa, com filamentos irregulares de 2-4 μm de diâmetro. Células ganglionares ausentes. Células estreladas com 12 μm de largura.

Região Mediana: Talo com 300 μm de espessura. Região cortical constituída por uma camada de células quadráticas ou retangulares, de 6-8 μm de altura e 2-5 μm de largura. Região subcortical composta por 3-4 camadas de células arredondadas ou alongadas, de 3-10 μm de diâmetro. Região medular frouxa, com filamentos irregulares de 3-5 μm de diâmetro. Células ganglionares ausentes. Células estreladas com 10-17 μm de largura.

Região Basal: Talo com 370-690 μm de espessura. Região cortical composta por 3-7 camadas de células quadráticas ou retangulares de 3-7,5 μm de altura e 2-6 μm de largura. Região subcortical constituída por três camadas de células arredondadas de 4-15

µm de diâmetro. Região medular frouxa, com muitos filamentos irregulares de 2-4 µm de diâmetro. Células ganglionares ausentes. Células estreladas com 11-13 µm de largura.

Estruturas Reprodutivas: Tetrasporângios imersos na região cortical de ramos laterais, cruciado-decussados, com 25-27,5 µm de altura e 12,5-17,5 µm de diâmetro. Tetrasporócitos observados. Gametófitos femininos e masculinos não observados.

Material Examinado:

Brasil, Alagoas, Jarapatinga, Praia de Jarapatinga, 22 de novembro de 2014, V. Cassano (IBC 2213). **Bahia,** Itacaré, Praia do Pedrão, infértil, 02 de agosto de 2012, V. Cassano (SPF 57798/IBC 2060). Ilhéus, Praia do Morro de Pernambuco, 13 de maio de 2014, J. Pires, A.S. Santos e B. Torrano-Silva (IBC 2616). **Espírito Santo,** Aracruz, Praia dos Padres, infértil, 14 de novembro de 2012, M.T. Fujii (SPF 57789/IBC 2080). **São Paulo,** Ubatuba, Praia Vermelha, tetrasporófito, 17 de outubro de 2013, M.C. Oliveira e E.C. Oliveira (IBC 2193).

Comentários:

Na filogenia inferida a partir do gene *rbcL* (Figura 4), espécimes de *G. filiformis* aparecem como uma linhagem-irmã de *Grateloupia orientalis*. Não foi possível comparar com sequências de *G. filiformis* da localidade-tipo, devido à inexistência das últimas.

O aspecto morfológico geral (Figura 37, a) está de acordo com o descrito para o táxon tratado por Guimarães (1990) como *Grateloupia* sp. e posteriormente reconhecido como *G. filiformis* por Yokoya *et al.* (1993). A espécie já foi previamente citada para os estados do Maranhão, Ceará, Espírito Santo, São Paulo e Santa Catarina (Guimarães 1990; Soares 2015). Neste estudo, a espécie foi encontrada nos estados de Alagoas, Bahia, Espírito Santo e São Paulo. De acordo com nosso conhecimento, este estudo constitui a primeira citação da espécie para o estado da Bahia.

Diversos autores trataram exemplares de eixos achatados e cilíndricos como variações morfológicas de *Grateloupia filicina* (Joly 1957; Joly 1964; Cordeiro-Marino 1978; Ferreira-Correia 1983; Nunes 2005). No entanto, suspeita-se que as plantas de talo cilíndrico correspondam a *G. filiformis*. É necessária uma extensa revisão do material depositado nos herbários para correção de possíveis identificações equivocadas.

Em relação à anatomia interna, a região mediana de *G. filiformis* apresenta região cortical com uma camada de células retangulares ou quadráticas e região subcortical com 3-4 camadas de células arredondadas, enquanto que em *Grateloupia* cf. *filicina* 1, a região cortical é composta por 4-5 camadas de células elipsoides, e a subcortical por 2-3 camadas de células arredondadas. Além disso, a região medular de *G. filiformis* na região mediana é frouxa e apresenta poucos filamentos irregulares, enquanto que em *Grateloupia* cf. *filicina* 2, a região medular é bastante densa e completamente preenchida por filamentos entrelaçados.

Figura 37. *Grateloupia filiformis*. Anatomia vegetativa.

- (a) Aspecto geral. Barra de escala: 2 cm (IBC 2193);
- (b) Corte transversal na região apical do talo. Barra de escala: 50 µm (SPF 57789; IBC 2080);
- (c) Corte transversal na região mediana do talo. Barra de escala: 50 µm (SPF 57789; IBC 2080);
- (d) Corte transversal na região basal do talo. Barra de escala: 50 µm (SPF 57798; IBC 2060).

***“Grateloupia” gibbesii* Harvey**

Figs 38 e 39

***gibbesii*: em homenagem ao coletor americano Lewis R. Gibbes.**

Localidade-tipo: Estados Unidos da América, Carolina do Sul.

Aspecto Geral: Talo de cor verde escura, mucilaginoso, consistência firme e em forma de fitas lanceoladas, com até 8 cm de altura. Ramificação irregular e abundante. Base cuneada, com fitas mais largas até a região mediana, na qual atingem 0,8 cm de largura, e mais estreitas em direção ao ápice, com ápice afilado. Frondes levemente retorcidas. Numerosas proliferações superficiais, marginais e apicais.

Figura 38. Aspecto geral. Barra de escala: 1 cm.

Nervura ausente. Em alguns espécimes, a região proximal é mais escura e mais rígida que o restante do talo. Estipe comprimido, com 1-4 mm de comprimento e 1 mm de largura. Apressório discoide, com 1-2 mm de diâmetro.

Região Apical: Talo com espessura de 80-157,5 μm . Região cortical composta por 1-2 camadas de células retangulares, elipsoides ou ovóides, com 5-10 μm de altura e 3-5 μm de largura. Região subcortical constituída por 2-4 camadas de células arredondadas, com 4-12 μm de diâmetro. Região medular frouxa, preenchida por filamentos irregulares, com 1-3 μm de diâmetro. Células ganglionares não foram observadas. Células estreladas expandidas, poligonais, conectando células da região subcortical e filamentos medulares e também entre filamentos medulares, com 10-19 μm de largura.

Região Mediana: Talo com espessura de 175-237,5 μm . Região cortical composta por 2-4 camadas moniliformes de células elipsoides ou ovóides, com 4-8 μm de altura e 3-4 μm de largura. Região subcortical constituída por 3-4 camadas de células arredondadas, poligonais ou expandidas, com 3-10 μm de diâmetro. Região medular mais densa que na

região apical, composta por numerosos filamentos irregulares e entrelaçados, de 2-3 μm de diâmetro. Células ganglionares não observadas. Células estreladas com 9-18 μm de diâmetro, conectando células da região subcortical e filamentos medulares.

Região Basal: Talo com 270-340 μm de espessura. Corticação secundária presente em alguns espécimes. Região cortical com aproximadamente 20 camadas de células quadráticas, com 3-5 μm de altura e 2-4 μm de largura. Região subcortical constituída por 2-4 camadas de células arredondadas, 5-9 μm de diâmetro. Região medular muito densa, completamente preenchida com numerosos filamentos irregulares, entrelaçados e semelhantes a rizines, de 2-5 μm de diâmetro. Células ganglionares não observadas. Células estreladas presentes, com 10-13 μm de diâmetro.

Estruturas Reprodutivas: Cistocarpos abundantes na região mediana, imersos na região medular, mas que causam uma leve protuberância no talo em virtude de seu grande tamanho. Cistocarpos maduros com 67,5-197,5 μm de diâmetro, constituídos por 1 ou 2 gonimolobos. Pericarpo com 210 μm de diâmetro. Carposporângios arredondados ou de formato poligonal, com 4-11 μm de diâmetro. Célula de fusão com 11-22,5 μm de diâmetro. Ampolas da célula auxiliar abundantes na região mediana, constituídas por célula auxiliar intercalar (9-15 μm de altura e 5-9 μm de largura) e 2-3 filamentos ampolares com aproximadamente 8 células. O filamento primário é ramificado apenas uma vez. Espermatângios visualizados na região mediana do talo, de formato elipsoide ou ovoide, com 2-3 μm de diâmetro. Células-mães de espermatângios divididas obliquamente ou transversalmente. Tetrasporófitos não observados.

Material examinado:

Brasil, Espírito Santo, Itapemirim, Praia de Itaoca, gametófito feminino, 06 de maio de 2012, B. Torrano-Silva, C. Iha e F. Nauer (IBC 2032). Guarapari, Praia dos Namorados, gametófito feminino, 08 de maio de 2012, B. Torrano-Silva, C. Iha, F. Nauer, M.C. Oliveira (SPF 57803/IBC 2040). Maratáizes, Praia da Cruz, 10 de setembro de 2014, T. Vieira-Pinto (IBC 2212). Guarapari, Praia de Areia Preta, 05 de abril de 2012, B. Torrano-Silva e C.E. Amâncio (IBC 2014). **Rio de Janeiro,** Armação dos Búzios, Praia Rasa, gametófito feminino, 17 de março de 2014, C.A.A. Azevedo, V. Cassano, M. Mungoli, J.C. De Paula, E. Lopes Filho (IBC 2202). Armação dos Búzios, Praia da Foca,

09 de março de 2015, C.A.A. Azevedo, V. Cassano e M. Mungioli (IBC 2223). Armação dos Búzios, Ponta da Lagoinha, 05 de maio de 2012, V. Cassano (IBC 2029; IBC 2030). **São Paulo**, São Vicente, Prainha da Ponte Pênsil, 21 de março de 2011, E.C. Oliveira (IBC 2011). **Santa Catarina**, Florianópolis, Prainha, 17 de outubro de 2011, E.C. Oliveira e M.C. Oliveira (IBC 2000; IBC 2001).

Comentários:

Diversos indivíduos tratados aqui como *Grateloupia gibbesii* foram coletados no litoral do Brasil, nos estados do Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina. Na árvore de *rbcL* (Figura 4), essas amostras agruparam com a sequência de *Grateloupia gibbesii* coletada na localidade-tipo da espécie (Carolina do Sul, Estados Unidos), e formaram um clado com 98% de suporte. As amostras IBC 2030, IBC 2223, IBC 2226 e IBC 2228 divergiram apenas 0,2-0,4% em relação à sequência de *G. gibbesii* proveniente da Carolina do Sul (Tabela 10). No entanto, IBC 2001 divergiu 1,7-1,9% do grupo formado por IBC 2030, IBC 2223, IBC 2226 e IBC 2228. IBC 2014, por sua vez, divergiu em 2,8% em relação a IBC 2001, e em 1,4-1,6% em relação às demais amostras. Em relação ao marcador UPA, apenas a amostra IBC 2014 divergiu das demais, em 0,3%, isto é, apenas os marcadores plastidiais indicaram uma divergência entre essa amostra e as demais. Todas as sequências de COI-5P desses indivíduos pertenceram a um único clado.

Tabela 10. Valores de divergência (%) de *rbcL* para amostras de *Grateloupia gibbesii*.

	<i>G. gibbesii</i> *	IBC 2001	IBC 2014	IBC 2030	IBC 2223	IBC 2226	IBC 2228
<i>G. gibbesii</i> *							
IBC 2001	1,9						
IBC 2014	1,5	2,8					
IBC 2030	0,2	1,7	1,4				
IBC 2223	0,2	1,7	1,4	0			
IBC 2226	0,2	1,7	1,5	0,1	0,1		
IBC 2228	0,4	1,9	1,6	0,2	0,2	0,2	

*Corresponde à sequência “*Grateloupia gibbesii* JX645160 EUA-Carolina do Sul”.

Esse táxon foi registrado diversas vezes no Brasil sob os nomes de *Grateloupia doryphra* (Montagne) M.A.Howe (Guimarães, 1990) e *Grateloupia cuneifolia* J.Agardh ex

Kützinger (Cordeiro-Marino, 1978). O material analisado aqui concorda com *G. doryphora* de Guimarães (1990). Os espécimes do estado de Santa Catarina identificado por Cordeiro-Marino (1978) como *Grateloupia cuneifolia* diferem do material encontrado neste estudo apenas por apresentar estipe cilíndrico e ramificação ausente. Os demais aspectos estão de acordo.

Alguns autores sugeriram que as espécies *Grateloupia cuneifolia*, *Grateloupia gibbesii*, *G. schizophylla* Kützinger, *G. californica* Kylin, *G. lanceola* (J.Agardh) J.Agardh e *G. doryphora* correspondem a um mesmo táxon, sendo *G. cuneifolia* o nome prioritário (Howe 1914; Ardré & Gayral 1961; Dawson *et al.* 1964; De Masi & Gargiulo 1982). As localidades-tipo dessas espécies são, respectivamente, Venezuela, EUA-Carolina do Sul, Chile, EUA-Califórnia, Espanha e Peru. Entre essas, não existem sequências de COI-5P ou *rbcL* disponíveis de *G. cuneifolia* e *G. lanceola*. Em relação às demais, o material aqui encontrado coincide molecularmente com *Grateloupia gibbesii*, mas é distinto de *G. schizophylla*, *G. californica* e *G. doryphora*.

Sendo assim, opta-se por comparar o material brasileiro apenas com *G. cuneifolia* e *G. gibbesii*, que são espécies cuja localidade-tipo é o Atlântico Ocidental. A descrição original de *G. cuneifolia* diz que a espécie possui estipe comprimido-cuneado, ramificação palmada abundante, frondes alongadas fendidas com base geralmente constricta, margens adultas com proliferações diminutas semelhantes a cílios e ápices lobados (Kützinger 1849). A partir da descrição original de *G. gibbesii*, não é possível apontar nenhuma característica sólida que a separe de *G. cuneifolia* (Harvey 1853). Harvey (1853) incluiu as duas entidades em sua obra como táxons distintos, mas não fez uma comparação entre elas, e, ainda, ressaltou que a *G. gibbesii* exibe frondes de morfologia muito variada. Taylor (1960) mencionou que *G. gibbesii* poderia ser uma variante morfológica de *G. cuneifolia*. Pela morfologia externa, os indivíduos coletados no Brasil poderiam corresponder tanto a *G. cuneifolia* quanto a *G. gibbesii*.

Considerando que a sequência da entidade brasileira agrupa com *Grateloupia gibbesii* da Carolina do Sul, é bastante provável que *G. cuneifolia* da Venezuela seja a mesma espécie. No entanto, devido à ausência de sequências de *G. cuneifolia* coletada na localidade-tipo, não é possível inferir coespecificidade entre essas três entidades. Opta-se, portanto, por tratar o táxon brasileiro como *Grateloupia gibbesii* até que sequências de *G.*

cuneifolia estejam disponíveis. Caso *G. gibbesii* seja de fato uma variante morfológica de *G. cuneifolia*, as duas deverão ser sinonimizadas, prevalecendo o nome mais antigo *G. cuneifolia*.

Figura 39. "*Grateloupia*" *gibbesii*. Anatomia vegetativa e riproduttiva.

- (a) Aspecto geral. Barra de escala: 1 cm (IBC 2032);
- (b) Corte transversal na região apical do talo. Barra de escala: 50 μ m (IBC 2032);
- (c) Detalhe do corte transversal na região apical do talo. Barra de escala: 50 μ m (IBC 2202);
- (d) Corte transversal na região mediana do talo. Barra de escala: 50 μ m (IBC 2040);
- (e) Corte transversal na região basal do talo. Barra de escala: 50 μ m (IBC 2040);
- (f) Corte transversal na região mediana do talo mostrando ampola da célula auxiliar em visão longitudinal. Seta e ponta de seta indicam, respectivamente, célula auxiliar e filamento ampolar. Barra de escala: 50 μ m (IBC 2202);
- (g) Corte transversal na região mediana do talo mostrando carposporófito em desenvolvimento, em visão longitudinal. Seta indica célula auxiliar após a fusão com o núcleo diploide e ponta de seta indica gonimoblastos. Barra de escala: 50 μ m (IBC 2032);
- (h) Corte transversal na região mediana do talo mostrando carposporófito em desenvolvimento. Seta indica célula auxiliar após fusão com o núcleo diploide, ponta de seta aponta para a inicial dos gonimoblastos e seta dupla indica carposporângios. Barra de escala: 50 μ m (IBC 2040);
- (i) Corte transversal na região mediana do talo mostrando células-mãe de espermatângios cortadas obliquamente (seta) e espermatângios (ponta de seta). Barra de escala: 50 μ m (IBC 2202);
- (j) Corte transversal na região mediana do talo mostrando espermatângios (setas). Barra de escala: 50 μ m (IBC 2202).

Grateloupia orientalis S.M.Lin & H.Y.Liang

Figs 40 e 41

***orientalis*:** indica a localidade geográfica onde a espécie foi encontrada, na Ásia oriental.

Localidade-tipo: Taiwan.

Aspecto Geral: Talo de cor vermelha escura ou marrom, mucilaginoso e delicado. Talo comprimido, de ápices afilados. Alguns exemplares apresentam ramificação pinada, outros, ramificação escassa e irregular. Râmulos laterais abundantes em alguns espécimes ou ausentes em outros. Frondes de até 9 cm de altura e 1 mm de largura. Nervura ausente. Estipe cilíndrico, de 1 mm de comprimento e 0,5 mm de diâmetro. Apressório discoide, de 1 mm de diâmetro.

Figura 40. Aspecto geral. Barra de escala: 1 cm.

Região Apical: Talo com 150-160 μm de espessura. Região cortical composta por 3 camadas de células quadráticas moniliformes, de 4-5 μm de altura e 3-4 μm de largura. Região subcortical constituída por 1-2 camadas de células arredondadas ou poligonais, de 5-7 μm de diâmetro. Região medular com filamentos irregulares de 1-2 μm de diâmetro. Células ganglionares e estreladas não observadas.

Região Mediana: Talo com 300-320 μm de espessura. Região cortical composta por 4-5 camadas de células quadráticas moniliformes, de 4-5 μm de altura e 3-4 μm de largura. Região subcortical constituída por 2-3 camadas de células arredondadas ou poligonais, de 5-7 μm de diâmetro. Região medular preenchida por filamentos irregulares de 1-2 μm de diâmetro. Células ganglionares não encontradas. Células estreladas presentes.

Região Basal: Talo com 235-270 μm de espessura. Região cortical bastante espessa, com aproximadamente 8 camadas de células quadráticas, de 5-6 μm de altura e 4-5 μm de largura. Região subcortical com 2-3 camadas de células poligonais, de 5-6 μm de

diâmetro. Região medular bastante densa, com abundantes filamentos longitudinais com aspecto de rizines, de 1-2 µm de diâmetro. Células ganglionares não observadas. Células estreladas presentes, mas obscurecidas pelos densos filamentos.

Estruturas Reprodutivas: Ampola da célula auxiliar composta por três filamentos não ramificados, com aproximadamente 7-9 células. Cistocarpo completamente imerso no talo, com 1-2 gonimolobos. Gonimoblasto com 87,5-112,5 µm de diâmetro. Cistocarpos com 102,5-142,5 µm de diâmetro. Gametófitos masculinos e tetrasporófitos não observados.

Material examinado:

Brasil, São Paulo, São Vicente, Prainha da Ponte Pênsil, gametófito feminino, 21 de março de 2011, E.C. Oliveira (SPF 57822; IBC 2009). São Paulo, São Vicente, Prainha da Ponte Pênsil, infértil, 21 de março de 2011, E.C. Oliveira (SPF 57807; IBC 2010). São Vicente, Ilha Porchat, gametófito feminino, 21 de março de 2011, E.C. Oliveira (SPF 57806; IBC 2013). Ubatuba, Praia do Lázaro, 17 de maio de 2015, C.A.A. Azevedo (IBC 2248).

Comentários:

Indivíduos de *G. orientalis* formam um agrupamento de elevado suporte (100) na árvore gerada com dados de COI-5P (Figura 3). A sequência de *rbcL* representante desse grupo tem 99,9% de identidade em relação à sequência de material da localidade-tipo de *G. orientalis*. Morfologicamente, tanto as características vegetativas quanto as reprodutivas estão de acordo com a descrição original da espécie (Lin *et al.* 2008).

Neste estudo, esse táxon foi encontrado no ano de 2011 em duas praias no município de São Vicente, e em 2015, em uma praia de Ubatuba, no litoral de São Paulo. De acordo com o nosso conhecimento, esta é a primeira vez que *G. orientalis* é registrada fora de sua localidade-tipo. Não se sabe se a espécie é uma potencial invasora, uma vez que não foram encontrados tais registros na literatura.

Figura 41. *Grateloupia orientalis*. Anatomia vegetativa e reprodutiva.

- (a) Aspecto geral mostrando talo com ramificação escassa. Barra de escala: 1 cm (SPF 57822/IBC 2009);
- (b) Aspecto geral mostrando talo com ramificação pinada. Barra de escala: 1 cm (SPF 57806/IBC 2013);
- (c) Corte transversal na região apical do talo. Setas indicam células da região subcortical. Barra de escala: 50 μm (SPF 57806/IBC 2013);
- (d) Corte transversal na região mediana do talo. Seta indica a região cortical. Barra de escala: 50 μm (SPF 57806/IBC 2013);
- (e) Detalhe do corte transversal na região mediana do talo. Seta indica célula estrelada. Barra de escala: 50 μm (SPF 57806/IBC 2013);

- (f) Corte transversal na região basal do talo. Seta indica filamento medular. Barra de escala: 50 μm (SPF 57822/IBC 2009);
- (g) Corte transversal na região mediana do talo mostrando ampola da célula auxiliar composta por 2-3 filamentos ampolares não ramificados (seta). Barra de escala: 50 μm (SPF 57822/IBC 2009);
- (h) Corte transversal na região mediana do talo mostrando cistocarpo em desenvolvimento. A seta indica o gonimoblasto e a ponta de seta indica os filamentos do pericarpo. Barra de escala: 50 μm (SPF 57822/IBC 2009).

