CÍNTIA IHA

DIVERSIDADE DE GELIDIALES (RHODOPHYTA) BASEADA EM MARCADORES MOLECULARES E ESTUDOS MORFOANATÔMICOS PARA REGIÃO SUDESTE DO BRASIL

DIVERSITY OF GELIDIALES (RHODOPHYTA) BASED ON MOLECULAR MARKERS AND MORPHOLOGICAL STUDIES FROM SOUTHEASTERN BRAZIL

SÃO PAULO 2014

Cíntia Iha

Diversidade de Gelidiales (Rhodophyta) baseada em marcadores moleculares e estudos morfoanatômicos para região Sudeste do Brasil

Diversity of Gelidiales (Rhodophyta) based on molecular markers and morphological studies from Southeastern Brazil

Versão revisada

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

Orientadora: Profa Dra Mariana Cabral de Oliveira

Colaboradora: Profa Dra Silvia M. B. Pita Guimarães

São Paulo 2014

Iha, Cíntia

Diversidade de Gelidiales (Rhodophyta) baseada em marcadores moleculares e estudos morfoanatômicos para região Sudeste do Brasil 210 p.

Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Botânica, 2014.

1. Gelidiales, 2. "DNA barcoding", 3. Filogenia. I. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Botânica

Comissão Julgadora

Prof^a. Dr^a. Valéria Cassano Prof. Dr. Carlos Frederico Deluqui Gurgel

"(...)

E foram correnteza abaixo
Rolando no leito
Engolindo água
Boiando com as algas
Arrastando folhas
Carregando flores
E a se desmanchar

E foram virando peixes
Virando conchas
Virando seixos
Virando areia
Prateada areia
Com lua cheia
e à beira-mar"

Mar e lua – Chico Buarque

Agradecimentos

Às agências financiadoras: FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), pela concessão da bolsa de mestrado (2011/04224-5), pela Bolsa Estágio de Pesquisa no Exterior (2012/03592-3) e pelo financiamento do projeto temático RHODO-SP (2007/51270-7); ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pelo programa BrBOL (Brazilian Barcode of Life); e à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) que também auxiliou para a realização deste trabalho.

À Prof^a Dr^a Mariana Cabral de Oliveira, pela orientação, apoio, ensinamentos, atenção, paciência e por ter acreditado em mim e possibilitado o desenvolvimento da minha formação e deste trabalho.

À colaboradora deste trabalho, Prof^a Dr^a. Silvia Maria P. B. Guimarães, pela atenção, paciência e ensinamentos indispensáveis, em especial da parte morfológica, que acrescentaram muito na qualidade deste trabalho.

À Dra Daniela Milstein, por ter colaborado no inicio deste trabalho e, especialmente, por ter me iniciado nos estudos moleculares e me passado ensinamentos valiosos sobre a pesquisa e a vida acadêmica. Obrigada pela atenção, carinho, amizade e por fazer parte da minha formação como pesquisadora.

Special thanks for Dr. D. Wilson Freshwater for the opportunity to conduct the internship at the University of North Carolina at Wilmington, for the hospitality and contribuition to this work that turn it much better. Thank you also to Freshwater's lab people and colleagues: Jenn, Seth, Ryan, Micah and Dr. J. Craig Bailey.

Aos professores do Laboratório de Algas Marinhas "Édison José de Paula (LAM): Prof. Dr. Flávio Berchez, pela introdução ao mundo do costão rochoso e das algas marinhas, que me indicaram o rumo da minha vida. À Prof^a. Dr^a. Fungyi Chow. E às Prof^a. Dr^a. Estela Plastino e Prof^a. Dr^a. Valéria Cassano pelas dicas e ajudas (principalmente nas dúvidas de morfologia) que me foram muito úteis ao longo do mestrado.

Aos atuais técnicos do LAM: Willian, André e, principalmente, Rosário, pela paciência e auxílio, sem vocês nenhum trabalho seria possível de ser realizado. Agradeço também aos técnicos que passaram pelo laboratório durante o tempo da realização deste mestrado: Henrique, Cíntia Oiveira, Iago, César e, em especial, Carol Franco e Mariana Mungioli.

Aos amigos e divertidos colegas de coletas, Fábio e Bia, pelo apoio, companhia e ótimas risadas durante as coletas realizadas neste trabalho.

Aos colegas do LAM que estiveram presentes durante o tempo da realização deste mestrado, pelas ajudas mútuas, conversas, sejam elas produtivas ou não, cafés, festinhas e companherismo que fazem do LAM um lugar muito agradável para trabalhar: Alexandre, Amanda Medeiros, Ana Carolina, André Faria, Carol Azevedo, Dani Ramalho, Fabiana, Gabi, Karol Magalhães, Manu, Milena, Nati Guimarães, Priscila e Talita. Aos amigos Mari, Lagosta, Fábio, Lígia, Fernando, Bruno, Rafinha, Bia e Jana, por tornar os dias mais alegres. Em especial, Bia e Jana, por me ouvirem sempre que precisei, pela amizade e pelo carinho.

Aos colegas esporádicos que sempre dão novos ares para o LAM: Khey, Fátima, Marina, Marcella, Silvia e Jeanete.

Ao pessoal do Núcleo de Ficologia do Instituto de Botânica do Estado de São Paulo, em especial à Silvia Guimarães, Alex Alcântara e Mayra Jamas. À Mayra, pela amizade, ajudas e pela leitura e correção da dissertação.

À Universidade de São Paulo, ao Instituto de Biociências e ao Departamento de Botânica, pelo programa de Pós-Graduação. Aos funcionários do IB, por estarem sempre dispostos a tirar dúvidas e ajudar.

Às comissões do Botânica no Inverno II e III, que me acompanharam no desafio da extensão universitária, parte também importante para minha formação acadêmica.

Por fim, aos meus amigos e minha família, principalmente meus pais, meu irmão e minha avó, que sempre se dedicaram em me ajudar, me apoiaram e me aguentaram nos momentos estressantes. Ao Bob, por ser fofo e existir na minha vida.

Índice

Lista de tabelas	
Lista de figuras	
Abreviaturas	17
Resumo	19
Abstract	
1. Introdução	
1.1. Revisão histórica de Gelidiales	
1.2. Estudos de Gelidiales no Brasil	
1.3. As ferramentas moleculares	
1.4. Estudos moleculares de Gelidiales Error!	Bookmark not defined.
2. Objetivos	33
3. Materiais e métodos	35
3.1. Coletas e armazenamento das amostras	
3.2. Estudos moleculares	
3.2.1. Extração de DNA	
3.2.2. Amplificação dos marcadores moleculares por PCR	
3.2.3. Sequenciamento dos marcadores moleculares	
3.2.4. Alinhamento e análises moleculares	
3.3. Estudos morfológicos	46
4. Resultados e Discussão	51
4.1. Análises moleculares	
4.1.1. Análises de agrupamento dos "DNA barcodes"	
4.1.2. Análises filogenéticas	58
4.2. Análises morfológicas	66
4.2.1. Sinopse dos táxons estudados	66
4.2.2. Chave artificial dicotômica para a identificação dos táxons estudados	67
Chave artificial dicotômica para identificação de Família	67
Chave artificial dicotômica para identificação de táxons estudados de Gelidiellaceae	67
Chave artificial dicotômica para identificação de táxons estudados de Pterocladiaceae	
Chave artificial dicotômica para identificação de táxons estudados de Gelidiaceae	
4.2.3. Descrições dos táxons estudados	
Gelidiellaceae Fan	
Gelidiella acerosa (Forsskål) Feldmann & Hamel	
Gelidiella ligulata Dawson, 1953	
Gelidiella sp	
Parviphycus sp	
Gelidiaceae Kützing	
Gelidium crinale (Hare ex Turner) Gaillon, 1828	
Gelidium floridanum Taylor, 1943	
Gelidium microdonticum Taylor, 1969	
Gelidium sp. 1	
Gelidium sp. 2	
Gelidium sp. 4	
Gelidium sp. 5	
Gelidium sp. 6	
Gelidium sp. 7	
Gelidium sp. 8	
Gelidium sp. 9	
Gelidium sp. 10	
Gelidium sp. 11	
Pterocladiaceae Felicini & Perrone	
Pterocladiella australafricanensis Tronchin & Freshwater	
Pterocladiella bartlettii (W. R. Taylor) Santelices	
Pterocladiella beachiae Freshwater	
Pterocladiella capillacea (S. G. Gmelin) Santelices & Hommersand	
Pterocladiella sp.	
·	

4.3. Veri	ificação do valor de "barcoding-gap" e a relação entre espécies próximas	117
4.3.1.	Pterocladiella bartlettii x Pterocladiella sp	117
4.3.2.	Gelidium floridanum x Gelidium sp. 10	119
4.3.3.	Gelidium crinale x Gelidium sp. 1	121
4.3.4.	Comparação das espécies do complexo Pterocladiella caerulescens	123
4.4. Con	siderações taxonômicas para Gelidiales do Sudeste	127
4.4.1.	Gelidiellaceae	127
4.4.2.	Pterocladiaceae	128
4.4.3.	Gelidiaceae	129
5. C	onsiderações finais	132
	ibliografia	

Lista de tabelas

Tabela 1 – Espécies de Gelidiales referidas para o Brasil	l
Tabela 2 – Listagens dos locais de coleta das amostras estudadas35	5
Tabela 3 – "Primers" para PCR e sequenciamento para os diferentes marcadores moleculares usados neste estudo	
Tabela 4 – Ciclos de PCR utilizados na amplificação dos marcadores moleculares39)
Tabela 5 – Sequências obtidas do GenBank utilizadas nas análises filogenéticas com o marcador <i>rbc</i> L41	l
Tabela 6 – Informações das sequências utilizadas na análise concatenada45	5
Tabela 7 – Sequências obtidas do GenBank utilizadas nas análises filogenéticas de <i>Pterocladiella</i> com o marcador <i>rbc</i> L	5
Tabela 8 – Quantidade de espécimes por espécies coletados em cada estado51	i
Tabela 9 – Divergências intraespecífica, interespecífica e intergenérica para os marcadores UPA, COI-5P e <i>rbc</i> L para todos os gêneros estudados. Todas análises de divergência foram feitas apenas com sequências desse trabalho.	
Tabela 10 – Divergência intraespecífica dos táxons estudados segundo os marcadore COI-5P e <i>rbc</i> L. Espécie sem sequência (N)	3
Tabela 11 – Resumo das características morfológicas das espécies de Gelidiellaceae encontradas neste trabalho. (D = diâmetro; E = espessura; L = largura; A = altura)79)
Tabela 12 – Divergência intraespecífica (diagonal em cinza para cada marcador), divergência interespecífica (abaixo da diagonal) e verificação do "barcoding-gap" (acima da diagonal) dos marcadores COI-5P e <i>rbc</i> L para as espécies <i>Pterocladiella bartlettii</i> e <i>Pterocladiella</i> sp. 1117	7
Tabela 13 – Resumo das características morfológicas das espécies de <i>Pterocladiella</i> bartlettii e <i>Pterocladiella</i> sp. (D = diâmetro; E = espessura; L = largura; A = altura)118	3
Tabela 14 – Divergência intraespecífica (diagonal em cinza para cada marcador), divergência interespecífica (abaixo da diagonal) e verificação do "barcoding-gap" (acima da diagonal) dos marcadores COI-5P e <i>rbc</i> L para as espécies <i>Gelidium floridanum</i> e <i>Gelidium</i> sp. 10119	9
Tabela 15 - Resumo das características morfológicas das espécies de <i>Gelidium floridanum</i> e <i>Gelidium</i> sp. 10 (D = diâmetro; E = espessura; L = largura; A = altura)120)
Tabela 16 – Divergência intraespecífica (diagonal em cinza para cada marcador), divergência interespecífica (abaixo da diagonal) e verificação do "barcoding-gap" (acima da diagonal) dos marcadores COI-5P e <i>rbc</i> L para as espécies <i>Gelidium crinale</i> e <i>Gelidium</i> sp. 1	1
Tabela 17 – Comparação das características morfológicas das espécies <i>Gelidium crinale</i> e <i>Gelidium</i> sp. 1 encontradas neste trabalho. (D = diâmetro; E = espessura; L = largura; A = altura)122	
Tabela 18 – Divergência intraespecífica (diagonal em cinza), divergência interespecífica em porcentagem (abaixo da diagonal) e em nucleotídeos (acima da diagonal) do marcador <i>rbc</i> L para as espécies do "complexo <i>Pterocladiella caerulescens</i> " separadas por localidade. A divergência intraespecífica de localidades diferentes está separada dentro quadros marcados	1
Tabela 19 – Divergência intraespecífica em porcentagem (diagonal em cinza), divergência interespecífica em porcentagem (abaixo da diagonal) e verificação do "barcoding-gap" (acima da diagonal) do marcador COI-5P para as espécies do "complexo <i>Pterocladiella caerulescens</i> " separadas por localidade. A divergência intraespecífica de localidades diferentes está separadas dentro quadros marcados	4
Tabela 20 – Comparação das características morfológicas das espécies <i>Pterocladiella beachiae</i> e <i>Pterocladiella australafricanensis</i> encontradas neste trabalho. (D = diâmetro; E = espessura; L = largura; A = altura)	3
Tabela 21 - Relação de espécies de Gelidiales citadas anteriormente e encontradas neste trabalho130)
Tabela 22 - Listagem detalhada das amostras coletadas neste trabalho e indicação dos marcadores moleculares sequenciados por amostralix	ζ.

Lista de figuras

47
47
48
49
53
57
58
63
65

Abreviaturas

BI: Inferência Bayesiana

BLAST: "Basic Local Alignment Search Tool"

BOLD: "Barcode of Life Database Systems"

COI-5P: gene que codifica a região 5' da citocromo oxidase 1

DNTp: desoxirribonucleotídeos trifosfatados

EDTA: ácido etilenodiamino tetra-acético

Indels: inserções/deleções

ITS: região nuclear espaçadora interna

Kb: kilobases (1 Kb = 1000 nucleotídeos)

LSU ou 28S rDNA: gene que codifica a subunidade grande do RNA ribossômico nuclear

MCMC: "Markov Chain Monte Carlo" ou cadeias markovianas de Monte Carlo

ML: máxima verossimilhança

MP: máxima parcimônia

NJ: Neighbor-joining

nt: nucleotídeos

pb: pares de bases

PCR: "Polymerase Chain Reaction" ou reação em cadeia da polimerase

rbcL: gene plastidial que codifica a subunidade grande da enzima RUBISCO

RUBISCO: ribulose bifosfato carboxilase oxigenase

SSU ou 18S rDNA: gene que codifica a subunidade pequena do RNA ribossômico nuclear

UPA: "Universal Plastid Amplicom" domínio V do gene plastidial que transcreve o RNA da subunidade grande do ribossomo

Resumo

A ordem Gelidiales Kylin é composta atualmente por 196 espécies amplamente distribuídas em mares tropicais, subtropicais e temperados. Algumas espécies de Gelidiales são economicamente importantes, pois são fonte de ágar de alta qualidade. A ordem é monofilética, sustentada por características morfológicas e moleculares. No entanto, os critérios para o reconhecimento de gêneros e espécies têm se mostrado inconsistentes, tornando a delimitação até mesmo dos gêneros difícil. Muitos desses critérios são baseados em estruturas reprodutivas, mas existe uma dificuldade de encontrar plantas férteis, principalmente gametofíticas, na natureza. Por causa disso, estudos moleculares têm sido cada vez mais empregados para identificar e delimitar espécies e, também, inferir afinidades e relações filogenéticas. A técnica de "DNA barcoding", que consiste em obter um fragmento relativamente curto de DNA, tem sido muito utilizada para identificar espécies. Os "DNA barcodes" utilizados neste trabalho foram: COI-5P (região 5' do gene mitocondrial que codifica para a enzima citocromo oxidase I) e UPA (região do cloroplasto que transcreve o RNA da subunidade grande do ribossomo). Nas análises filogenéticas, o marcador utilizado foi rbcL (gene do cloroplasto que codifica a subunidade grande da enzima RUBISCO). Estudos morfológicos também foram realizados a fim de delimitar os caracteres morfoanatômicos das espécies estudadas e comparar com a literatura. Atualmente, verifica-se que 18 táxons de Gelidiales estão referidos para o Brasil. Este trabalho é o primeiro que inclui análises moleculares para espécies de Gelidiales da costa brasileira. No total, 154 amostras foram coletadas e foram obtidas 322 sequências: 151 para o marcador UPA, 134 para o COI-5P e 37 para o rbcL. As análises moleculares e morfológicas revelaram a existência de 23 espécies, sendo que dessas, seis já foram citadas para o Brasil, três são novas citações e 14 espécies não puderam ser identificadas, mesmo aliando dados moleculares e morfológicos. Gelidiellaceae é monofilética, porém a relação entre os dois gêneros pertencentes a essa família, Gelidiella e Parviphycus, é incerta. Gelidiella acerosa e Ge. ligulata foram confimadas no litoral brasileiro e duas espécies, Gelidiella sp. e Parviphycus sp., não foram identificadas e podem ser espécies novas para a ciência. Análises filogenéticas mostraram que Pterocladiaceae não é monofilética. As análises moleculares revelaram a presença de espécies pseudo-crípticas, P. australafricanensis e P. beachiae. Os estudos morfológicos, junto com dados moleculares, confirmaram a presença de P. bartlettii e P. capillacea para o litoral do Sudeste e, por fim, uma espécie nova, Pterocladiella sp, foi descoberta. Gelidiaceae formou um clado unindo todos os gêneros dessa família, mas com baixo suporte. A diversidade do gênero Gelidium era subestimada, pois até esse trabalho eram citadas sete espécie para o Brasil. Este trabalho revelou a existência do dobro de espécies, a maioria não identificada. As análises filogenéticas indicam que Gelidium não é monofilético, pois forma dois agrupamentos distintos: "Gelidium I", que comporta a maioria das espécies de Gelidium, e "Gelidium II", que inclui espécies não identificadas e devem ser classificadas em um novo gênero. Análises morfológicas e moleculares confirmaram a presença de G. crinale e G. floridanum para o litoral brasileiro. Gelidium microdonticum é citado com taxonomia correta para o Brasil, pois essa espécie era identificada erroneamente como G. pusillum var. conchicola. Espécimes que eram identificados como G. coarctatum no Brasil pertencem a uma espécie nova e G. coarctatum deve ser colocado em sinonímia com G. capense, que não ocorre no Brasil.

Abstract

The order Gelidiales Kylin includes 196 species, which have a wide geographic distribution on tropical, subtropical and temperate waters. Some of these Gelidiales species are economically important, because they produce high quality agar. The order is monophyletic, supported by morphological and molecular characters. However, the criteria to recognize genera and species have been inconsistent. Most of these criteria have been based on reproductive structures, but it is hard to find fertile plants, specially gametophytes, in the nature. Therefore, molecular studies have been used to identify and delimit species and to infer phylogenetic relationships. The DNA barcoding technique that consists on sequencing a small fragment of DNA, have been used to identify species. The molecular markers chosen in this work were: COI-5P (the 5'region of the mitochondrial gene coding for cytochrome oxidase I) and UPA (a region of the chloroplast gene coding for the large subunit of rDNA). For the phylogenetic analysis, the marker chosen was rbcL (chloroplast gene coding for the large subunit of RUBISCO). Morphological studies were also made to delimit morphological characters and compare with the literature. Presently, 18 Gelidiales taxa were reported to Brazil. This is the first work that includes molecular analysis for the group in Brazil. A total, 154 samples were collected and 322 sequences were obtained: 151 for UPA, 134 for COI-5P and 37 for rbcL. The molecular and morphological analysis reveal 23 species, of those only six of them have been cited to Brazil, three are new references to Brazil and 14 species could not be identified, even combining molecular and morphological data. Gelidiellaceae is monophyletic, but the relationship between its two genera, Gelidiella and Parviphycus, is uncertain. Gelidiella acerosa and Ge. liqulata were confirmed to Brazilian coast. Two species, Gelidiella sp. and Parviphycus sp., could not be identified, and they are probably new species for science. Phylogenetic analysis showed Pterocladiaceae is not monophyletic. The molecular analysis revealed the presence of the cryptic species, P. australafricanensis e P. beachiae. Morphological and molecular data confirm P. bartlettii and P. capillacea on the Brazilian Southern coast and a new species, Pterocladiella sp., was discovered. Gelidiaceae formed a monophyletic clade, but with low support. The Gelidium diversity was subestimated, because until this work, only seven species were cited to Brazil. This work reveals two times more species, most of them were not identified. The phylogenetic analysis showed Gelidium is not monophyletic because two different groups were formed: "Gelidium I" that includes most of the Gelidium species and "Gelidium II" that includes the unidentified species, and that should be described as new genera. Morphological and molecular analysis confirmed G. crinale and G. floridanum to the Brazilian coast. Gelidium microdonticum is cited for the first time to Brazil. This species had been mistakenly identified as G. pusillum var. conchicola. Speciemens identified as G. coarctatum in Brazil are belong to a new species and G. coarctatum should be synonymized with G. capense, which does not occur in Brazil.

1. Introdução

A ordem Gelidiales Kylin é composta atualmente por 196 espécies, distribuidas em dez gêneros e três famílias: Gelidiaceae, Gelidiellaceae e Pterocladiaceae (Guiry & Guiry, 2014; Schneider & Wynne, 2007). As espécies de Gelidiales estão amplamente distribuídas em mares tropicais, subtropicais e temperados (Santelices & Stewart, 1985). A pesquisa com esta ordem tem sido estimulada tanto por curiosidade acadêmica como por interesse econômico, já que algumas espécies são fonte de ágar de alta qualidade (Kumar *et al.*, 2004; Melo, 1998; Tronchin & Freshwater, 2007).

A ordem está inserida na classe Florideophyceae e estudos morfológicos mostram que as Gelidiales possuem um conjunto de características que as fazem uma ordem taxonomicamente bem delimitada dentro de Rhodophyta (Hommersand & Fredericq, 1988; Pueschel & Cole, 1982; Santelices, 1990). As principais características da ordem são: histórico de vida trifásico com gametófito e tetrasporófito isomórficos (exceto em *Capreolia* Guiry & Womersley, que possui histórico de vida difásico sem a geração carposporofítica) (Guiry & Womersley, 1993); agar como componente das paredes celulares; ligações celulares com uma única "cap-layer" (Pueschel & Cole, 1982); padrão especial de germinação dos esporos, denominado germinação tipo-*Gelidium* (Bouzon *et al.*, 2005); talo pseudoparenquimatoso com organização uniaxial; carpogônio intercalar que, após a fecundação inicia filamentos gonimoblásticos que se conectam às células nutritivas; e espermatângios divididos transversalmente a partir de células corticais (Fan, 1961). Mais recentemente, evidências moleculares também corroboram o monofiletismo do grupo (Freshwater *et al.*, 1994; Harper & Saunders, 2001; Sherwood *et al.*, 2010).