Grateloupia turuturu

Esse táxon é tratado no anexo IV, que corresponde ao artigo intitulado “Detecting the non-native *Grateloupia turuturu* (Halymeniales, Rhodophyta) in southern Brazil”, submetido ao periódico *Phycologia*.

Grateloupia yangjiangensis W.-X. Li & Z.-F. Ding

Figs 42 e 43

Em referência à localidade-tipo Yangjiang, China.

Localidade-tipo: Zhapo, Yangjiang, Guangdong, China.

Aspecto Geral: Talo firme, cartilaginoso, cilíndrico nas regiões basal e apical e achatado na região mediana, com até 2 cm de altura e 2 mm de largura. Ramificação predominantemente pinada, mas com algumas ramificações unilaterais e alternadas. Ápices em sua maioria afilados, e alguns bifurcados. Râmulos laterais não constrictos na base, ou com raras constrictões discretas. Proliferações superficiais de aspecto espinescente. Nervura ausente. Estipe indiferenciado. Apressório discoide, com aproximadamente 0,5 mm de diâmetro.

Figura 42. Aspecto geral. Barra de escala: 1 cm.

Região Apical: Talo com 150-205 μm de espessura. Região cortical composta por uma camada de células retangulares ou quadráticas, de 2,5-7,5 μm de altura e 2,5-7,5 μm de largura. Região subcortical constituída por 1-2 camadas de células esféricas e periclinamente alongadas, de 2,5-5 μm de diâmetro. Região medular com aparência de vazia, com poucos filamentos dispostos irregularmente, de 2,5 μm de diâmetro. Células ganglionares ausentes. Células estreladas de formato poligonal, com 10-12,5 μm de largura.

Região Mediana: Talo com espessura de 420-550 μm . Região cortical com 3-4 camadas moniliformes de células elipsoides, de 5-7,5 μm de altura e 2,5 μm de largura. Região subcortical composta por 2-3 camadas de células esféricas de 5-7,5 μm de diâmetro. Região medular densa, com filamentos entrelaçados de 2,5-5 μm de diâmetro. Células ganglionares ausentes. Células estreladas de formato poligonal, com 12,5-15 μm de largura.

Região Basal: Talo com 540-560 μm de espessura. Região cortical com 6-7 camadas moniliformes de células elipsoides, de 5-7,5 μm de altura e 2,5-5 μm de largura. Região subcortical com 3-4 camadas de células esféricas de 5-7,5 μm de diâmetro. Região medular mais densa que na região mediana, com filamentos entrelaçados de 5-7,5 μm de diâmetro. Células ganglionares ausentes. Células estreladas de formato poligonal, com 20-22,5 μm de largura.

Estruturas Reprodutivas: Não observadas.

Material Examinado:

Brasil, São Paulo, Ubatuba, Praia do Lázaro, 17 de maio de 2015, C.A.A. Azevedo (IBC 2246; IBC 2247 e IBC 2249).

Comentários:

Segundo Wang *et al.* (2014), *G. yangjiangensis* possui região cortical composta por 5-8 camadas de células e região subcortical com 2-3 camadas células. No entanto, os autores não mencionam em que região do talo as medições foram feitas. Essa espécie se assemelha muito, no aspecto geral, a *Grateloupia filiformis* que ocorre no Brasil. Em relação à anatomia interna, as duas espécies diferem apenas na estrutura da região mediana do talo, a qual é densa em *G. yangjiangensis* e frouxa em *G. filiformis*. Além disso, em *G. filiformis*, a região cortical possui uma camada de células e o interno apresenta 3-4 camadas, enquanto que em *G. yangjiangensis*, a região cortical é composta por 3-4 e o interno por 1-2 camadas de células.

Foi observada uma grande semelhança na morfologia externa de *G. yangjiangensis*, *G. filiformis*, *G. orientalis*, *Grateloupia cf. filicina* 1 e *Grateloupia cf. filicina* 2, as quais compreendem indivíduos de talo cilíndrico ou levemente achatado, com ramificação pinada ou alternada e ápices afilados, de maneira que não é possível distinguir essas espécies observando apenas o aspecto geral. Algumas diferenças na anatomia interna foram observadas e discutidas nas seções anteriores.

De acordo com nosso conhecimento, essa é a primeira vez que *G. yangjiangensis* é registrada fora de sua localidade-tipo (China). Não se sabe se a espécie é uma potencial invasora, uma vez que não foram encontrados tais registros na literatura.

Figura 43. *Grateloupia yangjiangensis*. Anatomia vegetativa. Todas as imagens são de IBC 2247.

- (a) Aspecto geral. Barra de escala: 1 cm;
- (b) Detalhe de ápice bifurcado. Barra de escala: 0,5 mm;
- (c) Detalhe mostrando ramificação unilateral. Barra de escala: 1 mm;
- (d) Detalhe mostrando proliferação superficial (seta). Barra de escala: 0,5 mm;
- (e) Corte transversal na região apical do talo. Seta e ponta de seta indicam célula da região cortical e subcortical, respectivamente. Barra de escala: 50 µm;
- (f) Corte transversal na região mediana do talo. Barra de escala: 300 µm;
- (g) Detalhe do corte transversal na região mediana. Barra de escala: 50 µm;
- (h) Corte transversal na região basal do talo. Barra de escala: 50 µm.

TÁXONS INDEFINIDOS

Halymeniales sp. 1

Figs 44 e 45

Aspecto Geral: Talo de cor rosa, mucilaginoso, muito flácido e delicado, de 6 cm de altura e largura de até 1,7 cm. Lâmina única, fendida. Margens lisas. Nervura ausente. Estipe cilíndrico, de 3 mm de comprimento e 1 mm de diâmetro. Apressório discoide, de 1 mm de diâmetro.

Região Apical: Região medular bem frouxa, com filamentos anticlinais.

Região Mediana: Talo com 75-87,5 µm de espessura. Região cortical com 1-2 camadas de células de formato irregular, incluindo retangulares, quadráticas e elipsoides, de 7,5-10 µm de altura e 12,5-15 µm de largura. Região medular frouxa, com filamentos de 5 µm de diâmetro.

Região Basal: Talo com 117,5-160 µm de espessura. Região cortical com 1-2 camadas de células de formato irregular, incluindo retangulares, quadráticas e elipsoides, de 7,5-10 µm de altura e 12,5-15 µm de largura.

Estruturas Reprodutivas: Tetrasporângios cruciado-decussados, com 17,5 µm de altura e 10-12,5 µm de largura, imersos no Região cortical da região mediana. Gametófitos femininos e masculinos não observados.

Material Examinado:

Brasil, Bahia, Salvador, Banco da Panela, infralitoral, tetrasporófito, 22 de maio de 2013, B. Torrano-Silva e M. Jamas (SPF 57811/IBC 2161).

Comentários:

As reconstruções filogenéticas mostram *Halymeniales* sp. 1 isolada e fora do clado que contém espécie-tipo do gênero *Halymenia*, o que é um indicativo de que essa entidade corresponde a outro gênero (Figuras 4 e 5).

Figura 44. Aspecto geral. Barra de escala: 1 cm.

Morfológicamente, o táxon *Halymeniales* sp. 1 se aproxima muito da descrição original de *Halymenia integra* M.A. Howe & W.R. Taylor, no entanto, difere do material-tipo de *H. integra* analisado por não apresentar as grandes células esféricas na região subcortical.

Figura 45. *Halymeniales* sp. 1. Anatomia vegetativa e reprodutiva. Imagens de SPF 57811/IBC 2164.

(a) Aspecto geral. Barra de escala: 1 cm;

(b) Corte transversal na região mediana do talo. Seta indica tetrasporângio cruciado. Barra de escala: 50 μ m.

Halymeniales sp. 2

Figs 46 e 47

Aspecto Geral: Talo de cor rosa, mucilaginoso, membranoso, muito delicado, que se rasga facilmente. Lâmina fragmentada, de maneira que não é possível saber qual a altura do talo. O fragmento possui 3,5 cm de comprimento e 1,2 de largura. Ápice arredondado e margens levemente onduladas. Proliferações superficiais e marginais ausentes. Região basal, estipe e apressório ausentes na amostra. Apenas um corte foi realizado no que

Figura 46. Aspecto geral. Barra de escala: 1 cm.

supostamente corresponde à região mediana. Talo com 35-37,5 μm de espessura. Região cortical composta por uma camada de células retangulares ou de formato irregular, mais largas que altas, com 4-5 μm de altura e 8-9 μm de largura. Região subcortical ausente. Região medular muito frouxa, apenas com poucos filamentos periclinais de 3-4 μm de diâmetro. Células ganglionares e estreladas não encontradas. Tetrasporângios abundantes, imersos na região cortical, cruciados-decussados, com 15-17,5 μm de altura e 12-12,5 μm de largura. Gametófitos femininos e masculinos não observados.

Material Examinado:

Brasil, Bahia, Salvador, Banco da Panela, tetrasporófito, 22 de maio de 2013, B. Torrano-Silva e M. Jamas (IBC 2165).

Comentários:

A morfologia externa desse indivíduo se assemelha a *Halymeia vinacea* e *Halymenia integra*, porém difere de *H. vinacea* em virtude das margens onduladas e da ausência de células ganglionares. Também não poderia ser *H. integra*, pois não apresenta as grandes células arredondadas na região subcortical.

Figura 47. *Halymeniales* sp. 2. Anatomia vegetativa e reprodutiva. Todas as imagens são de IBC 2165.

(a) Aspecto geral. Barra de escala: 1 cm;

(b) Detalhe mostrando ápice obtuso. Barra de escala: 1 mm;

(c) Detalhe mostrando margem levemente ondulada. Barra de escala: 1 mm;

(d) Corte transversal mostrando região cortical e medular com aparência de vazia. Seta indica célula da região cortical. Barra de escala: 50 µm;

(e) Corte transversal mostrando tetrasporângio cruciado (seta) e filamentos medulares periclinais (ponta de seta). Barra de escala: 50 µm.

MATERIAIS-TIPO OU PROVENIENTES DE LOCALIDADES-TIPO (OU DE LOCAIS PRÓXIMOS À LOCALIDADE-TIPO) ANALISADOS

A seção a seguir corresponde à análise morfológica de materiais de algumas espécies citadas para a costa brasileira e não encontradas neste estudo, para as quais não foram obtidos dados moleculares.

***Halymenia clathrata* E.C. Oliveira, F. Pinheiro-Vieira & R.E.
Norris**

Fig. 48

Do latin *clathratus*: gradeado, entrançado.

Localidade-tipo: Brasil, estado do Espírito Santo, Piúma, Praia de Piabanha.

Aspecto Geral: Talo de cor rosa, mucilaginoso e bastante delicado, com 30 cm de altura e 16 cm de largura. Frondes foliosas, com lobos. Ramificação irregular. Talo apresenta perfurações redondas ou elípticas, de tamanhos variados, em toda a extensão do talo, e com menor diâmetro próximo às margens. Margens lisas. Base cuneada. Nervura ausente. Estipe e apressório ausentes na amostra.

Região Apical: Talo com espessura de 130-160 μm . Região cortical composta por uma camada de células ovóides e alongadas, mais altas que largas, de 13-15 μm de altura e 3-4 μm de largura. Região subcortical com 1-2 camadas de células arredondadas ou alongadas periclinalmente, de 12-22 μm de diâmetro. Região medular com filamentos anticlinais de 4-10 μm de diâmetro. Células ganglionares abundantes, longas e largas. Células estreladas presentes, de 22,5 μm de diâmetro.

Região Mediana: Talo com 290-350 μm de espessura. Região cortical com uma camada de células ovóides ou alongadas, de 11-16 μm de altura e 2-3 μm de largura. Região subcortical com 2-3 camadas de células arredondadas de 14-20 μm de diâmetro. Região medular com filamentos anticlinais de 4-7 μm de diâmetro. Células ganglionares abundantes, longas e largas. Células estreladas com 22,5-35 μm de diâmetro.

Região Basal: Talo com 580-690 μm de espessura. Região cortical com 1-2 camadas de células ovóides e alongadas, de 15-17 μm de altura e 2-3 μm de largura. Região subcortical com duas camadas de células arredondadas, de 20-22,5 μm de diâmetro. Região medular mais densa que na região mediana, com filamentos entrelaçados de 2-4 μm de diâmetro. Células ganglionares grandes, porém menos abundantes que na região mediana. Células estreladas presentes, porém obscurecidas pelos densos filamentos.

Material Examinado: Holótipo (SPF 2864), Brasil, Espírito Santo, Piúma, Praia de Piabanha, arribada, 29 de julho de 1965, E. C. Oliveira. 30 km da costa de Itaipava, a deriva em 15 m de profundidade, fevereiro de 1987, F. Berchez (SPF 51665).

Figura 48. *Halymenia clathrata*. Aspecto geral (Holótipo - SPF 2864). Barra de escala: 2 cm.

***Halymenia duchassaingii* (J.Agardh) Kylin**

Fig. 49

***duchassaingii*:** em homenagem ao coletor Édmond Placide Duchassaingii de Fontbressin, de origem francesa porém nascido em Guadalupe.

Localidade-tipo: Guadalupe.

Material do Caribe Panamenho:

Aspecto Geral: Talo firme, folioso, de 18 cm de altura e 5 cm de largura. Frondes falcadas, estreitas na base e mais alargadas na região mediana. Ápices de formato irregular, alguns arredondados, outros afilados. Ramificação irregular. Margens denteadas em toda a extensão do talo. Abundantes papilas distribuídas em toda a superfície do talo, principalmente na região distal. Algumas células da região subcortical apresentam discreto conteúdo granular. Aparentemente, sem proliferações superficiais. Nervura ausente. Estipe achatado, com 0,5 cm de altura e 2 mm de largura. Não foi possível observar o apressório desta amostra.

Região Apical: Região medular com filamentos anticlinais de 8-12,5 μm de diâmetro. Células ganglionares presentes.

Região Mediana: Talo com 250-270 μm de espessura. Região cortical com 3-4 camadas de células quadráticas ou ovóides, de 5-6 μm de altura e 3-4 μm de largura. Região subcortical com 2-3 camadas de células arredondadas ou periclinamente alongadas, de 9-14 μm de diâmetro. Região medular com filamentos anticlinais e periclinais de 10-15 μm de diâmetro. Filamentos ganglionares presentes. Células estreladas com 27,5-35 μm de largura.

Região Basal: Talo com 470-550 μm de espessura. Região cortical com 3-4 camadas de células quadráticas ou retangulares, de 5-6 μm de altura e 5-6 μm de largura. Região subcortical com 5-6 camadas de células esféricas ou periclinamente alongadas, de 15-62,5 μm de diâmetro, que aumentam de tamanho em direção à região medular. Região medular densa, preenchida por filamentos longitudinais de 10-12,5 μm de diâmetro. Células ganglionares não encontradas. Células estreladas obscurecidas pelos densos filamentos medulares.

Estruturas Reprodutivas: Tetrasporângios cruciado-decussados muito abundantes nas regiões apical e mediana, medindo 18-20 μm de altura e 11-14 μm de largura.

Material Examinado:

Panamá, Bocas del Toro, Isla Colón, Sandfly Bay, tetrasporófito, 08 de maio de 2012, C.A.A. Azevedo (IBC 2063).

Comentários:

Halymenia duchassaingii foi descrita por Agardh (1872), sob o basônimo *Meristotheca duchassaingii*. Foi citada para a costa brasileira pela primeira vez por Joly *et al.* (1965b), quando coletada no estado da Bahia. Posteriormente, a espécie foi também registrada no Ceará e na Paraíba (Nunes 2005).

H. duchassaingii é caracterizada por apresentar numerosas papilas de aspecto espinescente em toda a superfície do talo, em ambas as faces.

Figura 49. *Halymenia duchassaingii*. Aspecto geral. Barra de escala: 2 cm (IBC 2063).

***Halymenia vinacea* M. Howe & W.R. Taylor**

Fig. 50

Localidade-tipo: Brasil, Cabo Frio.

Talo de cor vermelha, folioso, não ramificado, com até 18,5 cm de altura e 8,1 cm de largura. Base cuneada. A fronde se expande a partir da base até a região mediana, e então se torna levemente mais estreita até o ápice. Ápice arredondado, obtuso. Margens inteiras. Proliferações superficiais, marginais ou apicais ausentes. Nervura tênue na região basal, que alcança aproximadamente 0,5 cm acima do estipe. Não é possível distinguir a forma do estipe, o qual tem 4 mm de comprimento e 1 mm de largura. Apressório discoide, com 1 mm de diâmetro.

Na região mediana, talo com 55-70 μm de espessura. Região cortical com uma camada de células de formatos variados, algumas mais largas que altas, com 3-7 μm de altura e 4-7 μm de largura. Região medular com filamentos periclinais de 1-2 μm de diâmetro. Células ganglionares grandes, com longos braços. Células estreladas não encontradas.

O material-tipo foi examinado. A descrição original de Howe & Taylor (1931) não comenta a pequena e discreta nervura que há na base do material-tipo, e também não é possível visualizá-la na imagem que há na obra, de maneira que é difícil distinguir *H. vinacea* de *H. integra*, também descrita pelos mesmos autores baseado-se apenas na descrição feita pelos autores. Essa nervura é citada por Guimarães & Fujii (1998). As células ganglionares citadas aqui são tratadas na descrição original como “gânglios estrelados”.

Material examinado: Holótipo (FH s/n), Brasil, Rio de Janeiro, Cabo Frio, dragagem, Hassler Expedition 1043-a, janeiro de 1872.

***Halymenia integra* M. Howe & W.R. Taylor**

Fig. 50

Localidade-tipo: Brasil, Cabo Frio.

Talo de cor vermelha, folioso, não ramificado, com até 18,5 cm de altura e 6 cm de largura. Base cuneada. A fronde se expande a partir da base até a região mediana, e então se torna levemente mais estreita até o ápice. Ápice arredondado, obtuso em alguns espécimes e agudo em outros. Margens inteiras. Proliferações superficiais, marginais ou apicais ausentes. Nervura ausente. Estipe cilíndrico, com até 7 mm de comprimento e 1 mm de diâmetro. Apressório discoide, com 1 mm de diâmetro.

Não foi possível obter boas preparações de seções transversais, uma vez que o material está desidratado há 143 anos. Portanto, as observações de anatomia interna foram feitas a partir de vista superficial.

Em vista superficial, Região cortical composta por células de formatos variados, com 11-19 μm em sua maior medida. As células superficiais estão dispostas em agrupamentos de 2-4 células. Sob o córtex há células esféricas e elipsoides grandes, com 157,5-165 μm de diâmetro, que correspondem às células da região subcortical descritas por Howe & Taylor (1931). Guimarães & Fujii (1998) sugerem que essa espécie provavelmente não pertence ao gênero *Halymenia*.

Material examinado: Holótipo (FH s/n), Brasil, Rio de Janeiro, Cabo Frio, dragagem, Hassler Expedition 1042, janeiro de 1872.

***Halymenia rosea* M. Howe & W.R. Taylor**

Fig. 50

Localidade-tipo: Brasil, Cabo Frio.

Talo de cor rosa, folioso, suborbicular, não ramificado, com 6 cm de altura e 4 cm de largura. Base cuneada. Ápice arredondado. Margens inteiras. Proliferações superficiais, marginais ou apicais ausentes. Nervura ausente. Não é possível distinguir a forma do estipe, o qual tem 3 mm de comprimento e menos de 1 mm de largura. Apressório discoide, com menos de 1 mm de diâmetro.

Não foi possível obter cortes transversais visíveis. Em vista superficial, córtex com células de formatos variados, com 4-9 μm em sua maior medida. Além das células da região cortical, há grandes células de formato estrelado com 50-57,5 μm de diâmetro e longos e numerosos (5-8) braços, alguns septados. Essas células foram chamadas de “gânglios estrelados” por Howe & Taylor (1931) e, segundo os autores, estão presentes na região subcortical e na região medular de *H. rosea*. No entanto, essas células não coram da mesma maneira intensa e refringente típica de células ganglionares, e também não estão restritas à região subcortical, como é comum às células estreladas de *Halymenia*. Considerando que existe uma distinção entre células ganglionares e estreladas adotada neste estudo, as células de formato estrelado de *H. rosea* podem não corresponder a nenhuma dessas duas estruturas.

Material examinado: Holótipo (FH s/n), Brasil, Rio de Janeiro, Cabo Frio, dragagem, Hassler Expedition 1043, janeiro de 1872.

Figura 50. Materiais-tipo de *H. vinacea*, *H. integra* e *H. rosea*.