Os principais critérios para reconhecimento de gêneros e espécies incluem características do desenvolvimento do carposporófito, arranjo dos tetrasporângios, presença/ausência de rizines, distribuição dos rizines no talo, arranjo das células corticais superficiais, padrão da arquitetura dos ápices e tipos de estrutura de fixação (Akatsuka, 1986; Feldmann & Hamel, 1934; Norris, 1992; Perrone *et al.*, 2006; Rodriguez & Santelices, 1988; Santelices, 2007).

Em geral, as algas vermelhas possuem morfologia e anatomia relativamente simples, grande plasticidade fenotípica, o que torna a identificação e delimitação de espécies muito difíceis (Saunders, 2005). Além disso, as estruturas reprodutivas são utilizadas como um dos principais critérios para a identificação de espécies e gêneros. No entanto, apesar das características que definem a ordem serem bem delimitadas, os critérios para o reconhecimento de gêneros e espécies têm se mostrado inconsistentes, tornando a delimitação até mesmo dos gêneros difícil. Existe uma dificuldade de encontrar plantas férteis, principalmente gametofíticas, na natureza. Todos esses fatores dificultam a taxonomia da ordem.

Devido a estas dificuldades, o emprego de critérios morfológicos tem em muitos casos se mostrado insuficiente para delimitar adequadamente os gêneros, bem como as categorias infragenéricas, pois os limites de separação são muito tênues, levando a constantes mudanças taxonômicas e nomenclaturais. Consequentemente, estudos de sistemática molecular têm sido cada vez mais empregados para identificar e delimitar espécies e inferir afinidades e relações filogenéticas.

1.1. As ferramentas moleculares

A identificação de espécies de algas com base apenas em caracteres morfológicos não é uma tarefa simples e requer um conhecimento bastante especializado. Essa abordagem de identificação de

espécies possuem grandes limitações. Por exemplo, a presença de plasticidade fenotípica e variabilidade dos caracteres usados para identificar espécies podem levar a uma identificação incorreta, além disso, muitos dos caracteres utilizados são baseados em estruturas férteis, que, por sua vez, não ser fáceis de serem encontrados na natureza. A abordagem morfológica é incapaz de distinguir espécies crípticas, que são muito comuns em algas. Muitas das chaves de identificação são apenas efetivas para um estágio de vida em particular, sendo assim, muitos indivíduos não podem ser identificados, além de que requerem grande experiência do pesquisador (Hebert *et al.*, 2003; Saunders, 2005).

Essas limitações para identificação de espécies se beneficiaram de novas abordagens, como técnicas de biologia molecular. Uma das ferramentas moleculares que auxilia a taxonomia é a técnica de "DNA barcoding", que consiste em obter um fragmento relativamente curto de DNA (~400-700 pb), que pode ser inteiramente sequenciado como o mesmo par de "primers" utilizado na PCR, e ser utilizado em uma comparação com um banco de dados para identificar a espécie. Este sistema começou a ser utilizado principalmente em animais (Hebert *et al.*, 2003), mas esse estudo tem aumentado cada vez mais em algas (Clarkston & Saunders, 2010; Costa *et al.*, 2012; Le Gall & Saunders, 2010; Milstein & Saunders, 2012; Milstein *et al.*, 2011; Saunders & McDonald, 2010; Saunders, 2005; Sherwood & Presting, 2007; Sherwood *et al.*, 2008).

O principal marcador proposto como "DNA barcode" é a região 5' do gene mitocondrial que codifica para a enzima citocromo oxidase I (COI-5P ou *cox*1) com aproximadamente 600 pares de bases (pb). O trabalho feito usando o COI-5P em Rhodophyta (Saunders, 2005) abrangendo 15 famílias, em seis ordens e um total de 250 indivíduos, verificou que esse marcador é adequado para a distinção de espécies nos grupos de algas vermelhas estudados. Entretanto, para a amplificação dessas seis ordens, foi necessário o uso de pares de "primers" diferenciados (Saunders, 2005).

Além do COI-5P, outros marcadores têm sido testados e propostos como "DNA barcodes" para organismos fotossintetizantes. Por exemplo, a região do cloroplasto que transcreve o RNA da subunidade grande do ribossomo (23SrDNA), conhecido como Universal Plastid Amplicon – UPA (Presting, 2006; Sherwood & Presting, 2007; Sherwood *et al.*, 2010). O UPA é uma região de 362 pb flanqueada por sequências conservadas que podem ser usadas como "primers" universais (Presting, 2006), ao contrário do COI-5P, que possui variação de nucleotídeos na região dos "primers", obrigando a utilização de pares de "primes" alternativos nos diferentes grupos.

Outro marcador muito utilizado em estudos moleculares em algas vermelhas é o *rbc*L, gene do cloroplasto que codifica a subunidade grande da enzima ribulose 1,5 bisfosfato carboxilase-oxigenase (RUBISCO) (Bailey & Freshwater, 1997). O *rbc*L possui 1467 pb (Freshwater & Rueness, 1994), o que o torna inviável para utilização como "DNA barcode", pois o sequenciamento exige mais do que um par de "primers". Entretanto, o *rbc*L é um dos principais marcadores utilizados em Rhodophyta para análises filogenéticas e portanto diversas sequências estão disponíveis no GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/).

1.2. Revisão histórica de Gelidiales

A primeira classificação que envolveu espécies de Gelidiales foi feita por Kützing (1843) que estabeleceu a família Gelidiaea (= Gelidiaceae), compreendida por algas vermelhas com ramificação pinada, talo resistente e cartilaginoso com o interior fibroso, que produzem cistocarpos, espermatângios pequenos e globulosos e tetrasporângios arranjados distintamente nos ramos tetraspóricos. Os gêneros

incluídos foram *Acrocarpus* Kützing, *Echinocaulon* Kützing, *Ctenodus* Kützing e *Gelidium* Lamouroux. Kützing (1849) adicionou à família os gêneros *Polycladia* Montagne, *Thysanocladia* Endlichter, *Delisea* Lamouroux, *Phacelocarpus* Endlicher & Diesing e *Chondrodon* Kützing.

Na década seguinte, Agardh (1851, 1852) fez uma longa descrição de Gelidieae, mas incluiu apenas os gêneros Gelidium, Suhria Agardh ex Endlichter, Pterocladia Agardh e Ptilophora Kützing, este último com dúvidas. Ele baseou suas descrições principalmente nas características do cistocarpo, porém ainda não se conhecia o cistocarpo de Ptilophora. Segundo Hommersand & Fredericq (1988), Agardh incluiu algas que possuíam as seguintes características no cistocarpo: i) pericarpo hemisférico com apenas um lóculo ou dois lóculos opostos separados por um septo longitudinal contendo uma placenta ao longo da base do lóculo ou pareada ao longo de ambos os lados do septo; ii) filamentos contendo carposporângios unidos ou livres, constituído de muitos fascículos curtos (conhecidos hoje em dia como filamentos nutritivos) arranjados em densas fileiras ao longo de uma parede frontal a partir da base da placenta, intercalada com colunas de filamentos estéreis estendendo-se até o pericarpo; iii) râmulos férteis contendo carposporângios clavados ou obovados, um ou poucos por segmento, nos segmentos terminais dos râmulos. As considerações de Agardh ainda são aceitas, mas algumas interpretações foram alteradas (Hommersand & Fredericq, 1988). Atualmente, os quatro gêneros citados ainda pertencem a Gelidiales, porém Suhria entrou em sinonímia com Gelidium. Agardh (1876) incluiu, com dúvidas, o gênero Wurdemannia Harvey em Gelidieae. A inclusão foi feita com base em semelhanças vegetativas com Gelidium, pois o cistocarpo de Wurdemannia não era conhecido. O nome da família "Gelidieae" foi corrigido para Gelidiaceae por Harvey, (1853).

Schmitz (1889) desenvolveu um sistema de classificação de Florideae (= Florideophycidae) baseado no desenvolvimento do cistocarpo. Ele afirmou que em Gelidiaceae, um ou mais gonimoblastos desenvolvem-se diretamente a partir da fertilização do carpogônio, geralmente depois da fusão com células vizinhas, e formam filamentos que se ramificam entre as células corticais internas que circundam o eixo central e frequentemente se unem com células individuais estéreis do talo, antes de se ramificar externamente para formar a camada de filamentos apicais (referidas como "hymenium"), que carregam os carpósporos terminais. Nesse sistema, a família Gelidiaceae foi incluída na ordem Nemalioninae (=Nemaliales) e possuía cinco tribos e 14 gêneros: Binderelleae (*Binderella* Schmitz, *Choreocolax* Reinsch), Harveyelleae (*Harveyella* Schmitz & Reinke), Wrangeliae (*Wrangelia* Agardh, *Atractophora* Crouan & Crouan, *Naccaria* Endlicher), Caulacantheae (*Caulacanthus* Kützing) e Gelidieae (*Gelidium, Pterocladia, Suhria, Porphyroglossum* Kützing, *Acropeltis* Montagne, *Ptilophora*, *Schottmuellera* Grunow). *Wurdemannia* ficou em posição incerta devido a falta de conhecimento sobre o seu cistocarpo.

Mais tarde, Schmitz & Hauptfleisch (1897) incluíram *Spencerella* Darbishire como membro duvidoso da família Gelidiaceae e substituiu o nome *Schottmuellera* por *Acanthopeltis* Okamura in Yatabe (1892). No mesmo ano, De Toni (1897) aceitou o sistema de Schmitz, porém não adicionou *Spencerella* na família Gelidiaceae. Mais tarde, De Toni (1924) inclui *Spencerella* e *Yatabella* Okamura na tribo Gelidiacea.

Oltmanns (1904) elevou a tribo Wrangelieae para família Wrangeliaceae. Ele manteve Gelidiaceae em "Nemalionales" e passou Wrangeliaceae para Gigartinales. Entretanto, Oltmanns (1922) afirmou que as duas famílias deveriam ser relacionadas.

Historicamente, Gelidiaceae teve um papel central na discussão sobre o que era a "célula auxiliar" em algas vermelhas. O termo "Auxiliarzellen" foi usado pela primeira vez por Schmitz (1883) quando falava sobre o desenvolvimento do cistocarpo no grupo "Gelidieen". Schmitz comentou que em *Pterocladia* os ramos dos filamentos carpogoniais serpenteiam pela massa de células de um tecido de pequenas células e

muitas vezes se unem com células individuais desse tecido, que possuem denso conteúdo celular. Schmitz (1883) chamou essas células de "células auxiliares" e estas possuíam função de sustentar os filamentos do carpogônio que estão se desenvolvimento (Hommersand & Fredericq, 1988).

Kylin (1923) descreveu Gelidiales, com uma única família, Gelidiaceae, mantendo a composição de gêneros semelhante à feita por Schmitz (1889). Ao mesmo tempo da criação da ordem, ele argumenta que a "célula auxiliar" de Schmitz (1883) é somente uma célula nutritiva. Mais tarde, Kylin (1928) fez um estudo detalhado sobre o desenvolvimento do cistocarpo de *Gelidium cartilagineum* (Linnaeus) Gaillon var. *robustum* N.L. Gardner e concluiu que as Gelidiales se distinguem das Nemaliales pela presença de grande quantidade de tecido nutritivo ao redor dos carpogônios fertilizados. Na época, ele não foi capaz de afirmar se os filamentos gonimoblásticos se conectavam ou não com as células nutritivas através de "pit connections", ou se os filamentos se fundiam diretamente com as células nutritivas ou, até mesmo, se as células dos filamentos poderiam extrair nutrientes por meio das paredes celulares das células ricas em nutrientes. Kylin (1928), comparando com outras Florideophycidae, concluiu que em Gelidiaceae não havia células auxiliares, que serviam como ponto de início da formação do gonimoblasto. Além disso, ele observou que as Gelidiaceae possuíam histórico de vida do tipo-*Polysiphonia*: trifásico, com estágios gametofíticos e tetrasporofíticos indistinguíveis pela morfologia externa (isomórficos). Até então, todas as outras Nemaliales eram considerados haplobiontes, porém os ciclos de vida diplobiontes foram descobertos mais tarde.

Com o passar dos anos e de trabalhos publicados de diversos autores, a composição da ordem Gelidiales foi se alterando. Gardner (1927) descobre uma alga parasita de *Gelidium* e acrescenta o gênero parasita *Gelidiocolax* N.L. Gardner a Gelidiaceae, porém Fan & Papenfuss (1959) transferiram esse gênero para Gigartinales, posteriormente o gênero foi transferido para Gracilariales por Fredericq & Hommersand (1990). Feldmann & Hamel (1934) colocaram o gênero *Echinocaulon* em Gelidiales, o qual havia sido colocado em Gelidiaceae por Kützing (1843), porém mudaram o nome para *Gelidiella* Feldmann & G. Hamel, pois o nome anterior era o mesmo de um gênero de Angiosperma. Nesse mesmo trabalho, eles mostraram que *Caulacanthus* era muito relacionado com o gênero *Heringia* Agardh, que pertencia a Gigartinales, e o transferiram para esta ordem. Kylin (1956) estabelece o gênero *Beckerella* dentro da família Gelidiaceae e transfere *Binderella* para Gigartinales.

Dixon (1959) fez um estudo sobre as partes reprodutivas e do carposporófito de duas espécies de *Gelidium* e observou que o carpogônio era cortado lateralmente e séssil, apesar de algumas vezes ser intercalar. Ele concluiu que o gonimoblasto não se desenvolve diretamente de um carpogônio não modificado, como pensava Kylin, mas sim, de uma célula aumentada, multinucleada, de contorno externo irregular, que pode ser formada a partir do carpogônio isolado ou pela fusão de carpogônios com células vizinhas. Uma vez que essas fusões não parecem ser obrigatórias e também que o núcleo diploide não é transferido para nenhuma célula vegetativa em questão, Dixon argumenta que as células auxiliares estão ausentes em Gelidiaceae.

Fan (1961) fez um estudo geral sobre a morfologia de Gelidiales, incluindo observações do desenvolvimento do cistocarpo de diferentes espécies da ordem. Na época, Gelidiales estava composta por 10 gêneros: *Acanthopeltis, Acropeltis, Beckerella, Gelidiella, Gelidium, Porphyroglossum, Pterocladia, Ptilophora, Suhria* e *Yatabella*. Ele propôs uma nova família dentro da ordem Gelidiales: Gelidiellaceae, contendo apenas o gênero *Gelidiella*, baseando-se na ausência de rizines no talo e na falta da geração sexuada. Na família Gelidiaceae, concluiu que características do sistema reprodutivo feminino são conservadas entre os representantes. Fan (1961) mostrou que os filamentos nutritivos geralmente

desenvolvem-se a partir das células basais de todas as fileiras de células da terceira ordem na área fértil e que o carpogônio inicial é geralmente a segunda célula basal da fileira de células da terceira ordem. Depois da fertilização o carpogônio se funde com a célula de suporte por uma ampliação da "pit connection" e as células do gonimoblasto fundem-se com as células dos filamentos nutritivos, provavelmente diretamente, sem a formação de "pit connections".

No mesmo ano, Dixon (1961) argumentou que a proposta de Kylin de separar Gelidiaceae de Nemaliales pela justificativa da presença do histórico de vida diplobionte em Gelidiaceae e haplobionte em Nemaliales não era mais válida, pois haviam sido citadas irregularidades em histórico de vida em Gelidiaceae e descobertas tanto plantas gametofíticas como tetrasporofíticas em Nemaliales. O ciclo de vida mais comum em Nemaliales é do tipo-*Nemalion*, que é heteromórfico, trifásico e possui o tetrasporófito diminuto. Dixon continuou invalidando o status ordinal de Gelidiales e mantendo o grupo como uma família dentro de Nemaliales. A partir dai, duas vertentes foram criadas: os que consideravam a ordem Gelidiales e os que não consideravam.

Papenfuss (1966) contesta a relação próxima entre Gelidiales e Nemaliales feita por Dixon (1961) e mantém Gelidiales como ordem. Wynne & Kraft (1981) colocam em dúvida a proposta de Dixon e discutem a heterogeneidade das Nemaliales. Entretanto, mantiveram Gelidiaceae e Gelidiellaceae dentro de Nemaliales. Pueschel & Cole (1982) pesquisaram a ultraestrutura dos "pit-plugs" de diversas algas e descobriram que as espécies de *Gelidium* possuíam apenas uma camada de "cap-layer", enquanto que outras espécies de Nemaliales possuíam duas camadas. Com isso, propuseram o retorno da ordem Gelidiales. Hommersand & Fredericq (1988) fizeram uma investigação sobre o desenvolvimento do cistocarpo de *Gelidium pteridifolium* R.E. Norris, Hommersand & Fredericq e aproveitaram para revisar a história da ordem Gelidiales. Eles discordaram de Dixon (1961) sobre o grupo pertencer a Nemaliales e retomaram definitivamente a ordem Gelidiales.

Guiry & Womersley (1993) determinaram o gênero *Capreolia* Guiry & Womersley, baseando-se no histórico de vida atípido em relação às algas vermelhas. *Capreolia* possui histórico de vida bifásico, em que tetraspófitos desenvolvem-se diretamente do carpogônio fertilizado. Cistocarpos não foram produzidos em nenhum indivíduo mantido em cultura e também não foi encontrado na natureza (Guiry & Womersley 1993).

Santelices & Hommersand (1997) baseando-se em diferenças no desenvolvimento do carposporófito, transferiram espécies do gênero *Pterocladia* para um novo gênero proposto: *Pterocladiella* Santelices & Hommersand. Todas as espécies reconhecidas como *Pterocladia* no Brasil passaram a pertencer a *Pterocladiella*.

A utilização de sequências de nucleotídeos tanto para inferir hipóteses evolutivas, como para auxiliar na taxonomia, passou a ser uma poderosa ferramenta nos estudos de algas vermelhas a partir dos anos 1990. A ausência de caracteres taxonômicos confiáveis e o advento de metodologias moleculares levaram à implementação de estudos moleculares envolvendo espécies de Gelidiales (Freshwater & Rueness, 1994). Freshwater & Rueness (1994) apresentaram a primeira filogenia de *Gelidium* da Europa, utilizando o marcador *rbc*L e análise de parcimônia. Esse trabalho mostrou que havia uma complexidade na taxonomia do gênero e algumas espécies eram erroneamente identificadas, por exemplo, *Gelidium pusillum* era antes identificado em várias partes do mundo, mas foi demonstrado que este nome deveria ser empregado apenas para algas da Europa.

Freshwater *et al.* (1995) realizaram uma análise filogenética, utilizando o marcador *rbc*L e análise de parcimônia, para a ordem Gelidiales. Eles incluiram, além de espécies de *Gelidium*, espécies de *Onikusa*, *Suhria*, *Pterocladia*, *Capreolia*, *Ptilophora* e *Gelidiella*. A complexidade taxonômica encontrada

anteriormente em *Gelidium*, também foi observada na ordem como um todo. *Onikusa* e *Suhria* agruparam-se com outras espécies de *Gelidium*. *Gelidium caulacantheum* J. Agardh e *G. divaricatum* G. Martens agruparam-se com *Capreolia*, em um ramo separado do clado de *Gelidium*. Além disso, espécies diferentes de *Pterocladia* formaram ramos distintos. Bailey & Freshwater (1997) fizeram um estudo filogenético de Gelidiales aliando dados, separados e combinados, de *rbc*L e do marcador nuclear que codifica a subunidade pequena do RNA ribossômico (SSU ou 18S rDNA). Esse último marcador mostrou-se mais conservado do que o *rbc*L e as análises combinadas reveralam quatro agrupamentos principais: *Gelidiella*, *Pterocladia*, *Pterocladiella* e, por fim, um agrupamento com *Ptilophora*, *Capreolia*, *Onikusa* e *Gelidium* (Fig 2, Bailey & Freshwater, 1997). Esses dados mostraram que a determinação do novo gênero *Pterocladiella*, separado de *Pterocladia*, feita por bases morfológicas (Santelices & Hommersand, 1997), era confirmado por dados moleculares, pois espécies de *Pterocladiella* formaram um grupo monofilético e não se agruparam com *Pterocladia lucida* (R. Brown ex Turner) J. Agardh.

Outros marcadores foram testados em estudos filogenéticos com Gelidiales, como, por exemplo, sequências do gene que codifica a subunidade grande do RNA ribossômico (LSU ou 28S rDNA) (Freshwater & Bailey, 1998; Freshwater *et al.*, 1999). A quantidade de sitios informativos das sequências de LSU é intermediária em relação ao SSU e *rbc*L, o que poderia prover outras informações na resolução dos clados (Freshwater & Bailey, 1998). Patwary *et al.* (1998) fizeram análises filogenéticas utilizando sequências nucleares das regiões espaçadoras internas ITS1 e ITS2 e do SSU. As conclusões sobre a filogenia de Gelidiales encontradas nesse trabalho foram semelhantes às observadas por Freshwater & Bailey (1998).

Análises moleculares também passaram a ser utilizadas em estudos de Gelidiales do Japão e arredores (Shimada & Masuda, 1999, 2000; Shimada *et al.*, 1999, 2000). Shimada *et al.* (1999) compararam sequências de SSU, ITS1 e *rbc*L dos gêneros *Acanthopeltis* e *Yatabella*, que eram separados pelo padrão de crescimento do talo. Os autores concluíram que se tratavam do mesmo gênero e sinonimizaram *Yatabella* com *Acanthopeltis*.

Os estudos de Gelidiales com dados moleculares se intensificaram a partir da primeira década do século XXI. Thomas & Freshwater (2001) fizeram um estudo morfológico e molecular, utilizando dados de *rbc*L e LSU de Gelidiales da Costa Rica caribenha. Eles descreveram a espécie *Pterocladiella beachiae* Freshwater (como *P. beachii*), espécie críptica de *P. caerulescens*, que só foi possível ser distinguida por dados moleculares.