(a-d) *H. vinacea*;

(a) Aspecto geral do holótipo. Barra de escala: 1 cm (FH, Hassler Expedition 1043-a);

(b) Detalhe da região basal de *H. vinacea* mostrando a nervura. Barra de escala: 1 cm (FH, Hassler Expedition 1043-a);

(c) Corte transversal na região mediana do talo. Seta indica célula ganglionar. Barra de escala: 50 μ m (FH, Hassler Expedition 1043-a);

- (d) Corte transversal na região mediana do talo. Barra de escala: 50 μ m (FH, Hassler Expedition 1043-a);
- (e-g) *H. integra*;
- (e) Aspecto geral do holótipo. Barra de escala: 1 cm (FH, Hassler Expedition 1042);
- (f) Visão superficial da região cortical. Barra de escala: 50 μ m (FH, Hassler Expedition 1042);
- (g) Preparação de esmagamento mostrando células da região cortical (ponta de seta) e região subcortical (seta). Barra de escala: 50 μ m (FH, Hassler Expedition 1042);
- (h-j) *H. rosea*;
- (h) Aspecto geral do holótipo. Barra de escala: 1 cm (FH, Hassler Expedition 1043);
- (i) Visão superficial da região cortical. Barra de escala: 50 μ m (FH, Hassler Expedition 1043);
- (j) Célula de formato estrelado com braços septados (seta). Barra de escala: 50 μ m (FH, Hassler Expedition 1043).

5. Considerações Finais

Neste estudo, foi possível constatar elevada incidência de diversidade críptica ou pseudo-críptica entre as algas da ordem Halymeniales que ocorrem na costa brasileira. Isso demonstra que a diversidade dessas algas está subestimada na costa do Brasil, o que corrobora a hipótese levantada neste estudo. Foram encontradas pelo menos 26 táxons da ordem ocorrendo no litoral brasileiro (Tabela 11). Antes da realização deste estudo, havia registro de 24 espécies, das quais nove não foram obtidas. Se todas essas nove espécies constituírem entidades válidas, o número de táxons da ordem no Brasil seria de 35 espécies. Os resultados moleculares e morfológicos indicam que diversas citações de táxons correspondem a complexos de espécies (“*Cryptonemia*” *crenulata*, *Cryptonemia seminervis*, *Halymenia floresii* e *Grateloupia* cf. *filicina*), e que há espécies e gêneros provavelmente novos para a ciência e cujas descrições e publicações requerem a realização de mais estudos morfológicos e moleculares, que incluam a observação de material ficológico depositado em diversos herbários e coleta e sequenciamento nas localidades-tipo (Tabelas 11 e 12).

Em relação aos marcadores moleculares, foi avaliada a viabilidade de aplicação do UPA e COI-5P no estudo da diversidade da ordem. Os dois marcadores apresentaram valores comparáveis de divergências intraespecífica (0,0-1,1% para o UPA e 0,0-1,2% para o COI-5P), sendo que em ambos os casos, muitos agrupamentos não exibem divergência intraespecífica. Porém, os dois marcadores diferem em relação aos valores de diversidade interespecífica, que foram superiores no COI-5P (6,6-11,9%), em comparação com o UPA (0,5-3,2%). A sobreposição entre divergência intra e interespecífica observada no marcador UPA é considerada uma limitação à sua aplicação como *DNA barcode* (Yang & Kim 2014b), porém, é importante ressaltar que neste estudo esse marcador resultou nos mesmos agrupamentos genéticos obtidos com o COI-5P. O marcador UPA é uma região de fácil amplificação e sequenciamento, enquanto que o COI-5P, por sua vez, é uma região muito útil para diferenciação de espécies, porém, em virtude das grandes dificuldades

previamente relatadas neste estudo para o COI-5P, foi necessário investir grande quantidade de tempo até a obtenção desses dados.

Em relação ao *rbcL*, observou-se facilidade em sua amplificação e grande adequabilidade para inferências filogenéticas. As análises filogenéticas realizadas apenas com *rbcL* e com *rbcL* combinado com COI-5P (análise concatenada) demonstraram que os gêneros *Cryptonemia* e *Halymenia* são polifiléticos, enquanto que *Grateloupia* é parafilético. No entanto, os valores de suporte nos ramos mais profundos das árvores são, na maioria dos casos, inferiores a 50, isto é, insuficientes para proposição dos novos gêneros. Para tanto, é necessário obter árvores mais robustas, que incluam um maior número de marcadores moleculares.

Além disso, foi detectada no litoral do Brasil a presença de três táxons, cuja localidade-tipo é a Ásia: “*Grateloupia*” *turuturu*, *Grateloupia orientalis* e *Grateloupia yangjiangensis*. Os dois primeiros táxons foram encontrados nos municípios de Florianópolis e São Vicente, respectivamente, isto é, em locais próximos aos dois maiores portos de navegação do Brasil, que são os portos de Itajaí (SC) e de Santos (SP). *G. yangjiangensis*, por sua vez, foi coletada em uma praia em Ubatuba. *G. turuturu* é uma espécie invasora bastante documentada na literatura (Anexo IV), enquanto que *G. orientalis* e *G. yangjiangensis* nunca haviam sido detectadas fora de suas localidades-tipo, segundo o nosso conhecimento. *G. orientalis* e *G. yangjiangensis* podem ser facilmente confundidas com outros táxons que ocorrem na costa brasileira: *G. filiformis*, *G. cf. filicina* 1 e *G. cf. filicina* 2. Dessa forma, não é possível saber se as espécies são realmente exóticas, e, conseqüentemente, é mais prudente considerá-las espécies criptogênicas. É importante também ressaltar que foram observados indivíduos férteis desses táxons. Esses resultados reforçam a necessidade de monitoramento da ocorrência dessas espécies.

A distribuição geográfica dos táxons encontrados está de acordo com as Zonas de Diversidade de Algas propostas por Horta *et al.* (2001). Alguns táxons foram exclusivos da Zona Tropical, enquanto que outros ocorreram apenas na Zona Temperada Quente. Na Zona de Transição, por sua vez, foram observadas espécies comuns tanto à Zona Tropical, quanto à Zona Temperada Quente. Apenas “*Halymenia*” *floridana* e *Grateloupia filiformis* foram encontradas nas três zonas. Esse padrão foi também parcialmente observado para a distribuição dos gêneros, sendo que *Corynomorpha* foi registrada apenas na Zona Tropical,

Halymenia ocorreu predominantemente na Zona Tropical, *Grateloupia* foi encontrada principalmente na Zona Temperada Quente e *Cryptonemia* foi observada nas três zonas.

A utilização da ferramenta molecular foi extremamente útil na delimitação de espécies de Halymeniales e essencial na descoberta de ampla diversidade críptica em grupos morfológicamente muito semelhantes. Os dados aqui apresentados fornecem importantes informações sobre as relações filogenéticas da ordem e ressaltam a necessidade de realização de mais investigações para a resolução dos problemas sistemáticos do grupo. De maneira geral, este estudo contribui significativamente para o conhecimento da flora marinha brasileira e é fundamental para viabilizar a utilização racional desses recursos naturais do país.

Tabela 11. Cenário atual do conhecimento da diversidade de Halymeniales no litoral do Brasil, proposto neste estudo.

Espécie	Distribuição atual	Status proposto
<i>Corynomorpha</i> cf. <i>clavata</i>	BA, CE, ES, PE, RN	Espécie nova
" <i>Cryptonemia</i> " <i>bengryi</i>	AL, BA, CE, ES, PB, PE, RN	Gênero novo
" <i>Cryptonemia</i> " <i>crenulata</i>	Arq. F. N., AL, BA, CE, ES, MA, PB, PE, RJ, RN, SP	Gênero novo/Complexo de pelo menos três espécies, sendo duas espécies novas
" <i>Cryptonemia</i> " <i>delicatula</i>	BA, CE, ES, RJ, RN, RS, SC, SP	Gênero novo
<i>Cryptonemia flabelifolia</i>	CE, ES, RJ	Não encontrada neste estudo
<i>Cryptonemia limensis</i>	CE, ES, RJ, SP	Pertence ao Complexo <i>Cryptonemia seminervis</i>
<i>Cryptonemia seminervis</i>	AL, BA, CE, ES, MA, PB, PE, RJ, RN	Complexo de pelo menos três espécies, sendo duas espécies novas
<i>Dermocorynus dichotomus</i>	CE, ES, PR, RJ, SC, SP	Espécie nova pertencente ao gênero <i>Grateloupia</i>

Tabela 11. Continuação.

Espécie	Distribuição atual	Status
<i>Grateloupia cuneifolia</i> e <i>Grateloupia doryphora</i>	ES, PR, RJ, RS, SC, SP	Nomes mal aplicados no Brasil para <i>Grateloupia gibbesii</i>
<i>Grateloupia filicina</i>	Arq. T. e M.V., BA, CE, ES, PB, PR, RJ, RN, RS, SC, SP	Complexo com duas espécies novas, distintas da autêntica <i>G. filicina</i>
<i>Grateloupia filiformis</i>	BA, CE, ES, MA, SP, SC	Espécie válida
<i>Grateloupia orientalis</i>	SP	Primeiro registro. Espécie Criptogênica
<i>Grateloupia subpectinata</i>	ES	Não encontrada neste estudo
<i>Grateloupia turuturu</i>	SC	Primeiro registro. Espécie não nativa e potencialmente invasora
<i>Grateloupia yangjiangensis</i>	SP	Primeiro registro. Espécie Criptogênica
<i>Halymenia brasiliana</i>	CE, BA, ES	Não encontrada neste estudo
<i>Halymenia clathrata</i>	ES	Não encontrada neste estudo. Material-tipo analisado.
<i>Halymenia duchassaingii</i>	BA, CE, PB	Não encontrada neste estudo. Material da localidade-tipo Analisado
" <i>Halymenia</i> " <i>elongata</i>	AL, BA, CE, ES, PB, PE, RJ, RN, SP, SC	Gênero novo
<i>Halymenia floresii</i>		Complexo de duas espécies novas, distintas da autêntica <i>H. floresii</i>
" <i>Halymenia</i> " <i>floridana</i>	BA, CE, ES, RJ, RN, SC,	Pertence ao gênero

Tabela 11. Continuação.

Espécie	Distribuição atual	Status
	SP	<i>Cryptonemia</i> ou gênero novo
<i>Halymenia ignifera</i>	CE, RN, ES	Espécie nova, previamente tratada como <i>H. floresii</i>
<i>Halymenia integra</i>	CE, RJ	Não encontrada neste estudo. Material-tipo analisado.
<i>Halymenia pinnatifida</i>	RN	Espécie nova, previamente tratada como <i>H. floresii</i>
<i>Halymenia pseudofloresii</i>		Corresponde a <i>H. silviae</i>
<i>Halymenia rosea</i>	CE, ES, RJ, SP	Não encontrada neste estudo. Material-tipo analisado.
<i>Halymenia silviae</i>	AL, BA, CE, RN	Espécie nova, previamente tratada como <i>H. pseudofloresii</i>
<i>Halymenia vinacea</i>	ES, RJ	Não encontrada neste estudo. Material-tipo analisado.
<i>Halymenia</i> sp. 1	CE	Táxon indefinido. Provavelmente <i>H. mirabilis</i>
<i>Halymenia</i> sp. 2	CE	Espécie nova
Halymeniales sp. 1	BA	Gênero novo
Halymeniales sp. 2	BA	Gênero novo
<i>Tsengia</i> sp.	ES	Não encontrada neste estudo.

* Estados da Federação Brasileira. AL: Alagoas, BA: Bahia, CE: Ceará, ES: Espírito Santo, MA: Maranhão, PB: Paraíba, PE: Pernambuco, PR: Paraná, RJ: Rio de Janeiro, RN: Rio Grande do Norte, RS: Rio Grande do Sul, SC: Santa Catarina, SP: São Paulo.
Arquipélagos. Arq. F.N.: Arquipélago de Fernando de Noronha, Arq. T. e M.V.: Arquipélago de Trindade e Martim Vaz.

Tabela 12. Comparação das características vegetativas dos principais gêneros encontrados neste estudo.

Características	<i>Corynomorpha</i>	<i>Cryptonemia</i>	Gênero novo " <i>Cryptonemia</i> " <i>bengryi</i>	Gênero novo " <i>Cryptonemia</i> " <i>delicatula</i>	Gênero novo " <i>Cryptonemia</i> " <i>crenulata</i>	<i>Halymenia</i>	Gênero novo " <i>Halymenia</i> " <i>elongata</i>	Gênero novo " <i>Halymenia</i> " <i>floridana</i>	<i>Grateloupia</i>
Hábito	Talo cilíndrico, Claviforme	Talo em forma de fitas	Talo em forma de fitas	Talo em forma de fitas	Talo em forma de fitas	Talo folioso, lanceolado, obovado, fendido ou expandido	Talo tubular, cilíndrico- comprimido	Talo folioso, lanceolado, obovado, fendido ou expandido	Talo folioso, com frondes lineares, lanceoladas ou expandidas, ou frondes cilíndrico- comprimidas
Consistência	Firme	Firme	Firme	Flácida	Firme	Flácida	Flácida	Flácida	Flácida ou firme
Textura	Mucilagínosa	Não- mucilagínosa	Não- mucilagínosa	Mucilagínosa	Não- mucilagínosa	Mucilagínosa	Mucilagínosa	Mucilagínosa	Mucilagínosa
Nervura	Ausente	Presente, alcança até 1 cm do ápice	Ausente	Presente, tênue e restrita à base	Ausente	Ausente	Ausente	Presente apenas na região basal	Ausente
Região medular	Filamentos Irregulares	Filamentos longitudinais e periclinais	Filamentos irregulares	Células esféricas irregularmente distribuídas e alguns filamentos periclinais	Filamentos longitudinais e periclinais	Filamentos anticlinais e alguns periclinais	Filamentos irregulares	Filamentos anticlinais e alguns periclinais	Filamentos irregulares e entrelaçados
Células ou filamentos ganglionares	Ausentes	Presentes	Presentes	Presentes	Presentes	Presentes	Ausentes	Presentes	Ausentes
Células estreladas	Presentes	Presentes	Presentes	Ausentes	Presentes	Presentes	Presentes	Presentes	Presentes
Conteúdo granular	Ausente	Ausente	Presente, abundante	Presente, raro	Presente, abundante	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

6. Referências Bibliográficas

- AGARDH J.G. 1842. *Algae maris Mediterranei et Adriatici, observationes in diagnosin specierum et dispositionem generum*. Apud Fortin, Masson et Cie, Parisiis [Paris]. pp.
- AGARDH J.G. 1872. Bidrag till Florideernes systematik. *Lunds Universitets Års-Skrift, Afdelningen for Matematik och Naturvetenskap* 8: 1-60.
- AMADO-FILHO G., MANEVELDT G., PEREIRA-FILHO G., MANSO R., BAHIA R., BARROS-BARRETO M. & GUIMARÃES S. 2010. Seaweed diversity associated with a Brazilian tropical rhodolith bed. *Ciencias Marinas* 36: 371-391.
- AMADO FILHO G.M., BARRETO M.B.B., MARINS B.V., FELIX C. & REIS R.P. 2003. Estrutura das comunidades fitobentônicas do infralitoral da Baía de Sepetiba, RJ, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 26: 329 - 342.
- AMADO FILHO G.M. & BAHIA R.G. 2007. Algas marinhas bentônicas do estado do Rio de Janeiro. <http://www.jbrj.gov.br/jabot/mapa/algasrj.php>, July, 2nd 2011.
- ARDRE F. & GAYRAL P. 1961. Quelques *Grateloupia* de l'Atlantique et du Pacifique. *Revue algol* 6: 38-48.
- ATHUKORALA Y., LEE K.W., SONG C., AHN C.B., SHIN T.S., CHA Y.J., SHAHIDI F. & JEON Y.J. 2003. Potential antioxidant activity of marine red alga *Grateloupia filicina* extracts. *Journal of Food Lipids* 10: 251 - 265.
- AZEVEDO C.A.A., CASSANO V., HORTA JÚNIOR P.A., BATISTA M.B. & OLIVEIRA M.C. 2015. Detecting the non-native *Grateloupia turuturu* (Halymeniales, Rhodophyta) in southern Brazil. *Phycologia* 54: 451-454.
- BALAKRISHNAN M.S. 1962. Studies on Indian Cryptonemiales II. *Corynomorpha* J. Ag. *Phytomorphology* 12: 77-86.
- BALLANTINE D.L. & RUIZ H. 2004. *Halymenia mirabilis* sp. nov. (Cryptonemiales, Rhodophyta), a spectacular alga from Grenada, Caribbean Sea. *Phycologia* 43: 75-78.
- BENNETT B.C. & BALICK M.J. 2014. Does the name really matter? The importance of botanical nomenclature and plant taxonomy in biomedical research. *Journal of Ethnopharmacology* 152: 387-392.
- BOO G.H., PARK J.K., GERUNG G.S. & BOO S.M. 2013. Transfer of the red alga *Gelidium zollingeri* Sonder (Gelidiales) to *Yonagunia* (Halymeniales) based on morphological and molecular evidence. *Phycologia* 52 279 - 287.
- CALDERON M.S., BOO G.W. & BOO S.M. 2014a. Morphology and phylogeny of *Ramirezia osornoensis* gen. & sp. nov. and *Phyllymenia acletoi* sp. nov. (Halymeniales, Rhodophyta) from South America. *Phycologia* 53: 23-36.
- CALDERON M.S., BOO G.H. & BOO S.M. 2014b. *Neorubra decipiens* gen. & comb. nov. and *Phyllymenia lancifolia* comb. nov. (Halymeniales, Rhodophyta) from South America. *Phycologia* 53: 409-422.
- CALISHER C.H. 2007. Taxonomy: what's in a name? Doesn't a rose by any other name smell as sweet? *Croatian Medical Journal* 48: 268-70.
- CÂMARA-NETO C. 1971. Primeira contribuição ao inventário das algas marinhas bentônicas do litoral do Rio Grande do Norte. *Boletim do Departamento de*

- Oceanografia e Limnologia. Universidade Federal do Rio Grande do Norte* 5: 137-154.
- CHIANG Y.M. 1970. Morphological studies of red algae of the family Cryptonemiaceae. *University of California Publications in Botany* 58: vi + 95.
- CHOPIN T., KERIN B.F. & MAZEROLLE R. 1999. Phycocolloid chemistry as a taxonomic indicator of phylogeny in the Gigartinales, Rhodophyceae: A review and current developments using Fourier transform infrared diffuse reflectance spectroscopy. *Phycological Research* 47: 167-188.
- CIANCIOLA E.N., POPOLIZIO T.R., SCHNEIDER C.W. & LANE C.E. 2010. Using molecular-assisted alpha taxonomy to better understand red algal biodiversity in Bermuda. *Diversity* 2: 946 - 958.
- CLARKSTON B.E. & SAUNDERS G.W. 2010. A comparison of two DNA barcode markers for species discrimination in the red algal family Kallymeniaceae (Gigartinales, Florideophyceae), with a description of *Euthora timburtonii* sp. nov. *Botany* 88: 119 - 131.
- CLARKSTON B.E. & SAUNDERS G.W. 2013. Resolving species diversity in the red algal genus *Callophyllis* (Kallymeniaceae, Gigartinales) in Canada using molecular assisted alpha taxonomy. *European Journal of Phycology* 48: 27 - 46.
- COLLINS F.S. & HOWE M.A. 1916. Notes on species of *Halymenia*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 43: 169-182.
- CORDEIRO-MARINO M. 1978. Rodofíceas bentônicas marinhas do Estado de Santa Catarina. *Rickia* 7: 1-243.
- COSTA E.S., PLASTINO E.M., PETTI R., OLIVEIRA E.C. & OLIVEIRA M.C. 2012. The Gracilariaceae Germplasm Bank of the University of São Paulo, Brazil-a DNA barcoding approach. *Journal of Applied Phycology* 24: 1643 - 1653.
- CREED M., FUJII M.T., BARROS-BARRETO M.B.D., GUIMARÃES S.M.P.B., CASSANO V., PEREIRA S.M.B., OLIVEIRA-CARVALHO M.F. & KHADER S. 2015. Rhodophyceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB100056>). Jardim Botânico do Rio de Janeiro.
- D'ARCHINO R., NELSON W.A. & ZUCCARELLO G.C. 2014. *Amalthea* and *Galene*, two new genera of Halymeniaceae (Rhodophyta) from New Zealand. *Botanica Marina* 57: 185-201.
- DAWES C.J. & MATHIESON A.C. 2008. *The seaweeds of Florida*. University Press of Florida, Gainesville, Florida. 592 pp.
- DAWSON E.Y. 1954. Marine red algae of Pacific Mexico Part 2. Cryptonemiales (contd.). *Allan Hancock Pacific Expeditions* 17: 241-398.
- DAWSON E.Y., ACLETO C. & FOLDVIK N. 1964. The seaweeds of Peru. *Nova Hedwigia* 13: 1-111.
- DE CLERCK O., GAVIO B., FREDERICQ S., COCQUYT E. & COPPEJANS E. 2005a. Systematic reassessment of the red algal genus *Phyllymenia* (Halymeniaceae, Rhodophyta). *European Journal of Phycology* 40: 169 – 178.
- DE CLERCK O., GAVIO B. & FREDERICQ S. 2005b. Systematics of *Grateloupia filicina* (Halymeniaceae, Rhodophyta), based on *rbcL* sequence analyses and morphological evidence, including the reinstatement of *Grateloupia minima* and the description of *Grateloupia capensis* sp. nov. *Journal of Phycology* 41.
- DE CLERCK O., GUIRY M.D., LELIAERT F., SAMYN Y. & VERBRUGGEN H. 2013. Algal taxonomy: a road to nowhere? . *Journal of Phycology* 49: 215 - 225.
- DE MASI F. & GARGIULO G.M. 1982. *Grateloupia doryphora* (Mont.) Howe (Rhodophyta, Cryptonemiales) em Méditerranée. *Allionia* 25: 105-108.