Vários estudos utilizando dados moleculares com Gelidiales da África do Sul foram realizados. Tronchin *et al.* (2002) fizeram uma reavaliação de *Onikusa* e *Suhria*, aliando dados morfológicos e moleculares, apenas com sequências de *rbc*L, e transferiram ambos os gêneros para *Gelidium*. Uma reavaliação dos gêneros *Beckerella* e *Ptilophora* também foi feita, baseando em dados morfológicos e moleculares, com os marcadores *rbc*L e SSU. *Beckerella* entrou em sinonímia com *Ptilophora* (Tronchin *et al.*, 2003). Tronchin & Freshwater (2007) descreveram três novas espécies para a África do Sul, incluindo o gênero novo *Aphanta*.

Santelices (2004), estudando a família Gelidiellaceae, propôs o novo gênero *Parviphycus*, baseado apenas em dados morfológicos. Ele transferiu para esse novo gênero espécies de *Gelidiella* que apresentavam padrão de divisão dística para as células subapicais, distinção das células axiais e periaxiais em cortes transversais e estiquídios com tetrasporângios organizados regularmente em poucas fileiras.

Até então, não havia sido publicado nenhum trabalho com análises moleculares focando *Gelidiella*. Rico *et al.* (2002) publicaram um trabalho de morfologia e sistemática de *Gelidiella tenuissima*, que

posteriormente foi transferido para *Parviphycus* (Santelices, 2004) e sinonimizado para *Parviphycus* pannosus (Furnari et al., 2010). Outros dois estudos com *Gelidiella* foram publicados, focando principalmente *Gelidiella fanii* (Lin & Freshwater, 2008; Wiriyadamrikul et al., 2010).

Apesar da inclusão de marcadores nucleares, o marcador *rbc*L acabou sendo o mais utilizado nos trabalhos de filogenia. Millar & Freshwater (2005) fizeram um extenso trabalho com Gelidiales da Austrália oriental, utilizando dados morfológicos e sequências de *rbc*L. Nelson *et al.* (2006) fizeram uma filogenia para Gelidiales da Nova Zelândia.

Perrone et al. (2006), realizaram um estudo com o sistema prostrado de Gelidiales e separaram Pterocladia e Pterocladiella, que possuem apressório do tipo "peg-like", formado por filamentos rizoidais originados de células corticais internas do estolão, crescendo paralelamente uns aos outros para o exterior, circundados por uma bainha grossa e possui forma de pino quando desenvolvido, mas ainda não fixado, para a nova família Pterocladiaceae. Os outros gêneros de Gelidiaceae possuem apressório do tipo "brushlike", que consiste em um conjunto de filamentos rizoidais originados de células corticais internas do estolão crescendo para o exterior desorganizadamente, com forma de pincel quando maduro. Em Gelidiellaceae, o sistema prostrado é composto por filamentos unicelulares individais originados das células corticais externas do estolão.

Em meados dos anos 2000 iniciaram os estudos de "DNA barcoding" para algas marinhas, utilizando marcadores moleculares curtos, como o marcador mitocondrial COI-5P (Saunders, 2005) e o plastidial UPA (Sherwood & Presting, 2007). Para Gelidiales, foi feito um estudo comparando o valor de "barcode-gap" do *rbc*L e COI-5P, sendo que o marcador mitocondrial mostrou ser muito útil na separação de espécies muito próximas (Freshwater *et al.*, 2010). O UPA foi utilizado no trabalho floristico de Rhodophyta do Havaí, que incluia espécies de Gelidiales (Sherwood *et al.*, 2010).

Kim *et al.* (2011a), baseados em dados moleculares, verificaram que o gênero monoespecífico *Porphyroglossum zollingeri* Kützing se agrupava com em *Gelidium* e propuseram uma nova combinação *Gelidium zollingerii* (Kützing) K. M. Kim, G.S. Gerung & S. M. Boo. Entretanto, Kim *et al.*, 2011b) fizeram uma correção, uma vez que a nova combinação é um homônimo posterior de Gelidium zollingeri Sonder. Desta forma, os autores estabeleceram o *nonem novum G. indonesianum* K.M. Kim, G.S. Gerung & S. M. Boo para acomodar *Porphyroglossum zollingeri*. Boo *et al.* (2013), baseando em dados moleculares, criaram o novo gênero *Gelidiophycus*, transferindo *Gelidium divaricatus* G. Martens para o novo gênero.

A sequência inteira do gene que codifica a citocromo oxidase (cox1) passou a ser utilizada também nas análises filogenéticas (Boo & Kim, 2014; Kim & Boo, 2012; Kim et al., 2011c, 2012; Sohrabipour et al., 2013). Kim & Boo (2012) obtiveram sequências de rbcL e cox1 para espécimes da localidade tipo de Gelidium crinale e G. pusillum, além de fazer observações morfológicas, acabando com as confusões taxonômicas entre essas duas espécies. Boo et al. (2013a) definiram o novo gênero Gelidiophycus, que formava um agrupamento separado da maioria de espécies de Gelidium. Eles comentam que espécies de Gelidium estão divididas em quatro agrupamentos distintos: i) o clado dos Gelidium verdadeiros, onde está a espécie tipo (Gelidium corneum); ii) o clado de Gelidiophycus; iii) o clado de Capreolia e Gelidium hommersandii; e iv) o clado de Gelidium chilenos não identificados.

Apesar dos estudos taxonômicos já realizados na costa brasileira com os representantes de Gelidiales, o reconhecimento das espécies tem sido problemático e controvertido, pois muitas espécies apresentam grande plasticidade morfológica e limites taxonômicos não definidos. No momento atual, a abordagem molecular, nunca feita para as espécies brasileiras, é fundamental para complementar o conhecimento da diversidade deste grupo, com ênfase em representantes da região sudeste do Brasil.

Com isso, o sistema de classificação de Gelidiales apresenta atualmente a seguinte situação:

Ordem Gelidiales Kylin

Família Gelidiaceae Kützing

Gênero Acanthopeltis Okamura

Gênero Capreolia Guiry & Womersley

Gênero Gelidium Lamouroux

Gênero Gelidiophycus Boo, Park & Boo

Gênero Ptilophora Kützing

Família Gelidiellaceae Fan

Gênero Gelidiella Feldmann & Hamel

Gênero Parviphycus Santelices

Família Pterocladiaceae Felicini & Perrone

Gênero Aphanta Tronchin & Freshwater

Gênero Pterocladia Agardh

Gênero Pterocladiella Santelices & Hommersand

1.3. Estudos de Gelidiales no Brasil

Os trabalhos taxonômicos sobre representantes da ordem Gelidiales no litoral brasileiro são principalmente referentes a estudos de floras regionais ou listas de espécies. As exceções são os trabalhos de Ugadim (1985, 1987, 1988) sobre os gêneros *Gelidium e Pterocladiella* (como *Pterocladia*) para todo o litoral brasileiro e o trabalho de Fernandes & Guimarães (1998) sobre Gelidiales do Espírito Santo. Consultando a literatura existente, verifica-se que 18 táxons de Gelidiales estão referidos atualmente para o Brasil (Tabela 1), sendo que a grande maioria é citada para a região sudeste, englobando os estados do Espírito Santo, Rio de Janeiro e São Paulo.

Várias espécies não tiveram ainda sua taxonomia esclarecida e outras são consideradas como de ocorrência duvidosa (Fernandes & Guimarães, 1998; Ugadim, 1987). Por exemplo, *Pterocladiella caerulescens* (Kützing.) Santelices foi citada por Ugadim (1985, 1987) como ocorrendo somente nos estados do nordeste do Brasil. Entretanto, de acordo com Wynne (2011), *Gelidium pusillum* var. *conchicola*, amplamente citado para os estados do sudeste e sul brasileiros, é atualmente considerado sinônimo de *P. caerulescens*.

Na literatura brasileira, espécimes de pequeno porte têm sido referidos senso lato como "Gelidium pusillum" (Fernandes & Guimarães, 1998). Entretanto, através de análises de sequências baseadas em rbcL, Freshwater & Rueness (1994) demonstraram que a espécie Gelidium pusillum (Stackh.) Le Jolis é restrita a localidades da Europa e os exemplares identificados como G. pusillum para o Atlântico ocidental correspondem a identificações errôneas. Os resultados moleculares de Thomas & Freshwater (2001) para táxons do Caribe e Atlântico mostraram um clado robusto que incluiu quatro táxons: Gelidium microdonticum W.R. Taylor, da Costa Rica, G. reptans (Suhr) Kylin da África do Sul e "Gelidium pusillum" das Ilhas Canárias e do Brasil (Peruíbe, São Paulo), sugerindo que as espécies pertencentes a esse clado poderiam ser identificadas como Gelidium microdonticum.

Tabela 1 – Espécies de Gelidiales referidas para o Brasil.

Espécie	Estados	Referências
Gelidiella acerosa (Forsskål) Feldmann & Hamel	CE, RN, PB, PE, BA, ES, RJ, Atol das Rocas, Arq. Fernando de Noronha	Fernandes & Guimarães, 1998 Pereira <i>et al.</i> , 2002 Guimarães, 2006
Gelidiella hancockii E.Y. Dawson	SP	Ugadim, 1974 Oliveira <i>et al.</i> , 2002
Gelidiella ligulata E.Y. Dawson	BA, RN, ES, SP	Fernandes & Guimarães, 1998 Guimarães, 2006
Gelidium americanum (W.R. Taylor) Santelices	BA, MA, PB, ES, SP, SC	Joly, 1965 Taylor, 1960 Fernandes & Guimarães, 1998 Guimarães, 2006
Gelidium coarctatum Kützing	AL, BA, CE, PB, PE, RN, ES	Ugadim, 1985 Fernandes & Guimarães, 1998 Guimarães, 2006
Gelidium crinale (Hare ex Turner) Gaillon	MA, CE, RN, PB, PE, AL, BA, ES, RJ, SP, PR, SC, RS, Arq. Fernando de Noronha	Taylor, 1960 Joly, 1965 Ugadim, 1970 Cordeiro-Marino, 1978 Ugadim, 1985 Fernandes & Guimarães, 1998 Guimarães, 2006
Gelidium floridanum W.R. Taylor	CE, PE, ES, RJ, SP, PR, SC, RS	Ugadim, 1970 Ugadim, 1985 Fernandes & Guimarães, 1998 Guimarães, 2006
Gelidium pusillum (Stackhouse) Le Jolis Gelidium spinosum (S.G. Gmelin) P.C. Silva	PA, BA, CE, MA, PB, PE, PI, RN, SE, ES, RJ, SP, PR, SC, RS, Arq. Fernando de Noronha, I. de Trindade, Abrolhos CE, PE, BA, RJ, SP, PR, SC,	Joly, 1957 Taylor, 1960 Joly, 1965 Ugadim, 1985 Ugadim, 1985
Gelidium torulosum Kützing	Arq. Fernando de Noronha BA, PE, ES, SP, PR, SC	Oliveira <i>et al.</i> , 2002 Ugadim, 1985 Fernandes & Guimarães, 1998 Guimarães, 2006
Parviphycus pannosus (Feldmann) G. Furnari	CE, RJ, SP, SC	Joly, 1965 Széchy <i>et al.</i> , 2005
Parviphycus setaceous (Feldmann) Afonso- Carrillo, Sanson, Sangil & Diaz-Villa	BA, RN	Oliveira Filho & Ugadim, 1976
Parviphycus trinitatensis W.R. Taylor (M.J. Wynne)	BA, CE, ES, RJ, SP, I. de Trindade	Taylor, 1960 Joly, 1965 Horta, 2000 Guimarães, 2006 Brasileiro <i>et al.</i> , 2009
Pterocladiella bartlettii (W.R. Taylor) Santelices	BA, MA, PB, PI, RN, ES, RJ, SP	Ugadim, 1985 Fernandes & Guimarães, 1998 Guimarães, 2006
Pterocladiella caerulescens (Kützing) Santelices & Hommersand	AL, BA, CE, PB, PE, RN, ES, RJ, SP, SC	Joly, 1965 Ugadim, 1985 Fernandes & Guimarães, 1998 Guimarães, 2006
Pterocladiella capillacea (S.G. Gmelin) Santelices & Hommersand	CE, RN, ES, RJ, SP, PR, SC, RS	Joly, 1957 Taylor, 1960 Joly, 1965 Ugadim, 1985 Fernandes & Guimarães, 1998 Guimarães, 2006
Pterocladiella sanctarum (Feldmann & G. Hamel) Santelices	BA, RN	Nunes & Guimarães, 2008
Pterocladiella taylorii (A.B. Joly) Santelices	RJ, SP	Joly, 1957 Oliveira <i>et al.</i> , 2002