- DE SMEDT G., DE CLERCK O., LELIAERT F., COPPEJANS E. & LIAO L.M. 2001. Morphology and systematics of the genus *Halymenia* C. Agardh (Halymeniales, Rhodophyta) in the Philippines. *Nova Hedwigia* 73: 293–322.
- FAUGERON S., VALERO M., DESTOMBE C., MARTINEZ E.A. & CORREA J.A. 2001. Hierarchical spatial structure and discriminant analyses of genetic diversity in the red alga *Mazzaella laminarioides* (Gigartinales, Rhodophyta). *Journal of Phycology* 37: 705–717.
- FERREIRA-CORREIA M.M. 1983. Rodofíceas marinhas bentônicas do litoral oriental do estado do Maranhão. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Rio Claro. 266 pp.
- FERREIRA-CORREIA M.M. 1987. Rodofíceas marinhas bentônicas do litoral oriental do estado do Maranhão. *Coleção Ciências Biológicas, Série Botânica* 01: 1 - 256.
- FIGUEROA F.L., KORBEE N., DE CLERCK O., BÁRBARA I. & GALL E.A.R. 2007. Characterization of *Grateloupia lanceola* (Halymeniales, Rhodophyta), an obscure foliose *Grateloupia* from the Iberian Peninsula, based on morphology, comparative sequence analysis and mycosporine-like amino acid composition. *European Journal of Phycology* 42: 231–242.
- FRESHWATER D.W. & RUENESS J. 1994. Phylogenetic relationships of some European *Gelidium* (Gelidiales, Rhodophyta) species, based on *rbcL* nucleotide sequence analysis. *Phycologia* 33: 187–194.
- 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.
- GARCÍA-JIMÉNEZ P., GERALDINO P., BOO S. & ROBAINA R. 2008. Red alga *Grateloupia imbricata* (Halymeniaceae), a species introduced into the Canary Islands. *Phycological Research* 56: 166–171.
- GARGIULO G.M., MORABITO M. & MANGHISI A. 2013. A Re-Assessment of Reproductive Anatomy and Postfertilization Development in the Systematics of *Grateloupia* (Halymeniales, Rhodophyta). *Cryptogamie, Algologie* 34: 13–35.
- GAVIO B. & FREDERICQ S. 2002. *Grateloupia turuturu* (Halymeniaceae, Rhodophyta) is the correct name of the non-native species in the Atlantic known as *Grateloupia doryphora*. *European Journal of Phycology* 37: 349–359.
- GOFF L.J. & MOON D.A. 1993. PCR amplification of nuclear and plastid genes from algal herbarium specimens and algal spores. *Journal of Phycology* 29: 381–384.
- GUIMARÃES S.M.P.B. 1990. Rodofíceas marinhas bentônicas do Estado do Espírito Santo: ordem Cryptonemiales. Universidade de São Paulo. São Paulo. 275 pp.
- GUIMARÃES S.M.P.B. & FUJII M.T. 1998. Two species of foliose *Halymenia* (Halymeniaceae, Rhodophyta) from Brazil. *Botanica Marina* 41: 495–504.
- GUIMARÃES S.M.P.B. 2006. A revised checklist of benthic marine Rhodophyta from the State of Espírito Santo, Brazil. *Boletim do Instituto de Botânica* 17: 143–194.
- GUIRY M.D. & IRVINE L.M. 1974. A species of *Cryptonemia* new to Europe. *British Phycological Journal* 9: 225–237.
- GUIRY M.D. & GUIRY G.M. 2016. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>, 12 February 2016.
- HALL T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95–98.

- HARVEY W.H. 1853. *Nereis boreali-americana; or, contributions towards a history of the marine algae of the atlantic and pacific coasts of North America. Part II. Rhodospermeae*. Smithsonian Contributions to Knowledge. 258 pp.
- HERNÁNDEZ-KANTUN J.J., RIOSMENA-RODRIGUEZ R. & LEÓN-CISNEROS K. 2009. Morphology and anatomy of *Halymenia actinophysa* (Halymeniales, Rhodophyta) from the southwestern Gulf of California, Mexico. *Botanica Marina* 52: 248-255.
- HERNÁNDEZ-KANTÚN J.J., SHERWOOD A.R., RIOSMENA-RODRÍGUEZ R., HUISMAN J.M. & DE CLERCK O. 2012. Branched *Halymenia* species (Halymeniaceae, Rhodophyta) in the Indo-Pacific region, including descriptions of *Halymenia hawaiiiana* sp. nov. and *H. tondoana* sp. nov. *European Journal of Phycology* 47: 421-432.
- HOMMERSAND M.H., LEISTER G.L., RAMÍREZ M.E., GABRIELSON P.W. & NELSON W.A. 2010. A morphological and phylogenetic study of *Glaphyrosiphon* gen. nov. (Halymeniaceae, Rhodophyta) based on *Grateloupia intestinalis* with descriptions of two new species: *Glaphyrosiphon lindaueri* from New Zealand and *Glaphyrosiphon chilensis* from Chile. *Phycologia* 49: 554-573.
- HORTA P.A. 2000. Macroalgas do infralitoral do sul e sudeste brasileiro. Universidade de São Paulo, São Paulo. 301 pp.
- HORTA P.A., AMANCIO C.E., COIMBRA C. & OLIVEIRA E.C. 2001. Considerações sobre a distribuição e origem da flora de macroalgas marinhas brasileiras. *Hoehnea* 28: 243-265.
- HOWE M.A. 1914. The marine algae of Peru. *Memoirs of the Torrey Botanical Club* 15: 1-185.
- HOWE M.A. & TAYLOR W.R. 1931. Notes on new or little-known marine algae from Brazil. *Brittonia* 1: 7-33.
- IHA C., MILSTEIN D., GUIMARÃES S.M.P.B., FRESHWATER D.W. & OLIVEIRA M.C. 2015. DNA barcoding reveals high diversity in the Gelidiales of the Brazilian southeast coast. *Botanica Marina* 58: 295-305.
- JOHN D.M. & MAGGS C.A. 1997. Species problems in eukaryotic algae: a modern perspective. In *Species: The Units of Biodiversity*. (ed. by M.F. Claridge, H.A. Dawah & M.R. Wilson), pp. 83-107. Chapman & Hall, London.
- JOLY A.B. 1957. Contribuição ao conhecimento da flora ficológica marinha da baía de Santos e arredores. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, série Botânica* 14: 1 - 196.
- JOLY A.B. 1964. Flora marinha do litoral norte do estado de São Paulo e regiões circunvizinhas. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, série Botânica* 21: 1 - 393.
- JOLY A.B., CORDEIRO M., YAMAGUISHI N. & UGADIM Y. 1965a. New marine algae from Southern Brazil. *Rickia* 2.
- JOLY A.B., CORDEIRO-MARINO M., YAMAGUISHI-TOMITA N., UGADIM Y., OLIVEIRA-FILHO E.C. & FERREIRA M.M. 1965b. Additions to the marine flora of Brazil V. *Arquivos da Estação de Biologia Marinha da Universidade Federal do Ceará* 5: 65-78.
- JOLY A.B., UGADIM Y., OLIVEIRA FILHO E.C. & CORDEIRO MARINO M. 1967. Additions to the marine flora of Brazil VI. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, Série Botânica* 22: 171-194.
- KAWAGUCHI S. 1997. Taxonomic notes on the Halymeniaceae (Gigartinales, Rhodophyta) from Japan. III. Synonymization of *Pachymeniopsis* Yamada in Kawabata with *Grateloupia* C. Agardh. *Phycological research* 45: 9-21.

- KIM S.Y., SEO T.H., PARK J.K., BOO G.H., KIM K.M. & BOO S.M. 2012. *Cryptonemia rotunda* (Halymeniales) and *Schizymenia apoda* (Nemastomatales), two new records of red algae from Korea. *Algae* 27: 1-8.
- KIM S.Y., HAN E.G., KIM M.S., PARK J.K. & BOO S.M. 2013. *Grateloupia jejuensis* (Halymeniales, Rhodophyta): a new species previously confused with *G. elata* and *G. cornea* in Korea. *Algae* 28: 233–240.
- KRAFT L.G. & SAUNDERS G.W. 2013. Systematic investigation of the red algal order Halymeniales (Florideophyceae, Rhodophyta) in Australia. *Phycologia* 52: 56.
- KÜTZING F.T. 1849. *Species algarum*. F.A. Brockhaus, Lipsiae [Leipzig]. pp. [i]-vi, [1]-922 pp.
- KYLIN H. 1932. Die Florideenordnung Gigartinales. *Acta Universitatis Lundensis* 28: 1-88.
- KYLIN H. 1956. *Die Gattungen der Rhodophyceen*. C.W.K. Gleerups, Lund. pp.
- LELIAERT F., VERBRUGGEN H., VANORMELINGEN P., STEEN F., LÓPEZ-BAUTISTA J.M., ZUCCARELLO G.C. & DE CLERCK O. 2014. DNA-based species delimitation in algae. *European Journal of Phycology* 49: 179–196.
- LEWIS J.A. 1990. *Cryptonemia limensis* (Kützinger) Lewis, comb. nov. (Halymeniaceae, Rhodophyta) from Peru. *Taxon* 39: 98-104.
- LIN S.M., LIANG H.Y. & HOMMERSAND M.H. 2008. Two types of auxiliary cell ampullae in *Grateloupia* (Halymeniaceae, Rhodophyta), including *G. taiwanensis* sp. nov. and *G. orientalis* sp. nov. from Taiwan based on *rbcL* gene sequence analysis and cystocarp development. *Journal of Phycology* 44: 196-214.
- LIN S.M. & LIANG H.Y. 2011. *Grateloupia huangiae* (Halymeniaceae, Rhodophyta), a new species from Taiwan previously confused with *Polyopes lancifolius*, with emphasis on the development of the auxiliary-cell ampullae. *Phycologia* 50: 232 - 240.
- LUCENA L.A.F., KANAGAWA A.I., MARTINS G.J.M., TARGINO C.H., MIRANDA G.E.C. & HORTA P.A. 2007. Levantamento da flora do infralitoral do município de Pitimbu, litoral sul do estado da Paraíba, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências* 5: 585 - 587.
- LYRA G.M., SANTOS A.C.C. & NUNES J.M.C. 2007. Rodofíceas bentônicas das praias da Concha e Engenhoca, município de Itacaré - Bahia, Brasil. *Acta Botanica Malacitana* 32: 234 - 240.
- MACHÍN-SÁNCHEZ M., LE GALL E., NETO A.I., ROUSSEAU F., CASSANO V., SENTÍES A., FUJII M.T., DÍAZ-LARREA J., VAN REINE W.F.P., BONILLO C. & GIL-RODRÍGUEZ M.C. 2014. A combined barcode and morphological approach to the systematics and biogeography of *Laurencia pyramidalis* and *Laurenciella marilzae* (Rhodophyta). *European Journal of Phycology* 49: 115-127.
- MAGGS C.A., VERBRUGGEN H. & DE CLERCK O. 2007. Molecular systematics of red algae: building future structures on firm foundations. In: Brodie, J & Lewis, J.M. (eds.) *Unravelling the algae: the past, present, and future of algal systematics. The Systematics Association Special Volume Series* 75: 103 – 121.
- MANGHISI A., LE GALL L., RIBERA M.A., BONILLO C., GARGIULO G.M. & MORABITO M. 2014. The Mediterranean Endemic New genus *Felicinia* (Halymeniales, Rhodophyta) Recognized by a Morphological and Phylogenetic Integrative Approach. *Cryptogamie, Algologie* 35: 221-243.
- MAYDEN R.L. 1997. A hierarchy of species concepts: the denouement in the saga of the species problem. In *Species: The Units of Biodiversity*. (ed. by M.F. Claridge, H.A. Dawah & M.R. Wilson), pp. 381-424. Chapman and Hall, London.

- MAYR E. & ASHLOCK P.D. 1991. *Principles of Systematic Zoology*. McGraw-Hill, New York, NY. pp.
- MENDES G.S., DUARTE M.R., COLODI F.G., NOSEDA M.D., FERREIRA L.G., BERTÉ S.D., CAVALCANTI J.F., SANTOS N. & ROMANOS M.T.V. 2014. Structure and anti-metapneumovirus activity of sulfated galactans from the red seaweed *Crytonemia seminervis*. *Carbohydrate Polymers* 101: 313 - 323.
- MILSTEIN D. & SAUNDERS G.W. 2012. DNA barcoding of Canadian Ahnfeltiales (Rhodophyta) reveals a new species - *Ahnfeltia borealis* sp. nov. *Phycologia* 51: 247 - 259.
- MILSTEIN D., MEDEIROS A.S., OLIVEIRA E.C. & OLIVEIRA M.C. 2012. Will a DNA barcoding approach be useful to identify *Porphyra* species (Bangiales, Rhodophyta)? *Journal of Applied Phycology* 24: 837-845.
- MINEUR F., DE CLERCK O., LE ROUX A., MAGGS C.A. & VERLAQUE M. 2010. *Polyopes lancifolius* (Halymeniales, Rhodophyta), a new component of the Japanese marine flora introduced to Europe. *Phycologia* 49: 86-96.
- NAUER F., GUIMARÃES N.R., CASSANO V., YOKOYA N.S. & OLIVEIRA M.C. 2014. *Hypnea* species (Gigartinales, Rhodophyta) from the southeastern coast of Brazil based on molecular studies complemented with morphological analyses, including descriptions of *Hypnea edeniana* sp. nov. and *H. flava* sp. nov. *European Journal of Phycology* 49: 550-575.
- NEI M. & KUMAR S. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York. 333 pp.
- NUNES J.M.C. 1998. Catálogo de algas marinhas bentônicas do estado da Bahia, Brasil. *Acta Botanica Malacitana* 23: 5 - 21.
- NUNES J.M.C. 2005. Rodofíceas marinhas bentônicas do estado da Bahia. Universidade de São Paulo, São Paulo. 410 pp.
- OLIVEIRA FILHO E.C. 1977. Algas marinhas bentônicas do Brasil. Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo, São Paulo. 406 pp.
- PACHECO M.R. 2011. Macroalgas marinhas associadas a bancos de rodólitos do infralitoral do Espírito Santo, Brasil. Universidade de São Paulo. São Paulo. 371 pp.
- PAYO D.A., LELIAERT F., VERBRUGGEN H., D'HONDT S., CALUMPONG H.P. & DE CLERCK O. 2013. Extensive cryptic species diversity and fine-scale endemism in the marine red alga *Portieria* in the Philippines. *Proceedings of the Royal Society B* 280: 1-8.
- PEČNIKAR Z.F. & BUZAN E.V. 2014. 20 years since the introduction of DNA barcoding: from theory to application. *Journal of Applied Genetics* 55: 43-52.
- PEDRINI A.G., DE-PAULA J.C. & BARRETO M.B.B. 1998. Algas bentônicas da Lagoa de Itaipu, Niterói, RJ, Brasil: composição taxonômica e variação espaço-temporal. In *IV Simpósio Latinoamericano de Ficologia*. pp. 379 - 387. Sociedade Ficológica da América Latina e Caribe, São Paulo.
- PEREIRA S.M.B., OLIVEIRA-FILHO E.C., ARAÚJO M.S., PAES E MELLO L.B., CARVALHO F. & CÂMARA NETO C. 1981. Prospecção dos bancos de algas marinhas do estado do Rio Grande do Norte, 2a parte - profundidade 10 - 45m. *Série, Brasil. SUDENE* 9: 27 - 81.
- PEREIRA S.M.B., CARVALHO M.F.O., ANGEIRAS J.A., PEDROSA M.E.B., OLIVEIRA N.M.B., TORRES J., GESTINARI L.M.S., CONCENTINO A.M., SANTOS M.D., NASCIMENTO P.R.F. & CAVALCANTI D.R. 2002. Algas marinhas bentônicas do estado de Pernambuco. In *Diagnóstico da biodiversidade de Pernambuco*.

- Secretaria de Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente*. (ed. by M. Tabarelli & J.M.C. Silva), pp. 97 - 124. Editora Massangana, Recife.
- PEREIRA S.M.B., RIBEIRO F.A. & BANDEIRA-PEDROSA M.E. 2007. Algas pluricelulares do infralitoral da praia de Gaibú (Pernambuco - Brasil). *Revista Brasileira de Biociências* 5: 951 - 953.
- PINHEIRO-JOVENTINO F. 1977. Morfologia, taxonomia e distribuição de *Cryptonemia* J. Agardh, no Brasil (Rhodophyta, Cryptonemiaceae). *Arquivos Ciências do Mar* 17: 1-19.
- PINHEIRO-JOVENTINO F. & OLIVEIRA-FILHO E.C. 1977. A new species of *Cryptonemia* from Brazil. *Arquivos de Ciências do Mar* 17: 49 - 51.
- PINHEIRO-JOVENTINO F., DANTAS N.P. & MARASCHIN C.D.H. 1998. Distribuição de algas marinhas no litoral de Fortaleza, Ceará, Brasil. *Arquivos Ciências do Mar* 31: 29 - 40.
- PRICE J.H., JOHN D.M. & LAWSON G.W. 1986. Seaweeds of the western coast of tropical Africa and adjacent islands: a critical assessment. IV. Rhodophyta (Florideae). 1. Genera A-F. *Bulletin of the British Museum (Natural History) Botany* 15: 1-122.
- PUESCHEL C.M. & COLE K.M. 1982. Rhodophycean pit plugs: an ultrastructural survey with taxonomic implications. *American Journal of Botany* 69: 703-720.
- RADULOVICI A.E., ARCHAMBAULT P. & DUFRESNE F. 2010. DNA Barcodes for marine biodiversity: moving fast forward? *Diversity* 2: 450 - 472.
- RATNASINGHAM S. & HEBERT P.D.N. 2007. BOLD: The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). *Molecular Ecology Notes* 7: 355-364.
- ROBBA L., RUSSELL S.J., BARKER G.L. & BRODIE J. 2006. Assessing the use of the mitochondrial *cox1* marker for use in DNA barcoding of red algae (Rhodophyta). *American Journal of Botany* 93: 1101 – 1108.
- SAUNDERS G.W. & KRAFT G.T. 1996. Small-subunit rRNA gene sequences from representatives of selected families of the Gigartinales and Rhodymeniales (Rhodophyta). 2. Recognition of the Halymeniales ord.nov. *Canadian Journal of Botany* 74: 694 - 707.
- SAUNDERS G.W. & KRAFT G.T. 2002. Two new Australian species of *Predaea* (Nemastomataceae, Rhodophyta) with taxonomic recommendations for an emended Nemastomatales and expanded Halymeniales. *Journal of Phycology* 38: 1245-1260.
- SAUNDERS G.W. & HOMMERSAND M.H. 2004. Assessing red algal supraordinal diversity and taxonomy in the context of contemporary systematic data. *American Journal of Botany* 91: 1494-1507.
- SAUNDERS G.W. 2005. Applying DNA barcoding to red macroalgae: a preliminary appraisal holds promise for future applications. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 360: 1879-1888.
- SAUNDERS G.W. 2008. A DNA barcode examination of the red algal family Dumontiaceae in Canadian waters reveals substantial cryptic species diversity. 1. The foliose *Dilsea*–*Neodilsea* complex and *Weeksia*. *Botany* 86: 773-789.
- SAUNDERS G.W. & MCDEVIT D.C. 2012. Methods for DNA barcoding photosynthetic protists emphasizing the macroalgae and diatoms. *Methods in Molecular Biology* 858: 207 -222.
- SAUNDERS G.W. & MOORE T.E. 2013. Refinements for the amplification and sequencing of red algal DNA barcode and RedToL phylogenetic markers: a summary of current primers, profiles and strategies. *Algae* 28: 31-43.

- SAUNDERS G.W. & MILLAR K.R. 2014. A DNA barcode survey of the red algal genus *Mazzaella* in British Columbia reveals overlooked diversity and new distributional records: descriptions of *M. dewreedei* sp. nov. and *M. macrocarpa* sp. nov. *Botany* 92: 223-231.
- SCHMITZ F. 1883. Untersuchungen über die Befruchtung der Florideen. *Sber Akad Wiss* 215-258.
- SCHMITZ F. 1889. Systematische Übersicht der bisher bekannten Gattungen der Florideen. *Flora oder Allgemeine botanische Zeitung* 72: 435-456.
- SCHMITZ F. 1892. [6. Klasse Rhodophyceae]. 2. Unterklasse Floridea. In *Syllabus der Vorlesungen über specielle und medicinisch-pharmaceutische Botanik. Eine Uebersicht über das gesammte Pflanzensystem mit Berücksichtigung der Medicinal- und Nutzpflanzen*. (ed. by A.E. Grosse Ausgabe. (Engler), pp. 16-23. Borntraeger, Berlin.
- SCHMITZ F. & HAUPTFLEISCH P. 1897. Rhodophyceae. In *Die natürlichen Pflanzensfamilien*. (ed. by A. Engler & K. Prantl), pp. 298-544. Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig.
- SCHNEIDER C.W. & SEARLES R.B. 1991. *Seaweeds of the southeastern United States. Cape Hatteras to Cape Canaveral*. Duke University Press, Durham & London. 563 pp.
- SCHNEIDER C.W., LANE C.E. & SAUNDERS G.W. 2010. Notes on the marine algae of the Bermudas. 11. More additions to the benthic flora and a phylogenetic assessment of *Halymenia pseudofloresii* (Halymeniales, Rhodophyta) from its type locality. *Phycologia* 49: 154-168.
- SCHNEIDER C.W., SAUNDERS G.W. & LANE C.E. 2014. The monospecific genus *Meredithia* (Kallymeniaceae, Gigartinales) is species rich and geographically widespread with species from temperate Atlantic, Pacific and Indian Oceans. *Journal of Phycology* 50: 167-186.
- SEN S., A.K., DAS A.K., BANERJI N., SIDDHANTA A.K., MODY K.H., RAMAVAT B.K., CHAUHAN V.D., VEDASIROMONI J.R. & GANGULY D.K. 1994. A new sulfated polysaccharide with potent anti-coagulant activity from the red seaweed *Grateloupia indica*. *International Journal of Biological Macromolecules* 16: 279 – 280.
- SHERWOOD A.R. & PRESTING G.G. 2007. Universal primers amplify a 23S rDNA plastid marker in eukaryotic algae and cyanobacteria. *Journal of Phycology* 43: 605–608.
- SILVA I.B. 2006. Diversidade de macroalgas marinhas bentônicas dos recifes de Maracajaú, Área de Preservação Ambiental dos Recifes de Corais, Rio Grande do Norte, Brasil. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande do Norte, Natal. 58 pp.
- SILVA I.B. 2010. Algas marinhas bentônicas dos recifes e ambientes adjacentes de Maracajaú, APA dos Recifes de Corais, RN, Brasil. Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo. 377 pp.
- SOARES L.P. 2015. Diversidade das rodofíceas marinhas bentônicas do estado do Ceará, Brasil, baseada em evidências morfológicas e moleculares. Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente. São Paulo. 339 pp.
- STAMATAKIS A., HOOVER P. & ROUGEMONT J. 2008. A Rapid Bootstrap Algorithm for the RAxML Web-Servers. *Systematic Biology* 75: 758-771.
- STOECKLE M. 2003. Taxonomy, DNA and the bar code of life. *BioScience* 53: 796 - 797.