2. Objetivos

Geral:

Estudar a diversidade e filogenia de espécies da ordem Gelidiales da região sudeste do Brasil integrando sequências de DNA (COI-5P, UPA e *rbc*L) com dados morfológicos e de distribuição geográfica.

Específicos:

- Obter amostras georeferenciadas das espécies da ordem Gelidiales de ocorrência na região sudeste do Brasil, formando um banco de material preservado para análises moleculares e exsicatas para incorporação em herbário;
- Contribuir para um banco de dados internacional (BOLD) que integra sequências de DNA ("DNA barcodes") com outros dados taxonômicos e de distribuição geográfica.

3. Materiais e métodos

3.1. Coletas e armazenamento das amostras

A maioria dos espécimes é oriunda de coletas realizadas em diversos pontos ao longo da costa dos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Espírito Santo, tendo o limite norte o município de Serra, no Espírito Santo, e o limite sul o município de Cananéia, em São Paulo. As coletas foram realizadas durante os períodos de maré-baixa de acordo com a Tábua de Marés para os portos dos estados brasileiros, editada pela Diretoria de Hidrografia e Navegação da Marinha do Brasil. Grande parte dos espécimes foi coletada a mão, com o auxílio de uma espátula, na região entremarés, pois a maioria das espécies desse grupo é encontrada nessa zona, entretanto eventuais coletas no infralitoral também foram realizadas. Todas as amostras obtidas foram georeferenciadas com o uso de GPS (Global Positioning System). Parte do material estudado foi doada por pesquisadores colaboradores, incluindo amostras coletadas em outros estados, que também foram incluídas nas análises (Tabela 2).

Tabela 2 – Listagens dos locais de coleta das amostras estudadas.

Localidade	Coordenadas	Data	Coletores	
	São Paulo			
Guarujá				
Praia Branca	23°52'17.77"S/46°08'13.05"O	09.XI.2011	C. Iha	
Praia do Éden	23°59'05.10"S/46°11'11.64"O	12.IX.2011	C. Iha	
Praia do Éden	23°59'12"S/46°11'15"O	01.XI.2009	S. Guimarães	
Praia do Éden	23°59'12"S/46°11'15"O	02.XII.2009	S. Guimarães	
Ilha do Cardoso				
Praia Cambriú	25°09'23.17"S/47°55'0.85"O	30.VI.2010	S. Guimarães	
Ilhabela				
Ilha Búzios	23°44'58.09"S/45°15'19.41"O	20.V.2008	M. Fujii	
Itanhaém				
Ilha Queimada Grande	23°59'12"S/46°11'15"O	19.IV.2010	C. Iha, B. Torrano-Silva, F. Nauer, M. Sissini	
Praia Cibratel	24°13'18.72"S/46°51'05.11"O	20.X.2009	N. Yokoya	
Praia Cibratel	24°13'18.72"S/46°51'05.11"O	14.V.2010	S. Guimarães	
Praia do Sonho	24°11'45.58"S/46°48'04.12"O	20.X.2009	N. Yokoya	
Praia do Sonho	24°11'45.58"S/46°48'04.12"O	05.XI.2010	S. Guimarães	
Santos				
Lage de Santos	24°19'07.71"S/46°10'54.91"O	18.VIII.2008	E. Oliveira	
São Sebastião				
Balneario da Praia Grande	23°49'23.08"S/45°25'0.07"O	15.X.2009	S. Guimarães	
Praia das Cigarras	23°43'45.99"S/45°24'12.51"O	05.IX.2009	M. Fujii	
Praia das Cigarras	23°43'55.53"S/45°23'54.30"O	08.V.2009	M. Oliveira	

Tabela 2 - continuação.

Localidade	Coordenadas	Data	Coletores
batuba			
Bonetinho	23°32'07.43"S/45°11'13.93"O	02.111.2009	M. Fujii
Domingas Dias	23°29'45.35"S/45°08'46.83"O	04.IX.2009	M. Fujii
Domingas Dias	23°29'45.35"S/45°08'46.83"O	06.IX.2009	M. Fujii
Domingas Dias	23°29'45.35"S/45°08'46.83"O	16.III.2010	S. Guimarães
Ilha das Cabras	23°31'01.41"S/45°02'29.36"O	29.VIII.2011	C. Iha, B. Torrano-Silva e A Medeiros
Ilha das Cabras	23°31'01.41"S/45°02'29.36"O	29.VIII.2011	R. Rocha-Jorge
Ilha de Palmas	23°32'50.00"S/45°01'50.19"O	29.VIII.2011	C. Iha, B. Torrano-Silva e A Medeiros
Ilha Rapada	23°25'34.07"S/44°54'12.83"O	07.V.2009	S. Guimarães
Ilha Rapada	23°25'34.07"S/44°54'12.83"O	08.V.2009	S. Guimarães
Ilha Vitória	23°44'53.13"S/45°01'07.51"O	30.X.2008	M. Oliveira
Ilhota das Couves	23°25'09.54"S/44°51'08.39"O	07.V.2009	S. Guimarães
Ilhota das Couves	23°25'09.54"S/44°51'08.39"O	18.III.2010	S. Guimarães
Picinguaba	23°22'44.12"S/44°50'18.42"O	17.III.2010	S. Guimarães
Praia Brava	23°22'10.00"S/44°47'50.91"O	16.VI.2007	M. Fujii
Praia Brava	23°22'10.00"S/44°47'50.91"O	08.V.2009	S. Guimarães
Praia do Costa	23°31'0.37"S/45°09'54.74"O	16.X.2008	E. Oliveira, M. Oliveira
Praia Vermelha do Sul	23°30'44.55"S/45°10'19.24"O	13.X.2008	E. Oliveira
Saco da Ribeira	23°30'02.28"S /45°07'14.44"O	09.VI.2009	M. Fujii, D. Pupo
	Rio de Janeiro		
mação de Búzios			
Praia ao lado da Praia da Foca	22°45'54.87"S/41°52'43.95"O	23.X.2011	S. Guimarães
Praia Azeda	22°44'28.94"S/41°52'55.38"O	26.IX.2011	C. Iha, B. Torrano-Silva e I Nauer
Praia Brava	22°45'14.35"S/41°52'24.45"O	27.IX.2011	C. Iha, B. Torrano-Silva e I Nauer
Praia do Forno	22°45'42.56"S/41°52'29.11"O	25.IX.2011	C. Iha, B. Torrano-Silva e I Nauer
Praia Geribá	22°46'45.20"S/41°54'38.46"O	23.X.2011	S. Guimarães
Praia João Fernandes	22°44'27.27"S/41°52'25.81"O	27.IX.2011	C. Iha, B. Torrano-Silva e I Nauer
Praia João Fernandinho	22°44'20.59"S/41°52'26.27"O	26.IX.2011	C. Iha, B. Torrano-Silva e I Nauer
Praia Pai Vitório		24.X.2011	S. Guimarães
raial do Cabo			
Praia do Farol - Ilha do Cabo Frio	23°00'05.63"S/42°00'16.38"O	28.IX.2011	C. Iha, B. Torrano-Silva e I Nauer
Praia do Forno, Arraial do Cabo	22°58'05.66"S/42°00'57.56"O	28.IX.2011	C. Iha, B. Torrano-Silva e F Nauer
Prainha, Arraial do Cabo	22°57'22.06"S/42°01'36.30"O	29.IX.2011	C. Iha, B. Torrano-Silva e F Nauer

Tabela 2 – continuação...

Localidade	Coordenadas	Data	Coletores
Paraty			
Laje grande		09.XII.2011	C. Iha, B. Torrano-Silva e F. Nauer
Ponta do Costa - Saco do Mamanguá	23°15'32.17"S/44°37'16.67"O	09.XII.2011	C. Iha, B. Torrano-Silva e F. Nauer
Praia do Carro - Saco do Mamanguá	23°14'21.95"S/44°37'06.85"O	09.XII.2011	C. Iha, B. Torrano-Silva e F. Nauer
Praia de Itaoca - Pouso da Cajaíba	23°16'11.50"S/44°34'29.07"O	10.XII.2011	C. Iha, B. Torrano-Silva e F. Nauer
Praia Grande da Cajaíba - Pouso da Cajaíba	23°15'49.31"S/44°35'04.43"O	10.XII.2011	C. Iha, B. Torrano-Silva e F. Nauer
·	Espírito Santo		
Ancheita			
Praia dos Castelhanos	20°50'04.18"S/40°37'21.57"O	05.V.2012	C. Iha, B. Torrano-Silva e F. Nauer
Praia Parati	20°48'22.34"S/40°36'28.73"O	05.V.2012	C. Iha, B. Torrano-Silva e F. Nauer
Praia Parati	20°48'21.04"S/40°36'1.47"O	07.X.2010	S. Guimarães
Ubu Costão	20°48'14.72"S/40°35'13.63"O	06.X.2010	S. Guimarães
Guarapari			O lbs D Tamas Oiles E
Praia de Setiba	20°38'06.83"S/40°26'13.25"O	08.V.2012	C. Iha, B. Torrano-Silva, F. Nauer e M. Oliveira
Praia dos Namorados	20°40'19.65"S/40°29'47.22"O	08.V.2012	C. Iha, B. Torrano-Silva, F. Nauer e M. Oliveira
Manguinhos			
Manguinhos	20°11' 20.78"S/40°11'24.59"O	05.X.2010	S. Guimarães
Marataízes			0 0 0 1
Ponta das Arraias ("Praia da Morte")	21°01'57.43"S/40°48'44.43"O	07.V.2012	C. Iha, B. Torrano-Silva, F. Nauer e M. Oliveira
Praia da Cruz	21°02'01.68"S/40°48'45.51"O	07.V.2012	C. Iha, B. Torrano-Silva, F. Nauer e M. Oliveira
Meaípe			
Enseada Azul	20 ⁰ 43'47.63"S/40 ⁰ 31'25.61"O	09.V.2012	C. Iha, B. Torrano-Silva, F. Nauer e M. Oliveira
Piúma			
Praia do Aghá	20°52'39.09"S/40°45'35.88"O	06.V.2012	C. Iha, B. Torrano-Silva, F. Nauer e M. Oliveira
Serra			
Praia da ponta da Baleia	20°10'12.93"S/40°11'6.02"O	18.I.2012	L. Machado
	Pernambuco		
Recife			
Praia de Boa Viagem	08°08'05.43"S/34°54'02.69"O	25.II.2011	S. Guimarães
	Rio Grande do Norte		
Rio do Fogo			
Praia Rio do fogo	05°16'07.34"S/35°22'57.71"O	20.VIII.2009	C. Azevedo
	Santa Catarina		
Florianópolis			
Praia do Sambaqui	27°29'24.55"S/ 48°32'18.89"O	25.II.2012	B. Torrano-Silva, F. Nauer e C. Azevedo
Praia Moçambique	27°28'51.54"S/48°22'52.80"O	11.X.2011	M. Oliveira, E. Oliveira