- SZÉCHY M.T.M. & NASSAR C.A.G. 2005. Flora ficológica bentônica da Baía da Ribeira, sul do estado do Rio de Janeiro: avaliação após duas décadas de operação da Central Nuclear Almirante Álvaro Alberto. In *Reunião Brasileira de Ficologia 10, Formação de ficólogos: um compromisso com a sustentabilidade dos recursos aquáticos*. (ed. by O.S.B.d. Ficologia), pp. 361 – 372. Museu Nacional, Rio de Janeiro.
- TALARICO L.B., ZIBETTI R.G.M., FARIA P.C.S., SCOLARO L.A., DUARTE M.E.R., NOSEDA M.D., PUJOL C.A. & DAMONTE E.B. 2004. Anti-herpes simplex virus activity of sulfated galactans from the red seaweeds *Gymnogongrus griffithsiae* and *Cryptonemia crenulata*. *International Journal of Biological Macromolecules* 34: 63 - 71.
- TALARICO L.B., DUARTE M.E., ZIBETTI R.G., NOSEDA M.D. & DAMONTE E.B. 2007. An algal-derived DL-galactan hybrid is an efficient preventing agent for in vitro dengue virus infection. *Planta medica* 73: 1464 - 1468.
- TAMURA K., STECHER G., PETERSON D., FILIPSKI A. & KUMAR S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30: 2725-2729.
- TAN P.L., LIM P.E., PHANG S.M., DRAISMA S.G.A. & LIAO L.M. 2015. Foliose *Halymenia* species (Halymeniaceae, Rhodophyta) from Southeast Asia, including a new species, *Halymenia malaysiana* sp. nov. *Botanica Marina* 58: 203-217.
- TAOUIL A. & YONESHIGUE-VALENTIN Y. 2002. Alterações na composição florística das algas da Praia de Boa Viagem (Niterói, RJ). *Revista Brasileira de Botânica* 25: 405 - 412.
- TAYLOR W.R. 1960. *Marine algae of the eastern tropical and subtropical coasts of the Americas*. The University of Michigan Press, Ann Arbor. 870 pp.
- VERBRUGGEN H., MAGGS C.A., SAUNDERS G.W., LE GALL L., YOON H.S. & DE CLERCK O. 2010. Data mining approach identifies research priorities and data requirements of resolving the red algal tree of life. *BMC Evolutionary Biology*: 10 – 16.
- VERLAQUE M., BRANNOCK P.M., KOMATSU T., VILLALARD-BOHNSACK M. & MARSTON M. 2005. The genus *Grateloupia* C. Agardh (Halymeniaceae, Rhodophyta) in the Thau Lagoon (France, Mediterranean): a case study of marine plurispecific introductions. *Phycologia* 44: 477 – 496.
- WANG H., GUO S., ZHANG X., ZHAO D., ZHANG W. & LUAN R. 2014. Re-identifying *Grateloupia yangjiangensis* (Rhodophyta, Halymeniaceae) based on morphological observations, life history and rbcL sequence analyses. *Acta Oceanologica Sinica* 33: 77-84.
- WANG H.W., KAWAGUCHI S., HORIGUCH T. & MASUDA M. 2001. A morphological and molecular assessment of the genus *Prionitis* J. Agardh (Halymeniaceae, Rhodophyta). *Phycological Research* 49: 251-261.
- WILKES R.J., McIVOR L.M. & GUIRY M.D. 2005. Using rbcL sequence data to reassess the taxonomic position of some *Grateloupia* and *Dermocorynus* species (Halymeniaceae, Rhodophyta) from the north-eastern Atlantic. *European Journal of Phycology* 40: 53-60.
- WILLIAMS S. & SMITH J. 2007. A Global Review of the Distribution, Taxonomy, and Impacts of Introduced Seaweeds. *The Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 38: 327-359.
- WITHALL R.D. & SAUNDERS G.W. 2006. Combining small and large subunit ribosomal DNA genes to resolve relationships among orders of the Rhodymeniophycidae

- (Rhodophyta): recognition of the Acrosymphytales ord. nov. and Sebdeniales ord. nov. *European Journal of Phycology* 41: 379-394.
- WOLF M.A., SFRISO A. & MORO I. 2014. Thermal pollution and settlement of new tropical alien species: The case of *Grateloupia yinggehaiensis* (Rhodophyta) in the Venice Lagoon. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 147: 11-16.
- YANG M.M. & KIM M.S. 2014a. *Cryptonemia asiatica* sp. nov. (Halymeniaceae, Rhodophyta), a new marine macroalgal species from Korea and Japan. *Journal of Ecology and Environment* 37: 387-393.
- YANG M.Y., HAN E.G. & KIM M.S. 2013. Molecular identification of *Grateloupia elliptica* and *G. lanceolata* (Rhodophyta) inferred from plastid *rbcL* and mitochondrial COI genes sequence data. *Genes & Genomics* 35: 239-246.
- YANG M.Y. & KIM M.S. 2014b. Taxonomy of *Grateloupia* (Halymeniales, Rhodophyta) by DNA barcode marker analysis and a description of *Pachymeniopsis volvita* sp. nov. *Journal of Applied Phycology* 27: 1373-1384.
- YOKOYA N.S., GUIMARAES S.M.P.B. & HANDRO W. 1993. Development of callus-like structures and plant regeneration in thallus segments of *Grateloupia filiformis* Kützinger (Rhodophyta). *Hydrobiologia* 260/261: 407-413.
- YONESHIGUE-VALENTIN Y., FERNANDES D.R.P., PEREIRA C.B. & RIBEIRO S.M. 2005. Macroalgas da plataforma continental da Ilha da Trindade e do Arquipélago de Martin Vaz (ES - Brasil). In *Reunião Brasileira de Ficologia 10, 2004. Formação de ficólogos: um compromisso com a sustentabilidade dos recursos aquáticos.* (ed. by S.B.d. Ficologia), pp. 361 – 372. Museu Nacional do Rio de Janeiro, Salvador.
- YONESHIGUE-VALENTIN Y., LOIVOS A.M., SILVA R.C.C. & FERNANDES D.R.P. 2008. Contribuição ao conhecimento e preservação das algas multicelulares bentônicas do Costão dos Cavaleiros - Macaé, estado do Rio de Janeiro. *Iheringia* 63: 129 - 134.
- YONESHIGUE Y. 1985. Taxonomie et ecologie des algues marines dans la region de Cabo Frio, Rio de Janeiro, Bresil. L'Universite D'Aix-Marseille II, Luminy. 466 pp.
- ZEMKE-WHITE W.L. & OHNO M. 1999. World seaweed utilization: an end-of-century summary. *Journal of Applied Phycology* 11: 369 - 376.
- ZIBETTI R.G.M. 2005. Determinação da estrutura química de polissacarídeos isolados de algas pertencentes à ordem Halymeniales (Rhodophyta). Universidade Federal do Paraná, Paraná, Curitiba. 118 pp.

ANEXOS

ANEXO I
PROTOCOLO DE ESTUDO MORFOLÓGICO
Caracteres Vegetativos

Nº de Campo		Identificação preliminar	Identificação definitiva			
Cor:		Textura/ aspecto				
Estádio:						
Altura:		Largura das frondes	Ramificação			
Estipe:	Forma	Nervura				
	Comprimento					
Região Apical	Diâmetro	Apressório				
	Espessura	Medidas de células	Altura	Largura	Diâmetro	
	Espessura na nervura					
	Região subcortical					
	Região cortical	Medidas de células	Altura	Largura	Diâmetro	
	Região medular	Medidas de células	Altura	Largura	Diâmetro	
	Células ganglionares	Células estreladas				
Região Mediana	Espessura	Medidas de células	Altura	Largura	Diâmetro	
	Espessura na nervura					
	Região subcortical					
	Região cortical	Medidas de células	Altura	Largura	Diâmetro	
Região da Base	Região medular	Medidas de células	Altura	Largura	Diâmetro	
	Células ganglionares	Células estreladas				
	Espessura	Medidas de células	Altura	Largura	Diâmetro	
	Espessura na nervura					
	Região subcortical					
	Região cortical	Medidas de células	Altura	Largura	Diâmetro	
Região medular	Medidas de células	Altura	Largura	Diâmetro		
	Células ganglionares	Células estreladas				

ANEXO II
PROTOCOLO DE ESTUDO MORFOLÓGICO
Caracteres Reprodutivos

Nº de Campo	Identificação preliminar	Identificação Definitive
Cor:	Textura/ aspecto	
Estádio:		
Altura:	Largura das frondes	Ramificação
Espermatângios		Diâmetro
	Localização Desenvolvimento	
Ampola da célula auxiliar	Ramificação Desenvolvimento	
Ampola do Ramo carpogonial	Ramificação Desenvolvimento	
Cistocarpos		Diâmetro Gonimolobos
	Localização Pericarpo	
Tetrasporângios		Altura Diâmetro
	Desenvolvimento	
Observações		

ANEXO III

Manuscrito submetido ao periódico *Phycologia*.

**Diversity of branched *Halymenia* (Halymeniales, Rhodophyta) species on the
Brazilian coast: molecular and morphological analyses reveal three new species**

CAROLINA ANGÉLICA ARAÚJO DE AZEVEDO^{1*}, VALÉRIA CASSANO AND MARIANA
CABRAL OLIVEIRA

*Laboratório de Algas Marinhas Édson José de Paula, Departamento de Botânica,
Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, R. do Matão 277, 05508-090 São
Paulo, SP, Brazil*

Running title: Branched *Halymenia* species

* Corresponding author (caaazevedo@hotmail.com)

ABSTRACT: The diversity of branched *Halymenia* species in Brazil was assessed by molecular analyses and morphological examination to clarify the status of taxa previously identified as *Halymenia floresii* and *H. pseudofloresii*. Molecular tools included sequencing the COI-5P molecular marker for DNA barcoding and *rbcL* for phylogenetic inferences. Both molecular and morphological results demonstrated that Brazilian specimens previously attributed to *H. floresii* and *H. pseudofloresii* do not correspond to these species but constitute three distinct lineages that we propose as the new species, *Halymenia ignifera* sp. nov., *Halymenia pinnatifida* sp. nov., and *Halymenia silviae* sp. nov. We propose that *H. floresii* and *H. pseudofloresii* be removed from the Brazilian marine flora. We highlight that without the use of molecular tools, the morphological divergences observed in Brazilian specimens could be misinterpreted as morphological plasticity and lead to incorrect species determinations.

KEY WORDS: Brazilian coast, COI-5P, DNA barcoding, *Halymenia*, morphology, *rbcL*.

INTRODUCTION

Halymenia C.Agardh (Halymeniaceae, Rhodophyta) currently includes 76 accepted taxa (Guiry & Guiry 2016), inhabiting warm to temperate marine waters worldwide, but most species are tropical (Gargiulo *et al.* 1986; Abbott 1999; De Smedt *et al.* 2001; Lewmanomont & Kawaguchi 2002; Hernández-Kantún *et al.* 2012). The generitype, *Halymenia floresii* (Clemente) C.Agardh, was originally described as *Fucus floresius* by Clemente (1807) for specimens from Cádiz Bay, Spain. The epithet honored D. Francisco Flores, and, as noted by Schneider (2003), the orthography should be *floresii*. Later, Agardh (1817) described the new genus *Halymenia* and included *Fucus floresii* as one of its members, as *Halymenia 'floresia'*. Since then, the name *Halymenia*

floresia has been vastly applied in the literature to refer to *Halymenia floresii* (Taylor 1960; Dawes 1974; Oliveira Filho 1977; Gargiulo *et al.* 1986; Kawaguchi 2004).

Halymenia floresii has previously been considered a species with a wide geographic distribution in tropical waters, being recorded from Europe, several islands in the Atlantic, North America, Central America, Caribbean Islands, South America, Africa, Indian Ocean Islands, Asia, Australia, New Zealand and islands in the Pacific (Guiry & Guiry 2016). *Halymenia pseudofloresii* Collins & M.Howe (1916) was described for specimens from Bermuda that differed from *H. floresii* in being a deeper red colour, having a firmer consistency, a verruculose surface in older fronds, and a broader base. Its currently reported geographic distribution includes islands in the Atlantic and in the Caribbean, Western Atlantic, South America and Southeast Asia (Guiry & Guiry 2016). However, other studies have indicated that the distribution ranges of these entities can be much more restricted than previously thought because many records constitute misidentifications (Abbott 1999; De Smedt *et al.* 2001; Schneider *et al.* 2010; Hernández-Kantún *et al.* 2012).

After a morphological examination of *Halymenia* specimens from the southwestern Pacific, Abbott (1999) noted that specimens identified as *Halymenia floresii* lacked the anticlinal medullary filaments typical of the lectotype, and therefore, corresponded more closely to the morphologically similar *Halymenia durvillei* Bory. De Smedt *et al.* (2001) examined specimens from the Indo-Pacific attributed to *H. floresii* and, like Abbott (1999), did not observe features characteristic of the species, such as the absence of surface proliferations, a thin cortex, regular pinnate branching and 3-4 cortical cells layers. Therefore, they also suggested that the Indo-Pacific entity corresponded to *H. durvillei*.

Schneider *et al.* (2010) used molecular methods to demonstrate that records of *Halymenia floresii* in the Bermudian flora actually corresponded to morphological variants of *Halymenia pseudofloresii*. Hernández-Kantún *et al.* (2012), based on morphological and molecular assessments, removed *Halymenia floresii* from the Indo-Pacific flora. In addition, those authors demonstrated that *Halymenia floresii* subsp. *harveyana* (J.Agardh) Womersley & Lewis (type locality: Australia) did not join with *H. floresii* in molecular analyses and warranted recognition at the species level, for which they resurrected the name *Halymenia harveyana* J.Agardh.

These results raise the question of uncertainty of Brazilian records of *Halymenia* species. The first records of *Halymenia floresii* and *H. pseudofloresii* for Brazilian tropical waters date back to 1875 (Dickie 1875) and 1967 (Joly *et al.* 1967), respectively. Present records show these entities overlapping along northeastern and southeastern waters of Brazilian coasts, ranging from Ceará State to Rio de Janeiro State.

In this study we assessed Brazilian taxa referred to *Halymenia floresii* and *Halymenia pseudofloresii* through molecular and morphological analyses. Based on our results, we propose three new species: *Halymenia ignifera* sp. nov., *H. pinnatifida* sp. nov., and *H. silviae* sp. nov. to accommodate the taxa previously referred to as *H. floresii* and *H. pseudofloresii* from Brazil.

MATERIALS AND METHODS

This study included a total of 18 specimens collected along the Brazilian coast from 2012 to 2014 (Table S1). For each sample, a small piece of tissue was dehydrated in silica gel for molecular analyses, while the remaining material was preserved in 4% formalin/seawater or pressed as herbarium vouchers for morphological studies.

DNA extraction protocols followed Goff & Moon (1993) and Saunders & McDevit (2012). PCR protocol for the COI-5P followed Saunders & Moore (2013), with application of M13LF3-M13Rx or M13LF3-M13Ri primer pairs. *rbcL* molecular marker was amplified according to Freshwater *et al.* (1994) and Saunders & Moore (2013). Sequencing reactions were carried out by McGill University and Génome Québec Innovation Centre (Montréal, Canada) or followed Milstein *et al.* (2012).

Bi-directional reads were used to generate consensus sequences using Sequencher 5.0 (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI) or BioEdit 7.0.9.0 (Hall 1999). COI-5P multiple sequence alignments were constituted by 23 sequences, 611 bp in length. A search carried out at MEGA 5 software (Tamura *et al.* 2011) under the Bayesian Information Criterion (BIC) indicated the Tamura 3-parameter method (T92+G, G = 0.10) as the best nucleotide substitution model for the dataset. Neighbor-joining was conducted in MEGA 5 software in order to assign specimens to genetic species groups. Node supports were estimated after 1000 bootstrap replicates.

For each genetic group obtained with the Neighbor-joining method, *rbcL* data were generated as outlined above in order to investigate phylogenetic relationships. The *rbcL* alignment included a total of 42 sequences of 1259 bp length. We attempted to include representatives of all genera of Halymeniaceae according to the availability of *rbcL* sequences in BOLD and Genbank, and, whenever possible, sequences from generitype species collected at type localities. “*Tsengia lanceolata* AY294386 South Africa-Western Cape” was used as the outgroup. This alignment was submitted to Maximum Likelihood at the web-served RaxML Blackbox (Stamatakis *et al.* 2008), under the model GTR+G+I (by default). The *rbcL* alignment was partitioned by codon position (3 partitions). Bayesian Inference (BI) was used for phylogenetic analyses, performed with MrBayes v.3.0 beta 4 (Huelsenbeck & Ronquist 2001). Modeltest

version 3.06 (Posada & Crandall 1998) was used to select the most appropriate model of sequence evolution for BI analysis under the Akaike Information Criterion (AIC). The model selected was the general-time-reversible model of nucleotide substitution with invariant sites and gamma distributed rates for the variable sites (GTR+I+G). For BI two runs with four MCMC chains were carried out with 4 million generations and sampling every 1000 generations. The first 50,000 generations were discarded in both runs as burn-in to build the consensus tree. For both markers, pairwise distances were obtained at MEGA 5 software, considering all three codon positions, with 1,000 bootstrap replicates and removal of ambiguous positions for each sequence pair. For morphological examination, samples were sectioned by hand and stained with 1% aniline blue acidified with diluted 1% HCl. Squash preparations were made after immersion in diluted 1% HCl for 3-5 min. All measurements made with the optical microscope are given as length x width. Macroscopic images were taken with a Panasonic Lumix DMC-TS20 (Kadoma, Japan), while microscopic ones were captured with a Leica DFC 420 mounted on a Leica DM 4000B microscope (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany). In order to differentiate between ganglionic and stellate cells, we followed the definition adopted by Guimarães & Fujii (1998), which states that ganglionic cells consist of interconnected filaments with refractive contents, parallel to the thallus surface, while stellate cells display normal contents and are derived from the stretching of cells as the tissue matures. Vouchers were deposited in SPF (Herbarium of the University of São Paulo). Herbarium abbreviations follow the online Index Herbariorum (Thiers continuously updated).

RESULTS

The COI-5P Neighbor joining analysis (Fig. 1) indicated that specimens collected from the Brazilian coast belonged to three different genetic species groups. All three clades were resolved with moderate to high Bootstrap node support. None of the Brazilian samples matched authentic *H. floresii* or *H. pseudofloresii*, or any other species represented in molecular libraries. COI-5P intraspecific divergence ranged from 0.0-0.5%, 0.2% and 0.0-0.3% among representatives of *H. ignifera*, *H. pinnatifida* and *H. silviae*, respectively. Interspecific divergences values are shown in Table 1.

The phylogeny inferred from our *rbcL* analysis indicated that the Brazilian *Halymenia* lineages treated in this study resolved in the clade including the generitype *H. floresii*, indicating that they indeed corresponded to the genus *Halymenia* (Fig. 2). Divergences among lineages from Brazil and generitype sequences are shown in Table 1. Our *rbcL* phylogeny recovered the same pattern suggested by the COI-5P distance analysis, in which *Halymenia* species collected in Brazil and previously attributed to *H. floresii* and *H. pseudofloresii* actually corresponded to three molecularly divergent but morphologically similar lineages. In our *rbcL* phylogeny, *H. pinnatifida* and *H. silviae* were sister lineages with high support (99/1.00). These results led us to conclude that these entities corresponded to three different species, treated here as *Halymenia ignifera* sp. nov., *Halymenia pinnatifida* sp. nov. and *Halymenia silviae* sp. nov.

***Halymenia ignifera* C.A.A.Azevedo, Cassano & M.C.Oliveira sp. nov.**

Figs 3-16

DIAGNOSIS: Thallus with blades pinnately or palmately branched up to three orders, with rare surface proliferations mainly restricted to proximal regions and surface spines on distal regions. Marginal branchlets throughout or concentrated at basal region.

Blades up to 640 µm thick at base. 1-2 cell layers at inner cortex. Longitudinal filaments concentrated at outer medulla at basal region.

HOLOTYPE: Brazil, Rio Grande do Norte State, Rio do Fogo City, Rio do Fogo Beach. 5°15'56"S, 35°23'05"W. Drift material. (SPF 57817). GenBank KT807817 (COI-5P) and KT807829 (*rbcL*).

ETYMOLOGY: The epithet *ignifera* refers to Rio do Fogo Beach (= River of Fire Beach), the type locality; - *ignifera*, “bearing fire” or “containing fire”.

DISTRIBUTION: northeastern and southeastern Brazil.

Misapplied name for Brazil: Halymenia floresia sensu Taylor (1960, p. 418), Câmara-Neto (1971, p. 147), Oliveira-Filho (1977, p. 80), Guimarães (1990), Nunes (2005, p. 164, Fig. 184).

Morphology

Plants were erect, up to 55 cm high, mucilaginous, pinkish in color, ligulate blade, without midrib and arose from a small discoid holdfast approximately 2 mm in diameter. Basal region cuneate originated from a little differentiated stipe that was compressed-cylindrical in shape near the holdfast, 1.5-4.0 mm width. Main axes ranged from 2.0-5.0 cm wide in the basal regions to 0.5 cm wide at the apex, and were pinnately or palmately branched up to 3 orders, with distally tapering branches. Second-order branches were up to 6.0 cm long. Main axis with long and pinnately branched surface proliferations, especially at the proximal region, on both surfaces, reaching 9.5 cm long. Spine-like surface proliferations were present in the upper third of the blade, and marginal ones occurred in the basal region in some specimens. Marginal branchlets were abundant throughout thalli in some specimens, or common in the proximal region, but rare and shorter in the distal region in others.

In transverse section, thalli were 125-270 μm thick in the apical region, 350-460 μm in the middle and 420-640 μm in the basal region. Outer cortex with ellipsoidal cortical cells, arranged in 1-3 cell layers, measuring 7.5 - 12.5 x 5.0 - 7.5 μm in the apical region, 10.0-15.0 x 5.0-15.0 μm in the middle and 10.0 - 17.5 x 5.0 - 7.5 μm in the basal region. Inner cortex with 1-2 layers of rounded or slightly elongated cells, 17.5-25 μm wide throughout the thallus. Medulla with anticlinal filaments, 7.5 – 12.5 μm in diameter in the apical and middle regions, and 7.5-17.5 μm in diameter in the basal region. Medulla was lax in the apical region, denser in the middle region, and densely filled with anticlinal and intertwined filaments in the basal region. Longitudinal filaments, 7.5-10 μm in diameter were also present between inner cortex and medulla in the basal region. Ganglionic cells were present throughout the thallus. Stellate cells connected inner cortex cells and medullary filaments, 15-22.5 μm in diameter.

Auxiliary cell ampullae were sub-globular in shape, bushy and expanded with branched ampullary filaments. Lowermost cells of the ampullary filaments were cylindrical, elongated. Auxiliary cell was intercalary in the ampullary filament. Mature cystocarps were subspherical, totally immersed in thallus, disposed in the apical and middle regions, 85-132.5 μm in diameter, presenting two gonimolobes. Pericarp 180-230 μm in diameter. Cells between carposporangia and ampullary filaments with thickened walls. Tetrasporangia in outer cortex in the apical regions of the blade, cruciate, measuring 15-20 x 10 μm .

***Halymenia pinnatifida* C.A.A.Azevedo, Cassano & M.C.Oliveira sp. nov.**

Figs 17-26

DIAGNOSIS: Thallus with ligulate blades, pinnately branched up to three orders. Surface proliferations distributed throughout. Abundant marginal proliferations and spine-like

branchlets throughout. Blades up to 1275 µm thick at base. 1-2 cell layers at inner cortex. Longitudinal filaments concentrated at outer medulla at basal region.

HOLOTYPE: Brazil, Rio Grande do Norte State, Rio do Fogo City, Rio do Fogo Beach. 5°15'56"S, 35°23'05"W. Drift material. (SPF 57871). GenBank KT807811 (COI-5P) and KT807828 (*rbcL*).

ETYMOLOGY: The epithet refers to abundant pinnately arranged branchlets throughout the thallus; - *pinnatifida*, pinnately cleft (Stearn 1973).

DISTRIBUTION: northeastern Brazil.

Misapplied name for Brazil: Halymenia floresia sensu Taylor (1960, p. 418), Câmara-Neto (1971, p. 147), Oliveira-Filho (1977, p. 80), Guimarães (1990).

Morphology

Plants were erect, up to 26 cm in height, mucilaginous, pinkish in color, ligulate blade, without midrib and arose from a discoid holdfast approximately 5 mm in diameter.

Basal region cuneate originated from a little differentiated stipe that was compressed-cylindrical near holdfast, 2-3 mm width. Main axes ranged from 4.0 cm wide in the basal region and 0.5 cm wide at the apex, and were pinnately branched up to 3 orders, with distally tapering branches. Main axis presented long surface proliferations that reached 5.0 cm in height in the middle region and 0.5 cm in height in the apical region. Proliferations and spine-like marginal branchlets were very abundant throughout the thalli, in proximal and distal regions.

In transverse section, thalli were 110-140 µm thick in the apical region, 290-870 µm in the middle and 975-1275 µm in the basal region. Outer cortex with ellipsoidal or rectangular cells, arranged in 1-2 cell layers, measuring 7.5-10.0 x 2.5-5.0 µm in the apical region, 7.5-12.5 x 5.0-7.5 µm in the middle and 10.0-20.0 x 5.0-7.5 µm in the

basal region. Inner cortex with 1-2 cell layers of rounded or slightly elongated cells parallel to the cortex, 15.0-25.0 μm wide at both apical and middle regions, and 22.5-30.0 μm wide in the basal region. Medulla with anticlinal filaments, 5.0-10.0 μm in diameter in the apical region, 10.0-15.0 μm in diameter in the middle region and 7.5-17.5 μm in diameter in the basal region. Medulla was lax in the apical region, denser in the middle and densely filled with anticlinal and intertwined filaments in the basal region. Longitudinal filaments 7.5-10.0 μm in diameter were also present between medulla and inner cortex, in the basal region. Few ganglionic cells were present throughout the thalli. Stellate cells connected inner cortex cells and medullary filaments.

Tetrasporangia in outer cortex, numerous in the apical region and less abundant in the middle region, cruciate, 15.0-25.0 x 12.5-17.5 μm .

***Halymenia silviae* C.A.A.Azevedo, Cassano & M.C.Oliveira sp. nov.**

Figs 27-39

DIAGNOSIS: Thallus with blades foliose, lobate, cleft or irregularly branched with broad base. Surface proliferations irregularly distributed. Margins slightly dentate. 1-2 cell layers at inner cortex, inner cortex cells 7.5-25 μm in diameter.

HOLOTYPE: Brazil, Bahia State, Prado City, Corumbau Beach. 16°54'05"S, 39°07'10"W. Drift material. (SPF 57875). GenBank KT807814 (COI-5P).

ETYMOLOGY: The epithet honors Dr. Silvia Maria Pita de Beauclair Guimarães, a Brazilian phycologist, for her significant contributions to the knowledge of the Halymeniales from Brazil.

DISTRIBUTION: northeastern Brazil.

Misapplied name for Brazil: Halymenia pseudofloresii sensu Joly et al. (1967, p. 176, Pl. 1, Fig. 3 and Pl. 2, Fig. 6), Oliveira-Filho (1977, p. 81), Guimarães (1990).

Morphology

Plants were erect, up to 39 cm in height, pinkish in color, mucilaginous, broad, foliose and lobate blade, without midrib and arose from a discoid holdfast approximately 2 mm in diameter. Basal region cuneate originated from a compressed stipe up to 5 mm in height and 2 mm width. Fronds expanded rapidly from the basal to the middle region, reached up 12 cm width, and then narrowed toward the apex. Some thalli presented long lateral branches up to 7 cm long and 1 cm wide, tapering, pinnately arranged. Long surface proliferations were present. Surfaces presented no rugosities. Margins were slightly undulated and somewhat dentate. Branchlets were absent.

In transverse section, thalli were 142-280 μm thick in the apical region, 180-410 μm in the middle and 460-790 μm in the basal region. Outer cortex with ellipsoidal cells arranged in 1-2 cell layers, measuring 7.5-15.0 x 5.0-7.5 μm in both apical and middle regions, and 10.0-20.0 x 5.0-7.5 μm in the basal region. Inner cortex with 1-2 cell layers of rounded and slightly elongated cells 7.5-22.5 μm wide in the apical region, 12.5-25.0 μm wide in the middle and 17.5-27.5 μm wide in the basal region. Medulla with anticlinal filaments 7.5-12.5 μm in diameter in the apical region, 10.0-15.0 μm in diameter in the middle and 7.5-20.0 μm in diameter in the basal region. Medulla was lax in the apical region, denser in the middle and densely filled with anticlinal and intertwined filaments in the basal region. Few ganglionic cells were present throughout the thalli. Stellate cells connected inner cortical cells and medullary filaments.

Auxiliary cell ampullae were spherical in shape, 50-65 μm in diameter, very bushy and numerous in the apical region. Auxiliary cells were intercalary in the ampullary filament. Cystocarps subspherical, totally immersed in thallus, disposed in the apical and middle regions, 237.5 μm in diameter and presenting two gonimolobes.

Fusion cell was transversely elongated, 24 µm height and 6 µm wide. Tetrasporangia in outer cortex, abundant in the apical and middle regions, measuring 17.5-22.5 x 10.0-12.5 µm.

Key to the species of *Halymenia* covered in this study

- 1a. Branched ligulate foliose blade.....2
- 1b. Suborbicular, lobate or cleft foliose blade.....4
- 2a. Surface proliferations or spines absent; margins entire, with occasional spine-like process; inner cortex with 3-4 cell layers.....*Halymenia floresii*
- 2b. Surface proliferations or spines present; marginal branchlets present; inner cortex with 1-2 cell layers.....3
- 3a. Branching pattern pinnate or palmate; marginal branchlets throughout or concentrated at basal region; thalli 420-640 µm thick at base..... *Halymenia ignifera*
- 3b. Branching pattern pinnate; abundant marginal proliferations and spine-like branchlets throughout; thalli 975-1275 µm thick at base..... *Halymenia pinnatifida*
- 4a. Ganglionic cells absent..... *Halymenia brasiliana*
- 4b. Ganglionic cells present.....5
- 5a. Margins serrate or dentate, with proliferations; inner cortex cells 20-50 µm in diameter/width..... *Halymenia pseudofloresii*
- 5b. Margins slightly undulated and somewhat dentate; inner cortex cells 7.5-25 µm in diameter/width..... *Halymenia silviae*

DISCUSSION

Our molecular and morphological analyses demonstrated that Brazilian specimens that previously would have been attributed to *Halymenia floresii* or *H. pseudofloresii* do not

correspond to either species and actually constitute three different new species. The phylogenetic analysis included a sequence of *H. floresii* from Portugal (Genbank accession number GQ862071), close to Spain, Cádiz Bay, the type locality of *H. floresii*. It is important to note that this entity corresponds to the same entity occurring at the type locality, as demonstrated by our *rbcL* phylogeny (Fig. 2). In this sense, we can consider that we have a representative of the genuine *H. floresii* in our COI-5P analysis (Fig. 1). In addition, we also include *H. pseudofloresii* from Bermuda, its type locality (Genbank accession numbers GQ862072, GQ862073, GQ862074 and GQ862076).

Considering our COI-5P data, intraspecific divergence values (0.0-0.5%) are within the range of 0.0-1.6% previously reported for Halymeniaceae, while divergences among genetic groups (6.4-11.4%) are in agreement with values provided by prior studies (3.7-14%) (Yang & Kim 2014; Manghisi *et al.* 2015).

The application of both COI-5P and *rbcL* molecular markers has been considered an effective approach for species discrimination, recognition of cryptic species, and phylogenetic inferences (Kucera & Saunders 2012; Yang & Kim 2014). Corroborating the use of COI-5P as a DNA barcode marker, all of the genetic groups obtained with COI-5P data were assigned to distinct lineages in our *rbcL* phylogeny.

Regarding *rbcL* interspecific divergences, values presented here (2.8-5.6%) are within the range of 0.7-9.9% previously reported for Halymeniaceae (Hernández-Kantún *et al.* 2012; Yang *et al.* 2013; Calderon *et al.* 2014a; Calderon *et al.* 2014b; Tan *et al.* 2015). As in previous studies, our phylogeny shows a clade with moderate to high support that includes the generitype of *Halymenia*, *H. floresii*, as well as *Gelinaria ulvoidea* Sonder and *Epiphloea bullosa* (Harvey) DeToni, both representing monospecific genera. The possibility of subsuming these two entities into *Halymenia*

was mentioned by Yang *et al.* (2013). However, the genus *Halymenia* does not correspond to a monophyletic group (Hernández-Kantún *et al.* 2012; Yang *et al.* 2013; Kraft & Saunders 2013; Calderon *et al.* 2014b) and, consequently, the clarification of phylogenetic relationships within the Halymeniales requires further investigation.

Morphologically, our specimens of both *Halymenia ignifera* and *H. pinnatifida* agree with descriptions provided by Taylor (1960) and Guimarães (1990) for material identified as *H. floresii* collected on the Brazilian coast. However, when compared to lectotype material of *H. floresii* analyzed by Kawaguchi (2004), both *H. ignifera* and *H. pinnatifida* slightly diverge by: (i) branching up to three orders in Brazilian material, and up to four orders in the type; (ii) presence of surface proliferations that are absent in the type specimens; (iii) 1-2 cell layers in the outer cortex of our material, and 2-3 in the type; (iv) 1-2 cell layers in the inner cortex of our material, and 3-4 in the type. In addition, Kawaguchi (2004) did not mention the presence of longitudinal filaments in the basal region in the lectotype specimens, and it is not possible to visualize it from the pictures provided, which could be a consequence of the rehydrated material used by the author.

The longitudinal filaments observed between the inner cortex and medulla in the basal region of *H. ignifera* and *H. pinnatifida* are somewhat similar to the rhizoidal initial illustrated by Balakrishnan (1961) for *Halymenia polydactyla* Børgesen, currently a synonym of *Sebdenia flabellata* [\(J.Agardh\) P.G.Parkinson](#). However, the rhizoidal initials appear isolated and immersed in the medulla, and not concentrated in the outer medulla as in our material. The same author also observed longitudinal and slender rhizoids among medullary filaments of other species of *Halymenia* but did not illustrate those. In addition, Chiang (1970) described rhizoidal filaments in *Pachymenia carnosa* (J.Agardh) J.Agardh as long, non-septate filaments that grow in all directions and fuse

with cortical cells, which get slightly enlarged and whose cytoplasm becomes denser. We did not observe fusion of longitudinal filaments with cortical cells. De Clerck *et al.* (2005a, 2005b) illustrated rhizoidal filaments as dense longitudinal filaments that completely fill the basal medulla of species of *Grateloupia* C.Agardh and *Phyllymenia* J.Agardh. None of the previous descriptions of rhizoidal filaments completely match the structures that we observed in this study; so we opt to call them longitudinal filaments.

In his investigation of the marine flora of the Atlantic tropical and subtropical coasts of the Americas, Taylor (1960) considered specimens of *H. floresii* from Caribbean and Brazil and stated that this species has several orders of branching and filiform apical regions. According to Taylor, *H. pseudofloresii*, only collected from Bermuda, does not have a uniform branching pattern and presents a dentate, broad distal region. Taxa named in this study as *H. ignifera* and *H. pinnatifida* corroborate the description by Taylor (1960) for *H. floresii* in aspects such as thallus height, width at main divisions and presence of marginal branchlets. Taylor (1960), however, stated that he found individuals with few branchlets, but also very bushy specimens. It is possible to note that *H. pinnatifida* has more abundant branchlets than *H. ignifera*. We therefore suspect that Taylor (1960) considered representatives of these two entities as a single species.

In a comparison of *H. ignifera* and *H. pinnatifida*, these lineages differ by: (i) surface proliferations more evenly distributed throughout the thalli in *H. pinnatifida*; (ii) marginal branchlets much more abundant in *H. pinnatifida*; (iii) thicker thalli in proximal region of *H. pinnatifida* (975-1275 μm), in comparison to *H. ignifera* (420-640 μm). These differences in thallus thickness are consistent especially because in *H. ignifera* we found individuals longer (55 cm) than in *H. pinnatifida* (26 cm).

Our specimens of *H. silviae* agree with descriptions of *H. pseudofloresii* provided by Collins & Howe (1916), Taylor (1960), Joly *et al.* (1967) and Guimarães (1990) in the following: (i) general aspect; (ii) stipe size; (iii) thallus height; (iv) width at main divisions; (v) sparse anticlinal medullary filaments; (vi) medullary filaments diameter; and (vii) infrequent ganglionic cells. Some of our specimens have entire margins, but others present somewhat dentate margins and marginal proliferations, described as abundant by Collins & Howe (1916) and Taylor (1960) for Bermudian material. These numerous marginal branchlets are also reported by Dawes (1974) for *H. pseudofloresii* from Florida. Another difference between Brazilian material and type specimens of *H. pseudofloresii* is the smaller ellipsoidal inner cortical cells (Brazilian material: 7.5-25 μm ; Type material: 20-50 μm).

When *Halymenia silviae* is compared to the foliose *Halymenia brasiliiana* S.M.Guimarães & M.T.Fujii, the observed divergences are the following: (i) surface with proliferations and without rugosities in the former and surface with rugosities and without proliferations in the latter; (ii) ganglionic cells present in *H. silviae* and absent in *H. brasiliiana*; (iii) inner cortex cells diameter or width smaller in the former (7.5-25 μm , and 20-45 μm in *H. brasiliiana*) (Guimarães & Fujii 1998).

Vegetative construction was quite different according to the thallus portion sectioned in all specimens observed. Blade thickness, cortical cells size and in particular the abundance and diameter of medullary filaments all diminished from proximal to distal regions. Some studies do not specify the thallus region that was observed (Collins & Howe 1916; Joly *et al.* 1967; Taylor 1960), which can limit comparisons. We thus advocate that a complete approach of vegetative anatomy of Halymeniales should include observations of three regions of the thallus (apical, middle and basal).

The genus *Halymenia* presents mucilaginous to softly cartilaginous thalli; these may be cylindrical or foliose, narrowed or wide fronds, or entire, cleft or branched (Taylor 1960; Guiry & Guiry 2016). Several authors consider vegetative features more relevant than reproductive ones for species delimitation within *Halymenia* (Dawson 1954; Abbott 1967; Guimarães & Fujii 1998; Hernández-Kantún *et al.* 2012).

Diagnostic criteria include thallus consistency; habit (terete or flattened); thallus size, with particular regard to blade width; branch shape (lanceolate, orbicular or pinnate) and number of orders of branching; presence or absence of a midrib in the basal region; stipe shape and size; presence or absence of marginal proliferations; presence or absence and abundance of papillae or spines on thallus surface; shape of cells in inner cortex; cortex thickness; and presence or absence of ganglionic cells (Dawson 1954; Abbott 1967; Guimarães & Fujii 1998; Hernández-Kantún *et al.* 2012)

In summary, the primary vegetative features that are considered diagnostic to the species treated here are the following: habit, branching pattern and orders of branching, presence of surface proliferations or spines, characteristics of blade margins, presence of ganglionic cells, thickness of thalli, number of cell layers in inner cortex and inner cortex cells size (Table 2). All of them have been considered taxonomically informative for species discrimination of *Halymenia* by previous studies (Guimarães & Fujii 1998; De Smedt *et al.* 2001; Hernández-Kantún *et al.* 2012; Tan *et al.* 2015).

Regarding reproductive aspects, the general outline of auxiliary cell ampullae described here, i.e. bushy subglobular or spherical ampullas, as well as cystocarps and tetrasporangia features, are in accordance with those that have been mentioned for *Halymenia* species by Balakrishnan (1961), Chiang (1970), Guimarães & Fujii (1998) and Kawaguchi (2004). Male reproductive structures and carpogonial branch ampullae were not found in this study, and consequently remain to be described.

Despite the absence of some reproductive structures, we consider that the observation of vegetative morphology and the use of molecular markers enable us to identify the new species described here. In conclusion, we propose the removal of *H. floresii* and *H. pseudofloresii* from the Brazilian marine flora and stress that without the use of molecular tools, the morphological divergences described here could be considered as merely a result of morphological plasticity. Our results reinforce the important role of molecular methods in the investigation of red algal diversity.

Acknowledgments

This study was supported by FAPESP (2011/19.225-7; 2013/11.833-3). We are grateful for the support provided by Gary W. Saunders, Tanya Moore and the Saunders' lab staff during molecular procedures. We thank M. J. Wynne and E.C. Oliveira for helping with Latin nomenclature. We thank M. J. Wynne, two anonymous reviewers and the editor for their significant contributions that substantially improved the manuscript. V. Urrea-Victoria is acknowledged for photographic support.