A triagem foi feita próximo ou no local de coleta para garantir a preservação do DNA. Para as análises moleculares, regiões apicais, normalmente livres de epífitas e com parede celular menos espessa, ou indivíduos inteiros, dependendo do tamanho do espécime, foram selecionados, secos em papel absorvente, colocados imediatamente em frascos contendo sílica gel, que foram mantidos fechados e em temperatura ambiente. O restante do indivíduo, além de outros indivíduos da mesma população em que foram coletadas as amostras para DNA, foram fixados em formol 4% em água do mar para posterior estudo morfológico, anatômico e confecção de exsicatas. Estas foram incluídas no acervo dos herbários do Núcleo de Pesquisa em Ficologia do Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente (SP) e do Departamento de Botânica da Universidade de São Paulo (SPF) (http://www.botanica.org.br/rede_herbarios.php).

3.2. Estudos moleculares

3.2.1. Extração de DNA

O material algal, que estava mantido em sílica gel, foi macerado em nitrogênio líquido em tubo de 1,5 ml (tipo Eppendorf) até a obtenção de um pó fino, para quebrar a parede celular. As extrações de DNA foram feitas utilizando o kit NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel, Düren, Alemanha), seguindo as instruções do fabricante. O material contendo o DNA genômico foi acondicionado em freezer, para então ser utilizado na amplificação das sequências de interesse. Nos casos em que a amostra destinada para análise de DNA era muito pequena ou apresentava muitas epífitas, foi utilizado, como alternativa, o kit de PCR direta Phire Plant Direct PCR Kit (Thermo Scientific, EUA), seguindo as instruções do fabricante. Neste kit, a etapa de extração de DNA é eliminada e a PCR ocorre diretamente a partir de fragmentos da alga.

3.2.2. Amplificação dos marcadores moleculares por PCR

Os marcadores COI-5P, região 5' do gene que codifica a subunidade 1 da citocromo oxidase c, presente no genoma mitocondrial (~664 pb), e UPA, região do genoma do cloroplasto que transcreve para o domínio cinco da subunidade grande do ribossomo (~410 pb), foram utilizados para as análises de "DNA barcoding".

Para análises filogenéticas, o marcador molecular *rbc*L, gene que codifica a subunidade grande da RUBISCO, presente no genoma plastidial (1467 pb), foi amplificado apenas de uma a três amostras de cada agrupamento resultante das árvores dos "DNA barcodes".

A amplificação dos marcadores moleculares foi realizada utilizando "primers" específicos para cada um (Tabela 3), por meio da reação em cadeia da polimerase, ou PCR ("Polymerase Chain Reaction") (Sambrook *et al.*, 1989). As PCRs foram realizadas seguindo as seguintes condições: 1 x tampão para PCR, 1,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de cada dNTP, 0,2 μM de cada "primer" (sendo um par por reação), 5-20 ng de DNA total e 1,25 U de Taq DNA polimerase (Invitrogen, São Paulo, Brasil), resultando em um total de 50 μL.

Os marcadores tipo "DNA barcode" foram amplificados utilizando apenas o par de primers, correspondentes às regiões que flanqueiam a sequência do marcador. O marcador *rbc*L foi sequenciado de diferentes maneiras, às vezes utilizando apenas os primers das pontas, F57 e R-*rbc*S-start ou utilizando primers internos, gerando fragmentos que se sobrepõem para formar a sequência consenso, nas combinações: F57 x R753, F492 x R1150 e F753 x R-*rbc*S-start (Tabela 3).

Tabela 3 - "Primers" para PCR e sequenciamento para os diferentes marcadores moleculares usados neste estudo.

Marcador	"Primer"	Sequência 5'- 3'	Direção	Referência
COI-5P	GazF1	TCAACAAATCATAAAGATATTGG	Direta	Saunders 2005
COI-5P	GazR1	ACTTCTGGATGTCCAAAAAAYCA	Reversa	Saunders 2005
COI-5P	GHalF	TCAACAAATCATAAAGATATYGG	Direta	Saunders 2005
COI-5P	COX1R1	ATACATATGATGHGCTCAA	Reversa	Saunders 2005
UPA	p23SrV_f1	GGACAGAAAGACCCTATGAA	Direta	Sherwood & Presting 2007
UPA	p23SrV_r1	TCAGCCTGTTATCCCTAGAG	Reversa	Sherwood & Presting 2007
rbcL	F57	GTAATTCCATATGCTAAAATGGG	Direta	Freshwater & Rueness 1994
rbcL	F492	CGTATGGATAAATTTGGTCG	Direta	Freshwater & Rueness 1994
rbcL	F753	GGAAGATATGTATGAAAGAGC	Direta	Freshwater & Rueness 1994
rbcL	R753	GGAAGATATGTATGAAAGAGC	Reversa	Freshwater & Rueness 1994
rbcL	R1150	GCATTTGTCCGCAGTGAATACC	Reversa	Freshwater & Rueness 1994
rbcL	R-rbcS start	GTTCTTTGTGTTAATCTCAC	Reversa	Freshwater & Rueness 1994

Os ciclos de PCR variaram conforme o marcador molecular (Tabela 4). Para o marcador COI-5P, o ciclo foi igual ao descrito em Saunders (2005). Para o UPA, o ciclo foi o mesmo ao descrito em Sherwood & Presting (2007). Por fim, para o *rbc*L, o ciclo foi igual ao descrito por Lindstrom & Fredericq (2003).

Tabela 4 - Ciclos de PCR utilizados na amplificação dos marcadores moleculares.

Marcador	Desnaturação		- Extensão final		
Marcador	inicial	Desnaturação	Anelamento	Extensão	- Extensão iliai
COI-5P	94°C por 1'	94°C por 1"	50°C por 1,5'	72°C por 1'	72°C por 5'
rbcL	95°C por 4'	94°C por 1'	45°C por 1'	72°C por 1,5'	72°C por 10'
UPA	94°C por 2'	94°C por 20"	55°C por 30"	72°C por 30"	72°C por 10'

Após a PCR, os produtos foram analisados por eletroforese em gel de agarose 0,7%, com marcador de tamanho (1 Kb DNA Ladder - Invitrogen) para verificar o sucesso da reação e os tamanhos dos fragmentos amplificados. Os produtos de PCR foram purificados em colunas "GTX™ PCR DNA and Gel Band Purification Kit" (GE Healthcare, Buckinghamshire, Inglaterra), de acordo com o protocolo do fornecedor. O DNA total foi quantificado no NanoDrop 2000-Spectrophotometer (Thermo Scientific, EUA) para então passar para etapa da reação de sequenciamento.

3.2.3. Sequenciamento dos marcadores moleculares

A reação de sequenciamento foi feita utilizando de 10 a 40 ng do produto de PCR purificado com o kit "Big-DyeTM Terminator Cycle Ready Reaction" (Applied Biosystems, Foster City, EUA), seguindo as instruções do fabricante, usando-se os mesmos "primers" da PCR. No caso do marcador *rbc*L, quando este foi amplificado inteiro, foram feitos sequenciamentos utilizando "primers" internos (Tabela 3). O ciclo da reação de sequenciamento é formado por 40 ciclos a 96°C por 10 segundos, 50°C por 20 segundos e 60°C por 4 minutos. Após a reação, as amostras foram precipitadas em EDTA 125mM, Acetato de Sódio 3M e etanol 100% e lavadas em etanol 70%. O sequenciamento foi feito pelo método de Sanger (Sanger, 1977) e

realizado no sequenciador automático ABI PRISM[™] 3100 ou ABI PRISM[™] 3730 Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

3.2.4. Alinhamento e análises moleculares

Análise dos "DNA barcodes"

As sequências consenso de cada marcador de cada amostra foram montadas usando o programa BioEdit Sequence Alignment Editor a partir das sequências obtidas do sequenciamento nas direções direta e reversa (Hall, 1999). Nucleotídeos divergentes ocorrendo na mesma posição foram verificados manualmente nos cromatogramas das sequências.

Cada sequência consenso obtida foi comparada com as sequências disponíveis no GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov), com o uso do programa BLAST (Altschul *et al.*, 1990).

As sequências consenso dos "DNA barcodes", COI-5P e UPA, de todas as amostras, foram alinhadas em uma matriz no programa MEGA 5.0 (Tamura *et al.*, 2011) e, então, feita uma árvore de agrupamento por Neighbor-Joining (NJ), com 2000 réplicas de Bootstrap, para cada marcador, no mesmo programa.

Para todos os marcadores foram calculadas, nas análises de distância, divergências intraespecífica, interespecífica e intergenérica. Foram utilizadas apenas sequências obtidas neste trabalho, exceto no caso de *Pterocladiella beachiae* e *P. australafricanensis*. Pares de espécies muito próximas foram discutidos mais detalhadamente para verificação do "barcoding-gap", que consiste na diferença entre a divergência interespecífica mínima e intraespecífica máxima das espécies (Freshwater *et al.*, 2010; Meier *et al.*, 2008). O cálculo utilizado foi a divisão do valor da divergência interespecífica mínima (minINTER) entre as duas espécies pelo maior valor de divergência intraespecífica máxima entre as duas espécies (máxINTRA) (Freshwater *et al.*, 2010):

$$\mbox{Valor de "barcoding} - \mbox{gap"} = \frac{\mbox{minINTER}}{\mbox{m\'{a}xINTRA}}$$

Neste caso, a verificação do "barcoding-gap" foi feita relacionando quantas vezes a divergência interespecífica mínima é maior do que a divergência intraespecífica máxima entre duas espécies. Sendo assim, valor maiores que um (>1) mostram a distância entre máxINTRA e minINTER, enquanto que valores menores que 1 (<1) mostram que há sobreposição entre os dois fatores.

Análises filogenéticas

Nas análises filogenéticas foram incluídas na matriz outras sequências de Gelidiales provindas do GenBank. Foi feita uma matriz inicial contendo as sequências obtidas nesse estudo e todas as sequências do GenBank que indicavam pertencer à ordem. Com essa matriz, foi feita uma análise de distância por NJ no programa MEGA 5.0 para identificação preliminar dos agrupamentos. A partir dessa primeira análise, foram retirados da matriz sequências com identificação duvidosa, ou seja, que não agruparam com outras sequências da mesma espécie; sequências sem epíteto (espécie não identificada); e, por fim, sequências da mesma espécie que formaram agrupamentos muito grandes, permanecendo apenas uma ou duas sequências por espécie. Ao final, a matriz conteve 89 sequências de espécies de Gelidiales, sendo 38 obtidas nesse trabalho e 51 obtidas no GenBank (Tabela 5).