References

- ABBOTT I.A. 1967. Studies in some foliose red algae of the Pacific coast. I. Cryptonemiaceae. *Journal of Phycology* 3: 139-149.
- ABBOTT I.A. 1999. Notes on some species of *Halymenia* in the southwestern Pacific. In *Taxonomy of economic seaweeds with reference to some Pacific species*. (ed. by I.A. Abbott), pp. 163-172. California Sea Grant College System, La Jolla, California.
- AGARDH C.A. 1817. *Synopsis algarum Scandinaviae, adjecta dispositione universali algarum*. Ex officina Berlingiana, Lundae [Lund]. [i]-xl, [1]-135 pp.

- BALAKRISHNAN M.S. 1961. Studies on Indian Cryptonemiales III. *Halymenia* C. A. Ag. *Journal of the Madras University, Section B* 31: 183-217.
- CALDERON M.S., BOO G.W. & BOO S.M. 2014a. Morphology and phylogeny of *Ramirezia osornoensis* gen. & sp. nov. and *Phyllymenia acletoi* sp. nov. (Halymeniales, Rhodophyta) from South America. *Phycologia* 53: 23-36.
- CALDERON M.S., BOO G.H. & BOO S.M. 2014b. *Neorubra decipiens* gen. & comb. nov. and *Phyllymenia lancifolia* comb. nov. (Halymeniales, Rhodophyta) from South America. *Phycologia* 53: 409-422.
- CÂMARA-NETO C. 1971. Primeira contribuição ao inventário das algas marinhas bentônicas do litoral do Rio Grande do Norte. *Boletim do Departamento de Oceanografia e Limnologia. Universidade Federal do Rio Grande do Norte* 5: 137-154.
- CHIANG Y.M. 1970. Morphological studies of red algae of the family Cryptonemiaceae. *University of California Publications in Botany* 58: 1-95.
- CLEMENTE R. 1807. *Ensayo sobre las variedades de la vid comun que vegetan en Andalucía, con un índice etimológico y tres listas de plantas en que se caracterizan varias especies nuevas, por Don Simon de Roxas Clemente y Rubio*. En la imprenta de Villalpando, Madrid. 324 pp.
- COLLINS F.S. & HOWE M.A. 1916. Notes on species of *Halymenia*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 43: 169-182.
- DAWES C.J. 1974. *Marine algae of the west coast of Florida*. University of Miami Press., Coral Gables, Florida. 201 pp.
- DAWSON E.Y. 1954. Marine red algae of Pacific Mexico Part 2. Cryptonemiales (contd.). *Allan Hancock Pacific Expeditions* 17: 241-398.

- DE CLERCK O., GAVIO B., FREDERICQ S., COCQUYT E. & COPPEJANS E. 2005a. Systematic reassessment of the red algal genus *Phyllymenia* (Halymeniaceae, Rhodophyta). *European Journal of Phycology* 40: 169 – 178.
- DE CLERCK O., GAVIO B. & FREDERICQ S. 2005b. Systematics of *Grateloupia filicina* (Halymeniaceae, Rhodophyta), based on *rbcL* sequence analyses and morphological evidence, including the reinstatement of *Grateloupia minima* and the description of *Grateloupia capensis* sp. nov. *Journal of Phycology* 41.
- DE SMEDT G., DE CLERCK O., LELIAERT F., COPPEJANS E. & LIAO L.M. 2001. Morphology and systematics of the genus *Halymenia* C. Agardh (Halymeniales, Rhodophyta) in the Philippines. *Nova Hedwigia* 73: 293–322.
- DICKIE G. 1875. Enumeration of algae collected from Bahia, collected by H.N. Mosely, M.A. naturalist, to H.M.S. “Challenger”. *Journal of the Linnean Society of London (Botany)* 14: 1-377.
- 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.
- GARGIULO G.M., DE MASI F. & TRIPODI G. 1986. Structure and reproduction of *Halymenia asymmetrica* sp. nov. (Rhodophyta) from the Mediterranean Sea. *Phycologia* 25: 144-151.
- GOFF L.J. & MOON D.A. 1993. PCR amplification of nuclear and plastid genes from algal herbarium specimens and algal spores. *Journal of Phycology* 29: 381-384.
- GUIMARÃES S.M.P.B. 1990. Rodofíceas marinhas bentônicas do Estado do Espírito Santo: ordem Cryptonemiales. Universidade de São Paulo. São Paulo. 275 pp.

- GUIMARÃES S.M.P.B. & FUJII M.T. 1998. Two species of foliose *Halymenia* (Halymeniaceae, Rhodophyta) from Brazil. *Botanica Marina* 41: 495-504.
- GUIRY M.D. & GUIRY G.M. 2016. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>, 12 February 2016.
- HALL T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95-98.
- HERNÁNDEZ-KANTÚN J.J., SHERWOOD A.R., RIOSMENA-RODRÍGUEZ R., HUISMAN J.M. & DE CLERCK O. 2012. Branched *Halymenia* species (Halymeniaceae, Rhodophyta) in the Indo-Pacific region, including descriptions of *Halymenia hawaiiiana* sp. nov. and *H. tondoana* sp. nov. *European Journal of Phycology* 47: 421-432.
- HUELSENBECK J.P. & RONQUIST F.R. 2001. MrBayes: bayesian inference of phylogeny. *Biometrics* 17: 754-755.
- JOLY A.B., UGADIM Y., OLIVEIRA FILHO E.C. & CORDEIRO MARINO M. 1967. Additions to the marine flora of Brazil VI. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, Série Botânica* 22: 171-194.
- KAWAGUCHI S. 2004. Morphological observations of the type and some authentic material of *Halymenia floresia* (Clemente y Rubio) C. Agardh, with notes on previous reports of this alga. In *Taxonomy of economic seaweeds with reference to the Pacific and other locations*. (ed. by I.A. Abbott & K.J. McDermid), pp. 143-156.
- KRAFT L.G. & SAUNDERS G.W. 2013. Systematic investigation of the red algal order Halymeniales (Florideophyceae, Rhodophyta) in Australia. *Phycologia* 52: 56.

- KUCERA H. & SAUNDERS G.W. 2012. A survey of Bangiales (Rhodophyta) based on multiple molecular markers reveals cryptic diversity. *Journal of Phycology* 48: 869-882.
- LEWMANOMONT K. & KAWAGUCHI S. 2002. Foliose *Halymenia* (Halymeniaceae, Cryptonemiales, Rhodophyta) from Thailand. In *Taxonomy of economic seaweeds with reference to some Pacific species*. (ed. by I.A. Abbott & K.J. McDermid), pp. 267-277. California Sea Grant College Program, La Jolla, CA.
- MANGHISI A., MORABITO M., BOO G.H., BOO S.M., BONILLO C., DE CLERCK O. & LE GALL E. 2015. Two novel species of *Yonagunia* (Halymeniales, Rhodophyta) were uncovered in the South of Madagascar during the Atimo-Vatae Expedition. *Cryptogamie, Algologie* 36: 199-217.
- MILSTEIN D., MEDEIROS A.S., OLIVEIRA E.C. & OLIVEIRA M.C. 2012. Will a DNA barcoding approach be useful to identify *Porphyra* species (Bangiales, Rhodophyta)? *Journal of Applied Phycology* 24: 837-845.
- NUNES J.M.C. 2005. Rodofíceas marinhas bentônicas do estado da Bahia. Universidade de São Paulo, São Paulo. 410 pp.
- OLIVEIRA FILHO E.C. 1977. Algas marinhas bentônicas do Brasil. Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo, São Paulo. 406 pp.
- POSADA D. & CRANDALL K.A. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14: 817-818.
- SAUNDERS G.W. & MCDEVIT D.C. 2012. Methods for DNA barcoding photosynthetic protists emphasizing the macroalgae and diatoms. *Methods in Molecular Biology* 858: 207 -222.

- SAUNDERS G.W. & MOORE T.E. 2013. Refinements for the amplification and sequencing of red algal DNA barcode and RedToL phylogenetic markers: a summary of current primers, profiles and strategies. *Algae* 28: 31-43.
- SCHNEIDER C.W. 2003. An annotated checklist and bibliography of the marine macroalgae of the Bermuda Islands. *Nova Hedwigia* 76: 275-361.
- SCHNEIDER C.W., LANE C.E. & SAUNDERS G.W. 2010. Notes on the marine algae of the Bermudas. 11. More additions to the benthic flora and a phylogenetic assessment of *Halymenia pseudofloresii* (Halymeniales, Rhodophyta) from its type locality. *Phycologia* 49: 154-168.
- STAMATAKIS A., HOOVER P. & ROUGEMONT J. 2008. A rapid bootstrap algorithm for the RAxML web-servers. *Systematic Biology* 75: 758-771.
- STEARNS W.T. 1973. *Botanical latin. history, grammar, syntax, terminology and vocabulary*. David & Charles, Newton Abbott. 566 pp.
- TAMURA K., PETERSON D., PETERSON N., STECHER G., NEI M. & KUMAR S. 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731–2739.
- TAN P.L., LIM P.E., LIN S.M., PHANG S.M., DRAISMA S.G.A. & LIAO L.M. 2015. Foliose *Halymenia* species (Halymeniaceae, Rhodophyta) from Southeast Asia, including a new species, *Halymenia malaysiana* sp. nov. *Botanica Marina* 58: 203-217.
- TAYLOR W.R. 1960. *Marine algae of the eastern tropical and subtropical coasts of the Americas*. The University of Michigan Press, Ann Arbor. 870 pp.

THIERS B. continuously updated. Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. <http://sweetgum.nybg.org/science/ih/>, 04 November 2015.

YANG M.Y., HAN E.G. & KIM M.S. 2013. Molecular identification of *Grateloupia elliptica* and *G. lanceolata* (Rhodophyta) inferred from plastid *rbcL* and mitochondrial COI genes sequence data. *Genes & Genomics* 35: 239-246.

YANG M.Y. & KIM M.S. 2014. Taxonomy of *Grateloupia* (Halymeniales, Rhodophyta) by DNA barcode marker analysis and a description of *Pachymeniopsis volvita* sp. nov. *Journal of Applied Phycology* 27: 1373-1384.

Fig. 1. Relationships among Brazilian *Halymenia* based on COI-5P Neighbor-joining. Numbers at nodes correspond to bootstrap support for 1000 replicates. Values below 50 are not shown.

Fig. 2. Phylogeny of Halymeniaceae inferred from *rbcL* molecular marker. Numbers at nodes correspond respectively to bootstrap support for Maximum Likelihood and Posterior Probabilities for Bayesian Inference analyses. Values under 50 are not shown. Sequences in bold were generated in this study.

Figs 3-16. *Halymenia ignifera* sp. nov. Vegetative and reproductive morphology.

Fig. 3. General aspect of holotype specimen (SPF 57817). Scale bar: 5 cm.

Fig. 4. General aspect of pinnately branched specimen (SPF 57865). Scale bar: 5 cm.

Fig. 5. General aspect of palmately branched specimen (SPF 57866). Scale bar: 5 cm.

Fig. 6. Detail of a second order branch palmately branched (SPF 57866). Scale bar: 2 cm.

Fig. 7. Detail of proximal region. Stipe and holdfast not visible. Arrows indicate abundant surface proliferations (SPF57784). Scale bar: 2 cm.

Fig. 8. Transverse section in apical blade portion showing thin cortex and lax medulla. Arrows indicate anticlinal medullary filaments (SPF 57815). Scale bar: 50 μ m.

Fig. 9. Transverse section in mid blade showing thin cortex and lax medulla. Arrows indicate stellate cells connecting inner cortex cells and medullary filaments (SPF 57817). Scale bar: 100 μ m.

Fig. 10. Transverse section in mid blade showing ganglionic cell (arrow) (SPF57784). Scale bar: 300 μ m.

Fig. 11. Transverse section in mid blade showing ganglionic cell (arrow) and stellate cell (arrowhead) (SPF57784). Scale bar: 50 μm .

Fig. 12. Transverse section in basal blade portion. Arrows indicate longitudinal filaments concentrated in outer medulla while arrowhead indicates intertwined medullary filaments (SPF 57815). Scale bar: 50 μm .

Fig. 13. Cup-shaped, flat, expanded and dense auxiliary cell ampulla in apical portion of blade. Arrow indicates an ampullar filament (SPF 57817). Scale bar: 50 μm .

Fig. 14. Transverse section in apical blade portion showing totally embedded cystocarp. Arrow indicates carposporophyte and arrowhead indicates cells with thickened wall between carposporangia and ampullar filaments (SPF 57817). Scale bar: 100 μm .

Fig. 15. Transverse section in mid blade showing mature cystocarp. Arrow indicates carposporophyte and arrowhead indicates surrounding filaments that correspond to the pericarp (SPF 57817). Scale bar: 100 μm .

Fig. 16. Transverse section in mid blade showing a mature cruciate tetrasporangia (arrow) (SPF 57815). Scale bar: 50 μm .

Figs 17-26. *Halymenia pinnatifida* sp. nov. Vegetative and reproductive morphology.

Fig. 17. General aspect of holotype specimen (SPF 57871). Scale bar: 5 cm.

Fig. 18. General aspect (SPF 57872). Scale bar: 5 cm.

Fig. 19. Transverse section in apical blade portion showing thin cortex and lax medulla (SPF 57872). Scale bar: 100 μm .

Fig. 20. Squash preparation in apical blade portion showing ganglionic cell (SPF 57871). Scale bar: 50 μm .

Fig. 21. Transverse section in mid blade showing thin cortex and lax medulla (SPF 57872). Scale bar: 300 μm .

Fig. 22. Transverse section in mid blade showing stellate cell (arrow) (SPF 57871).

Scale bar: 50 μm .

Fig. 23. Transverse section in basal portion of blade. Arrows indicate longitudinal filaments concentrated in outer medulla (SPF 57872). Scale bar: 50 μm .

Fig. 24. Squash preparation in middle of blade showing immature tetrasporangia (arrow) (SPF 57871). Scale bar: 50 μm .

Fig. 25. Squash preparation in middle of blade showing immature tetrasporangia (arrow) (SPF 57871). Scale bar: 50 μm .

Fig. 26. Squash preparation in middle of blade showing mature cruciate tetrasporangia (arrow) (SPF 57871). Scale bar: 50 μm .

Figs 27-39. *Halymenia silviae* sp. nov. Vegetative and reproductive morphology.

Fig. 27. General aspect of holotype specimen (SPF 57875). Scale bar: 2 cm.

Fig. 28. General aspect (SPF 57814). Scale bar: 2 cm.

Fig. 29. Transverse section in apical portion of blade showing thin cortex and lax medulla (SPF 57875). Scale bar: 50 μm .

Fig. 30. Transverse section in mid blade showing thin cortex and lax medulla.

Arrowhead and arrows indicate inner cortex cells and stellate cells, respectively (SPF 57875). Scale bar: 50 μm .

Fig. 31. Transverse section in mid blade showing ganglionic cell (arrow) (SPF 57814). Scale bar: 50 μm .

Fig. 32. Transverse section (damaged by HCl) in mid blade showing ganglionic filaments (arrows) and medullary filaments (arrowheads) (SPF 57814). Scale bar: 50 μm .

Fig. 33. Transverse section (damaged by HCl) in mid blade showing ganglionic cell (arrow) and stellate cells (arrowheads) (SPF 57814). Scale bar: 50 μm .

Fig. 34. Transverse section in basal blade portion showing thin cortex and intertwined medullary filaments (SPF 57873). Scale bar: 300 μm .

Fig. 35. Transverse section in apical portion of blade showing cup-shaped and dense auxiliary cell ampulla. Arrow indicates auxiliary cell and arrowhead indicates ampullary filaments (SPF 57873). Scale bar: 50 μm .

Fig. 36. Transverse section in mid blade showing developing carposporophyte. Arrow, arrowhead and double-arrow indicate fusion cell, gonimoblast initial and pericarp filament, respectively (SPF 57873). Scale bar: 300 μm .

Fig. 37. Transverse section in mid blade showing mature totally immersed cystocarp. Arrow indicates carposporophyte and arrowhead indicates connecting filament attached to auxiliary cell (SPF 57873). Scale bar: 300 μm .

Fig. 38. Transverse section in mid blade showing immature tetrasporangia (arrow) immersed in outer cortex (SPF 57875). Scale bar: 50 μm .

Fig. 39. Transverse section in mid blade showing cruciate-decussate tetrasporangia (arrow) immersed in outer cortex. Arrowhead indicates inner cortex cells (SPF 57875). Scale bar: 50 μm .

Table 1. Divergences expressed as p-distance percentages values for lineages from Brazil and sequences from specimens collected at type localities. The lower left figures correspond to COI-5P values, while the upper right figures are *rbcL* values.

	1	2	3	4	5
1. <i>Halymenia floresii</i> Portugal	-	3.0	4.2	5.4	4.7
2. <i>Halymenia pseudofloresii</i> Bermuda	7.4-7.5	-	4.0	5.2	4.5
3. <i>Halymenia ignifera</i> sp. nov.	8.7-9.0	6.4-6.8	-	5.6	4.9
4. <i>Halymenia pinnatifida</i> sp. nov.	11.1	9.7-9.9	10.5-11.0	-	2.8
5. <i>Halymenia silviae</i> sp. nov.	10.6-11.1	9.0-9.5	9.8-10.9	11.0-11.4	-

Table 2. Comparison of vegetative aspects among authentic *H. floresii* and *H. pseudofloresii* and species described in this study.

Vegetative aspect	Species					
	<i>H. floresii</i>	<i>H. pseudofloresii</i>	<i>H. brasiliana</i>	<i>H. ignifera sp. nov.</i>	<i>H. pinnatifida sp. nov.</i>	<i>H. silviae sp. nov.</i>
Habit	Ligulate foliose	Suborbicular, ovate,	Suborbicular, elliptic or	Ligulate foliose	Ligulate foliose	Foliose, lobate or cleft
	Blade	lobate or irregular foliose blade	irregularly lobed foliose blade	blade	blade	blade
Branching pattern	Irregular or pinnate, up to 3-4 orders	Irregular -	Some plants lacinate -	Pinnate or palmate, up to 3 orders	Pinnate, up to 3 orders	Irregular -
Stipe shape and size	Cylindrical 3-5 mm height width not determined	Not determined 5-10 mm height 1-2 mm thick	Little differentiated, compressed, few mm long	Little differentiated, compressed-cylindrical near holdfast, with 1.5-4 mm width	Little differentiated, compressed-cylindrical near holdfast, with 2-3 mm width	Compressed 5 mm height 2 mm width
Surface proliferations or spines	Absent	Not determined	Absent	Few and mainly restricted to proximal region. Surface spines on distal region	Present at proximal and distal regions	Surface proliferations present
Margins	Mostly entire, with occasional spine-like Process	Serrate or dentate and with proliferations	Undulated, with or without irregularities	Marginal branchlets throughout or concentrated at basal region	Abundant marginal proliferations and spine-like branchlets throughout	Margins slightly undulated and somewhat dentate
Ganglionic cells	Present	Few and inconspicuous	Absent	Few, but present throughout	Few, but present throughout	Few, but present throughout
Thalli height (cm)	Not determined	30	60	55	26	39
Thalli thickness (µm)		50-450*	200-1400*			
Apical	Not determined			125-210	110-140	142-280
Middle	Not determined			350-460	290-870	180-410

Basal	Not determined			420-640	975-1275	460-790
Number of cell layers	3-4	Not determined	1-2	1-2	1-2	1-2
at inner cortex						
Inner cortex cells (μm)	Not determined	20-50	20-45	17.5-25	15-30	7.5-25
diameter or width						
Longitudinal filaments	Not determined	Not determined	Not determined	Present	Present	Absent
at basal medulla						
References	Kawaguchi 2004	Collins & Howe 1916	Guimarães & Fujii 1998	This study	This study	This study

Table S1. Collection details and GenBank accession numbers of samples included in this study.

Voucher	Species	Collection Data	GenBank	
			COI-5P	<i>rbcL</i>
SPF 57817	<i>H. ignifera</i>	Rio do Fogo Beach, Rio do Fogo, RN, Brazil (5°15'56"S; 35°23'05"W). 13Jan.2013, drift material, female gametophyte, leg. C.A.A. Azevedo and R.F. Menezes	KT807817	KT807829
SPF 57815	<i>H. ignifera</i>	Rio do Fogo Beach, Rio do Fogo, RN, Brazil (5°15'56"S; 35°23'05"W). 13Jan.2013, drift material, tetrasporophyte, leg. C.A.A. Azevedo and R.F. Menezes	KT807808	KT807826
SPF 57784	<i>H. ignifera</i>	Itaoca Beach, Itapemirim, ES, Brazil (20°54'19"S; 40°46'41"W). 06May2012, drift material, infertile, leg. B. Torrano-Silva, C. Iha and F. Nauer	KT807819	KT807830
SPF 57865	<i>H. ignifera</i>	Rio do Fogo Beach, Rio do Fogo, RN, Brazil (5°15'56"S; 35°23'05"W). 13Jan.2013, drift material, leg. C.A.A. Azevedo and R.F. Menezes	KT807810	-
SPF 57866	<i>H. ignifera</i>	Rio do Fogo Beach, Rio do Fogo, RN, Brazil (5°15'56"S; 35°23'05"W). 13Jan.2013, drift material, leg. C.A.A. Azevedo and R.F. Menezes	KT807815	-
SPF 57867	<i>H. ignifera</i>	Rio do Fogo Beach, Rio do Fogo, RN, Brazil (5°15'56"S; 35°23'05"W). 13Jan.2013, drift material, leg. C.A.A. Azevedo and R.F. Menezes	KT807821	-
SPF 57868	<i>H. ignifera</i>	Rio do Fogo Beach, Rio do Fogo, RN, Brazil (5°15'56"S; 35°23'05"W). 13Jan.2013, drift material, leg. C.A.A. Azevedo and R.F. Menezes	KT807824	-
SPF 57869	<i>H. ignifera</i>	Rio do Fogo Beach, Rio do Fogo, RN, Brazil (5°15'56"S; 35°23'05"W). 13Jan.2013, drift material, leg. C.A.A. Azevedo and R.F. Menezes	KT807825	-
SPF 57870	<i>H. ignifera</i>	Ponta Grossa Beach, Icapuí, CE, Brazil (4°37'35"S; 37°29'53"W). 27Apr.2013, drift material, leg. C.A.A. Azevedo and T. Vieira-Pinto	KT807813	-
SPF 57871	<i>H. pinnatifida</i>	Rio do Fogo Beach, Rio do Fogo, RN, Brazil (5°15'56"S; 35°23'05"W). 13Jan.2013, drift material, tetrasporophyte, leg. C.A.A. Azevedo and R.F. Menezes	KT807811	KT807828
SPF 57872	<i>H. pinnatifida</i>	Rio do Fogo Beach, Rio do Fogo, RN, Brazil (5°15'56"S; 35°23'05"W). 13Jan.2013, drift material, tetrasporophyte, leg. C.A.A. Azevedo and R.F. Menezes	KT807816	-
SPF 57814	<i>H. silviae</i>	Rio do Fogo Beach, Rio do Fogo, RN, Brazil (5°15'56"S; 35°23'05"W). 13Jan.2013, drift material, infertile, leg. C.A.A. Azevedo and R.F. Menezes	KT807809	KT807827

SPF 57802	<i>H. silviae</i>	Munguba Beach, Paracuru, CE, Brazil (3°24'28"S; 39°01'57"W). 24Apr.2013, sandy substratum, leg. C.A.A. Azevedo, T. Vieira-Pinto and B. Torrano-Silva	KT807823	-
SPF 57873	<i>H. silviae</i>	Rio do Fogo Beach, Rio do Fogo, RN, Brazil (5°15'56"S; 35°23'05"W). 13Jan.2013, drift material, female gametophyte, leg. C.A.A. Azevedo and R.F. Menezes	KT807818	-
SPF 57813	<i>H. silviae</i>	Ponta Verde Beach, Maceió, AL, Brazil (9°39'54"S; 35°41'42"W). 10Mar.2013, drift material, leg. C.A.A. Azevedo, T. Vieira-Pinto and B. Torrano-Silva	KT807812	-
SPF 57874	<i>H. silviae</i>	Pontal do Peba Beach, Piaçabuçu, AL, Brazil (10°21'28"S; 36°17'44"W). 11Mar.2013, drift material, leg. C.A.A. Azevedo, T. Vieira-Pinto and B. Torrano-Silva	KT807820	-
SPF 57875	<i>H. silviae</i>	Corumbau Beach, Prado, BA, Brazil (16°54'05"S; 39°07'10"W). 13May2014, leg. B. Torrano-Silva, J. Pires and A.S. Santos	KT807814	-
SPF 57876	<i>H. silviae</i>	Corumbau Beach, Prado, BA, Brazil (16°54'05"S; 39°07'10"W). 13May2014, leg. B. Torrano-Silva, J. Pires and A.S. Santos	KT807822	-

SPF: Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil. Herbarium Codes according to “*Index Herbariuorum*. Part I. The herbaria of the world” (<http://sweetgum.nybg.org/ih/>).

ANEXO IV

Manuscrito submetido ao periódico *Phycologia*.

**DETECTING THE NON-NATIVE *GRATELOUPIA TURUTURU*
(HALYMENIALES, RHODOPHYTA) IN SOUTHERN BRAZIL**

CAROLINA ANGÉLICA ARAÚJO DE AZEVEDO^{1*}, VALÉRIA CASSANO¹, PAULO ANTUNES

HORTA JÚNIOR², MANUELA BERNARDES BATISTA²

AND MARIANA CABRAL DE OLIVEIRA¹

¹*Laboratório de Algas Marinhas Édson José de Paula, Departamento de Botânica,
Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, R. do Matão 277, 05508-090 São
Paulo, SP, Brazil*

²*Laboratório de Ficologia, Departamento de Botânica, Centro de Ciências Biológicas,
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus de Trindade, 88010-970
Florianópolis, SC, Brazil*

***GRATELOUPIA TURUTURU* IN BRAZIL**

ABSTRACT: *Grateloupia turuturu* is a Pacific native species with invasive behavior which leads to a wide distribution around the world. This study reports collections of fertile tetrasporophytes and female gametophytes of *G. turuturu* at Southern Brazilian coast and constitutes its first record for Southwestern Atlantic. The identity of *G. turuturu* was confirmed through molecular (COI-5P and *rbcL* markers) and morphological assessments. Putative paths of introduction are discussed.

KEY WORDS: Brazilian coast, COI-5P, *Grateloupia turuturu*, non-native marine species, *rbcL*.

* Corresponding author (caaazevedo@hotmail.com)

Grateloupia turuturu Yamada, a Pacific native species, is regarded the fifth most dangerous invasive seaweed in a global perspective (Nyberg & Wallentinus 2005). In USA (Rhode Island), Portugal, France (Brittany) and Mexican Pacific coast, *G. turuturu* spread rapidly and displaced native algae and invertebrate species (Harlin & Yallalard-Bohnsack 2001; Simon *et al.* 2001; Araújo *et al.* 2011; Aguilar-Rosas *et al.* 2013). On the other hand, reports from Tasmania and New Zealand do not mention negative effects of *G. turuturu*, perhaps because they detected the alga just after introduction (Saunders & Withall 2006; D'Archino *et al.* 2007). Nonetheless, this species can apparently occur harmlessly in Lagoon of Venice, Italy (Cecere *et al.* 2011), or even coexist with a similar autochthonous species *G. lanceola* in the northwestern Iberian Peninsula (Barreiro *et al.* 2006).

Features of *G. turuturu* that allow this species to be invasive are its ability to occupy sheltered and exposed habitats, to colonize natural and artificial substrates, to tolerate heavy metal and oxidative stress, and a wide range of temperature, salinity, light intensity and trophic conditions (Simon *et al.* 2001; Bertocci *et al.* 2015; Liu & Pang 2010). In addition, fertile specimens can be found throughout the year (Harlin & Yallalard-Bohnsack 2001). Putative paths of *G. turuturu* invasions include ballast water, fouling of ships and aquaculture activities (Hewitt *et al.* 2007).

Torrano-Silva *et al.* (2010) summarized the knowledge on three non-indigenous seaweeds found in Santa Catarina State in the south of Brazil. *Anotrichium yagii* (Okamura) Baldock was probably introduced through maritime traffic, apparently with no ecological damages. *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex P.C. Silva was intentionally introduced and has been cultivated under controlled conditions.

Cladophora corallicola Børgesen is a species with uncertain origin and treated by the authors as cryptogenic.

In this study, five individuals of *G. turuturu* were obtained in the intertidal zone of Santa Catarina State (Table S1). DNA was extracted according to Saunders & McDevit (2012), and sequences were generated for mitochondrial DNA barcode COI-5P and chloroplast-encoded *rbcL* following protocols described in Freshwater *et al.* (1994) and Saunders & Moore (2013). The alignment included 33 *rbcL* sequences (1,258 nucleotides), of which five were new sequences from Brazil and the remaining sequences of Halymeniaceae were from GenBank. A Maximum Likelihood analyses was performed at the web-server RaxML Blackbox (GTR+G+I, partitioned by codon position) with 1,000 Bootstrap replicates (Stamatakis *et al.* 2008). We conducted morphological studies in samples stored in 4% formalin seawater or in herbarium specimens. Handmade cross-sections images were captured with a Leica DFC 420 mounted in a Leica DM 4000B microscope (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany).

Sequences for COI-5P region for three samples match *G. turuturu* sequences in BOLD Database (<http://www.boldsystems.org>) with 100% identity. The *rbcL* tree (Fig. 1) shows the five Brazilian samples inserted in a clade with *G. turuturu* sequences from worldwide, including the type locality (Muroan, Japan). Our samples showed 0.0 - 0.8% intraspecific divergence compared to other *G. turuturu* *rbcL* sequences, and diverged 0.2 – 0.6% from the type locality sample. These values agree with *rbcL* intraspecific divergences reported by Gavio & Fredericq (2002) and Mateo-Cid *et al.* (2005).

Morphologically, thalli were pinkish or reddish, delicate and slippery, lightly undulate, 5.5-15.5 cm height, 1.1-6 cm width. Fronds presented a cuneate base, attached to the substratum by a discoid holdfast, 1-2 mm in diameter, from which arose a

cylindrical stipe 4-5 mm long (Fig. 2). Lanceolate blades were irregularly branched, 145-350 μm thick at middle region. Marginal proliferations were present at basal and middle regions in some specimens, but were absent in others. In transverse section, the cortex had approximately 3-5 cell layers, with a conspicuous transition to the medulla (Figs. 3, 4). Outer cortical cells were roundish or cylindrical, 5-7.5 μm in diameter, and medulla consisted of loose filaments, 2.5-5 μm in diameter. Medullary filaments were more numerous on basal region, becoming sparser on younger portions. Tetrasporangia were cruciate-decussate, 15-32.5 μm in height and 12.5-25 μm in diameter (Fig. 5). Auxiliary cell ampulla consisted of an oval auxiliary cell approximately 11 μm in broader axis, and 2-3 unbranched ampullary filaments, up to 10 cells long (Fig. 6). Mature cystocarps were 77.5-105 μm in diameter (Fig. 7). Vegetative and reproductive features of our samples agreed with descriptions and illustrations of *G. turuturu* (Gavio & Fredericq 2002; Bárbara & Cremades 2004; Verlaque *et al.* 2005; D'Archino *et al.* 2007; Figueroa *et al.* 2007).

Grateloupia turuturu was reported for Espírito Santo coast by Guimarães (2006), based only on morphological traits, but according to the author this record was a misidentification (personal communication). Therefore, this study constitutes the first molecular and morphological assessment of the species for the Brazilian coast.

Our results confirm that *Grateloupia turuturu* has reached the Southwestern Atlantic. Putative paths for its introduction include proximity to aquaculture facilities and to shipping ports (Bárbara & Cremades 2004; Araújo *et al.* 2011). Santa Catarina coast presents both conditions. The Pacific oyster *Crassostrea gigas* Thunberg, 1793 was introduced in the region for aquaculture purposes in 1987 (Melo *et al.* 2010). However, since 1998 seeds used at cultures are only produced by the Laboratory of Marine Mollusks at the Federal University of Santa Catarina (Melo *et al.* 2010).

Considering that our first record of *Grateloupia turuturu* is from 2011, it is unlikely that the oyster cultivation is a path for this particular case.

The coast of Santa Catarina State presents four harbours, including Itajaí, which is the second largest harbour in Brazil. Historically, the harbour has shown higher values for export than for import (<http://www.portoitajai.com.br/novo/estatisticas/> searched on July, 02, 2014). A high export activity is associated with high ballast water discharge (Micael *et al.* 2014). However, hull fouling is a more likely vector for seaweeds, once the absence of light inside ballasts can affect the viability of carried organisms (Williams & Smith 2007).

Grateloupia turuturu was detected on the Brazilian coast only after application of molecular approaches, which highlights the usefulness of the molecular tools for revealing the presence of non-indigenous organisms. Until now, only sparse and rare individuals have been found, and there is no available information about effects of *G. turuturu* over native assemblages in Santa Catarina. The absence of previous data for this species in the region and the few individuals found indicate that we detected a recent introduction of *G. turuturu*. Its well-known aggressive behavior reinforces the need of monitoring programs and control measures to avoid the spread of the species along the Brazilian coast.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful for the support from FAPESP for C.A.A.A. and M.C.O. (2011-19225-7; 2013-11833-3). M.C.O., P.A.H.J. and M.B.B. thank for support by CAPES and CNPq, and also to CAPES/PNADB 2338000071/2010-61 and CAPES/PROTAX 562336/2010-9. We would like to thank Gary W. Saunders, Tanya Moore and the Saunders' lab staff

for the support during molecular procedures. Dr. Silvia Maria Pita de Beauclair Guimarães and Dr. Mutue Toyota Fujii assisted on morphological studies.

REFERENCES

- AGUILAR-ROSAS L.E., NÚÑEZ-CEBREROA F. & AGUILAR-ROSAS C.V. 2013. Introduced marine macroalgae in the Port of Ensenada, Baja California, Mexico: Biological contamination. *Procedia Environmental Sciences* 18: 836–843.
- ARAÚJO R., VIOLANTE J., PEREIRA R., ABREU H., ARENAS F. & SOUSA-PINTO I. 2011. Distribution and population dynamics of the introduced seaweed *Grateloupia turuturu* (Halymeniaceae, Rhodophyta) along the Portuguese coast. *Phycologia* 50: 392-402.
- BÁRBARA I. & CREMADES J. 2004. *Grateloupia lanceola* versus *Grateloupia turuturu* (Gigartinales, Rhodophyta) en la Península Ibérica. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 61: 103-118.
- BARREIRO R., QUINTELA M., BÁRBARA I. & CREMADES J. 2006. RAPD differentiation of *Grateloupia lanceola* and the invasive *Grateloupia turuturu* (Gigartinales, Rhodophyta) in the Iberian Peninsula. *Phycologia* 45: 213-217.
- BERTOCCI I., GODINO J.D., FREITAS C., INCERA M., ARAÚJO R., BIO A., ARENAS F., SOUSA-PINTO I., REIS P.A. & DOMÍNGUEZ R. 2015. The regime of climate-related disturbance and nutrient enrichment modulate macroalgal invasions in rockpools. *Biological Invasions* 17: 133-147.
- CECERE E., MORO I., WOLF M.A., PETROCELLI A., VERLAQUE M. & SFRISO A. 2011. The introduced seaweed *Grateloupia turuturu* (Rhodophyta, Halymeniales) in two Mediterranean transitional water systems. *Botanica Marina* 54: 23-33.

- D'ARCHINO R., NELSON W.A. & ZUCCARELLO G.C. 2007. Invasive marine red alga introduced to New Zealand waters: First record of *Grateloupia turuturu* (Halymeniaceae, Rhodophyta). *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 41: 35-42.
- FIGUEROA F.L., KORBEE N., DE CLERCK O., BÁRBARA I. & GALL E.A.R. 2007. Characterization of *Grateloupia lanceola* (Halymeniales, Rhodophyta), an obscure foliose *Grateloupia* from the Iberian Peninsula, based on morphology, comparative sequence analysis and mycosporine-like amino acid composition. *European Journal of Phycology* 42: 231-242.
- 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.
- GAVIO B. & FREDERICQ S. 2002. *Grateloupia turuturu* (Halymeniaceae, Rhodophyta) is the correct name of the non-native species in the Atlantic known as *Grateloupia doryphora*. *European Journal of Phycology* 37: 349-359.
- GUIMARÃES S.M.P.B. 2006. A revised checklist of benthic marine Rhodophyta from the State of Espírito Santo, Brazil. *Boletim do Instituto de Botânica* 17: 143-194.
- HARLIN M.M. & YALLALARD-BOHNSACK M. 2001. Seasonal dynamics and recruitment strategies of the invasive seaweed *Grateloupia doryphora* (Halymeniaceae, Rhodophyta) in Narragansett Bay and Rhode Island Sound, Rhode Island, USA. *Phycologia* 40: 468-474.
- HEWITT C.L., CAMPBELL M.L. & SCHAFFELKE B. 2007. Introductions of seaweeds: accidental transfer pathways and mechanisms. *Botanica Marina* 59: 326–337.

- LIU F. & PANG S.J. 2010. Stress tolerance and antioxidant enzymatic activities in the metabolisms of the reactive oxygen species in two intertidal red algae *Grateloupia turuturu* and *Palmaria palmata*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 382: 82–87.
- MATEO-CID L.E., MENDOZA-GONZÁLEZ A.C., GAVIO B. & FREDERICQ S. 2005. *Grateloupia huertana* sp. nov. (Halymeniaceae, Rhodophyta), a peculiar new prostrate species from tropical Pacific Mexico. *Phycologia* 44: 4–16.
- MELO C.M.R., SILVA F.C., GOMES C.H.A.M., SOLÉ-CAVA A.M. & LAZOSKI C. 2010. *Crassostrea gigas* in natural oyster banks in southern Brazil. *Biological Invasions* 12: 441–449.
- MICAEL J., PARENTE M.I. & COSTA A.C. 2014. Tracking macroalgae introductions in North Atlantic oceanic islands. *Helgoland Marine Research* 68: 209-219.
- NYBERG C.D. & WALLENTINUS I. 2005. Can species traits be used to predict marine macroalgal introductions? *Biological Invasions* 7: 265–279.
- SAUNDERS G.W. & WITHALL R.D. 2006. Collections of the invasive species *Grateloupia turuturu* (Halymeniales, Rhodophyta) from Tasmania, Australia. *Phycologia* 45: 711–714.
- SAUNDERS G.W. & MCDEVIT D.C. 2012. Methods for DNA barcoding photosynthetic protists emphasizing the macroalgae and diatoms. *Methods in Molecular Biology* 858: 207 -222.
- SAUNDERS G.W. & MOORE T.E. 2013. Refinements for the amplification and sequencing of red algal DNA barcode and RedToL phylogenetic markers: a summary of current primers, profiles and strategies. *Algae* 28: 31-43.
- SIMON C., GALL E.A.R. & DESLANDES E. 2001. Expansion of the red alga *Grateloupia doryphora* along the coasts of Brittany (France). *Hydrobiologia* 443: 23–29.

- STAMATAKIS A., HOOVER P. & ROUGEMONT J. 2008. A Rapid Bootstrap Algorithm for the RAxML Web-Servers. *Systematic Biology* 75: 758-771.
- TORRANO-SILVA B.N., AMANCIO C.E. & OLIVEIRA-FILHO E.C. 2010. Exotic Marine Macroalgae on the Brazilian Coast: A Revision. *Oecologia Australis* 14: 403-414.
- VERLAQUE M., BRANNOCK P.M., KOMATSU T., VILLALARD-BOHNSACK M. & MARSTON M. 2005. The genus *Grateloupia* C. Agardh (Halymeniaceae, Rhodophyta) in the Thau Lagoon (France, Mediterranean): a case study of marine plurispecific introductions. *Phycologia* 44: 477 – 496.
- WILLIAMS S. & SMITH J. 2007. A Global Review of the Distribution, Taxonomy, and Impacts of Introduced Seaweeds. *The Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 38: 327-359.

Fig. 1. Best-scoring Maximum Likelihood tree constructed with *rbcL* sequences. Numbers on nodes represent bootstrap support for 1000 replicates. For sequences generated by this study (marked in bold), taxon labels correspond to herbarium numbers. For the remaining sequences GenBank accession numbers and places of collection are indicated. Type locality for *G. turuturu* is marked by *.

Figs. 2-7. *Grateloupia turuturu*. Vegetative and reproductive morphology.

Fig. 2. Habitat of tetrasporophyte specimen (SPF 57787). Scale bar: 2 cm.

Fig. 3. Transverse section on basal blade showing cortex and loose filamentous medulla (SPF 57787). Scale bar: 100 μ m.

Fig. 4. Transverse section in the middle of blade showing cortical cells. Arrows indicate expanded inner cortical cells. (FLOR 56607). Scale bar: 50 μ m.

Fig. 5. Transverse section in the middle of blade showing mature cruciate-decussate tetrasporangia (SPF 57787). Scale bar: 50 μ m.

Fig. 6. Transverse section in the apical portion of blade showing auxiliary cell ampulla. Arrow indicates auxiliary cell while arrow heads indicate ampullary filaments. (FLOR 56607). Scale bar: 50 μ m.

Fig. 7. Transverse section in the apical portion of blade showing mature cystocarp. Arrow indicates carposporangia. (FLOR 56607). Scale bar: 50 μ m.

Table S1. Samples of *Grateloupia turuturu* used in this study. SC: Santa Catarina; n.s.: not sequenced.

Institutional Code	Collection data	GenBank	
		COI-5P	<i>rbcL</i>
SPF 57787	Armação Beach, Florianópolis, SC, Brazil (-27°45'00"S; -48°30'04"O), 26 Feb. 2012, tetrasporophyte, leg. C.A.A. Azevedo, B. Torrano-Silva, F. Nauer, M.N. Sissini.	KP976170	KP976173
IBC 2203	Armação Beach, Florianópolis, SC, Brazil (-27°44'57"S; -48°29'59"O), 30 Jan. 2011, infertile, leg. P. Horta.	n.s.	KP976174
FLOR 14633	Saquinho Beach, Florianópolis, SC, Brazil (-27°80'31"S; -48°53'64"O), 13 Sep. 2011, infertile, leg. M.B. Batista.	KP976172	KP976177
FLOR 14754	Saquinho Beach, Florianópolis, SC, Brazil (-27°80'31"S; -48°53'64"O), 13 Sep. 2011, tetrasporophyte, leg. M.B. Batista.	n.s.	KP976176
FLOR 56607	Armação Beach, Florianópolis, SC, Brazil (-27°44'57"S; -48°29'59"O), 30 Jan. 2011, female gametophyte, leg. M.B. Batista.	KP976171	KP976175

FLOR: Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brazil. SPF: Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil. Herbarium Codes according to "*Index Herbariorum*. Part I. The herbaria of the world" (<http://sweetgum.nybg.org/ih/>).