Complementando a análise filogenética, foram adicionadas 13 sequências de diferentes espécies, representando diferentes ordens, a fim de confirmar o monofiletismo de Gelidiales (Tabela 5). Essas ordens foram escolhidas conforme a proximidade filogenética indicada em estudos anteriores de Florideophyceae: Rhodymeniales, Nemastomatales, Bonnemaisoniales, Plocamiales, Gracilariales, Halymeniales e Ceramiales (Freshwater *et al.*, 1994; Harper & Saunders, 2001; Nelson *et al.*, 2006; Ragan *et al.*, 1994; Saunders & Bailey, 1997; Sherwood *et al.*, 2010). Como grupo externo, foi selecionada uma sequência de *Pyropia yezoensis* (Ueda) M.S. Hwang & H.G. Choi (Bangiales), totalizando uma matriz com 102 sequências.

O alinhamento das sequências para a construção da matriz de *rbc*L foi feito no programa MEGA 5.0, utilizando o programa Muscle (Edgar, 2004), ou no programa ClustalX 2.0 (Larkin *et al.*, 2007). Os modelos evolutivos para as análises filogenéticas foi determinado pelo programa MrModeltest 2.2 (Nylander, 2004) usando Akaike Information Criterion (AIC). Três diferentes métodos de inferência filogenética foram feitos para as análises: o método distância de NJ, máxima verossimilhança (ML) e inferência bayesiana (BI). O NJ foi feito no MEGA 5.0, com 2000 réplicas de Bootstrap. A análise de ML foi feita no programa PHyML (Guindon & Gascuel, 2003) pelo programa TOPALi (Milne *et al.*, 2004) com 100 réplicas de Bootstrap. A inferência bayesiana foi feita utilizando o programa Mr. Bayes (Ronquist & Huelsenbeck, 2003), em que as análises foram rodadas com uma corrida com quatro cadeias de MCMC realizadas com 4.000.000 gerações com reamostragens a cada 100. As gerações iniciais correspondentes ao "burn-in" foram descartadas, finalizando com a construção de uma árvore consenso. Os "gaps" foram considerados como dados ausentes e o modelo evolutivo de substituição selecionado foi o modelo Geral de Reversão ao Longo do Tempo (GTR), com proporção de sítios invariáveis (I) e distribuição gama (G).

Tabela 5 – Sequências obtidas do GenBank utilizadas nas análises filogenéticas com o marcador *rbc*L.

Espécie	Número de acesso	Local de coleta	Referência			
Bangiales						
Pyropia yezoensis (Ueda) M.S.Hwang & H.G.Choi	DQ813645	Parque São Jacinto, Galveston, Texas, EUA	Não publicado			
	E	Bonnemaisoniales				
Bonnemaisonia geniculata N.L.Gardner	KC174794	Mendocino County, Califórnia, EUA	Não publicado			
Bonnemaisonia hamifera Hariot	FJ195604	Muroran, Hokkaido, Japão	Não publicado			
Delisea pulchra (Greville) Montagne	U26812		Não publicado			
		Ceramiales				
Hypoglossum hypoglossoides (Stackhouse) F.S.Collins & Hervey	AF257368	Wemeldinge, Zeeland, Holanda	Lin et al. 2001			
<i>Laingia hookeri</i> (Lyall ex Harvey) Kylin	AF257371	Aramoana, Otago, Nova Zelândia	Lin et al. 2001			
		Gracilariales				
Gracilaria tenuistipitata C.F.Chang & B.M.Xia	AY049312	Virginia, EUA	Gurgel & Fredericq 2004			
Halymeniales						
Grateloupia turuturu Yamada	AF488820	Muroran, Hokkaido, Japão	Gavio & Fredericq 2002			

Tabela 5 – continuação...

Espécie	Número de acesso	Local de coleta	Referência			
Nemastomatales						
Schizymenia pacifica (Kylin) Kylin	FJ878871	North Boardman St. Park, Oregon, EUA	Gabriel et al. 2010			
		Plocamiales				
Plocamium serratulum Okamura	KC174810	Lung Meng Harbor, Ilha da Orquídea, Taiwan	Não publicado			
		Rhodymeniales				
Botryocladia shanksii E.Y.Dawson	AY168662	Baía Longa, Ilha Colon, Panamá	Não publicado			
Ceratodictyon repens (Kützing) R.E.Norris	HQ400571	África do Sul	Não publicado			
Lomentaria hakodatensis Yendo	U04180	Ponto Forte, São Francisco, Califórnia, EUA	Freshwater et al. 1994			
		Gelidiales				
Acanthopeltis longiramulosa Y.P.Lee & B.S.Kim	HM629842	Geomundo, Yeosu, Coréia do Sul	Kim et al. 2011			
Aphanta pachyrrhiza Tronchin & Freshwater	EF190244	Recife Ribbon, Baía de Sodwana, KwaZulu-Natal, África do Sul	Tronchin & Freshwater 2007			
<i>Capreolia implexa</i> Guiry & Womersley	AY648011	Ponto Gentle Annie, Westland, Ilha do Sul, Nova Zelândia	Nelson et al. 2006			
<i>Gelidiella acerosa</i> (Forsskal) Feldmann & Hamel	AF305810	Playa a Sol, Porto Rico	Thomas & Freshwater 2001			
<i>Gelidiella fanii</i> SM. Lin	HM026530	Clube Praia Argao, Cebu, Filipinas	Wiriyadamrikul et al. 2010			
Gelidiella ligulata Dawson	AB017678	Ilha Miyake, Tokyo, Japão	Shimada et al. 1999			
<i>Gelidiella ramellosa</i> (Kützing) Feldmann & G.Hamel	FJ215879	Cook Lump, Perth, Australia Ocidental, Austrália	Huisman et al. 2009			
Gelidium abbottiorum R.E.Norris	EF190254	Praia Shelly, KwaZulu-Natal, África do Sul	Tronchin & Freshwater 2007			
Gelidium americanum (W.R.Taylor) Santelices	L22459	Ilha Radio, Carteret, Carolina do Norte, EUA	Freshwater & Rueness 1994			
<i>Gelidium asperum</i> (C.Agardh) Greville	AY350782	Ponto Lonsdale, Victoria, Austrália	Não publicado			
Gelidium canariensis (Grunow) Seoane Camba ex Haroun, Gil- Rodríguez, Díaz de Castro & Prud'homme van Reine	L22460	Porto da Cruz, Tenerife, Ilhas Canárias, Espanha	Freshwater & Rueness 1994			
Gelidium capense (S.G.Gmelin) P.C.Silva	L22461	Baía Falsa, Península de Cape, África do Sul	Freshwater & Rueness 1994			
Gelidium caulacantheum J. Agardh	AY648019	Queen Charlotte Sound, Ilha do Sul, Nova Zelândia	Nelson et al. 2006			
<i>Gelidium coreanum</i> Kim, Hwang, Yonn & Boo	JQ340390	Youngjin, Gangreung, Coréia do Sul	Kim et al. 2012			
<i>Gelidium corneum</i> (Hudson) J. V. Lamouroux	HM629821	Morroco	Kim et al. 2011			
Gelidium coulteri Harvey	HM629822	Praia Agate, Califórnia, EUA	Kim et al. 2011			
<i>Gelidium crinal</i> e (Hare ex Turner) Gaillon	HQ412491	Stump Sound, Carolina do Norte, EUA	Freshwater et al. 2010			

Tabela 5 – continuação.

Espécie	Número de acesso	Local de coleta	Referência
Gelidium declerckii Tronchin	AY350775	Ponto Nahoon, Londres do Leste, Província do Cabo Oriental, África do Sul	Millar & Freshwater 2005
Gelidium divaricatum G. Martens	HM629824	Dolsando, Yeosu, Coréia do Sul	Kim et al. 2011
Gelidium elegans Kützing	AB030623	Shizuoka, Shimoda, Touji, Japão	Shimada et al. 2000
Gelidium floridanum W. R. Taylor	AF305797	Limón, Cahuita, Costa Rica	Thomas & Freshwater 2001
Gelidium floridanum W. R. Taylor	U00107	Sebastian Inlet, Rio Indiano, Flórida , EUA	Freshwater et al. 1995
<i>Gelidium hommersandii</i> Millar & Freshwater	AY352420	Woolloomooloo Bay, Sydney, Nova Gales do Sul, Austrália	Millar & Freshwater 2005
Gelidium isabelae Taylor	AY350778	Swartklip, False Bay, Western Cape Prov, África do Sul	Millar & Freshwater 2005
Gelidium isabelae Taylor	AY350779	Long Reef, Collaroy Beach, NSW, Austrália	Millar & Freshwater 2005
Gelidium microdonticum Taylor	AF305799	Limón, Cahuita, Costa Rica	Thomas & Freshwater 2001
<i>Gelidium microphyllum</i> (Crosby Smith) Kylin	AY648022	Ringaringa, Ilha Stewart, Nova Zelândia	Nelson et al. 2006
Gelidium omanense Wynne	AY346460	Dhofar, Oman	Wynne& Freshwater 2005
<i>Gelidium pluma</i> Bornet ex N.H.Loomis	AF522367	Hilo, Hawai'i, Ilhas Havaianas, EUA	Tronchin & Freshwater 2003
<i>Gelidium pristoides</i> (Turner) Akatsuka	HM629834	Dalebrook, Baía Flase, África do Sul	Kim et al. 2011
<i>Gelidium profundum</i> Tronchin & Freshwater	EF190251	Protea Banks Reef, KwaZulu-Natal, África do Sul	Tronchin & Freshwater 2007
Gelidium pusillum (Stackhouse) Le Jolis	U00999	Fedje, Hordaland, Noruega	Freshwater & Rueness 1994
Gelidium rex Santelices & I.A.Abbott	HM629835	Baía Tongoy, Coquimbo, Chile	Kim et al. 2011
<i>Gelidium robustum</i> (N.L.Gardner) Hollenberg & I.A.Abbott	HM629836	Natividad island, Baja California do Sul, México	Kim et al. 2011
Gelidium serrulatum J. Agardh	U01042	Mochimo, Sucre, Venezuela	Freshwater & Rueness 1994
Gelidium sesquipedale (Clemente) Thuret in Bornet et Thuret	L22071	Aramar, Asturias, Espanha	Freshwater & Rueness 1994
<i>Gelidium spinosum</i> (S.G.Gmelin) P.C.Silva	HM629837	Muros, A Coruna, Espanha	Kim et al. 2011
<i>Parviphycus antipai</i> (Celan) B.Santelices	AY352425	Far Rocks, Lagoon, Ilha de Lord Howe, Austrália	Millar & Freshwater 2005
Parviphycus pannosus (Feldmann) G.Furnari (=Parviphycus tenuissimus)	AF320983	Gran Canária, Ilhas Canárias , Espanha	Não publicado
Pterocladia lucida (R.Brown ex Turner) J.Agardh	U01048	Baía Owhiro, Sul de Wellington, Nova Zelândia	Freshwater et al. 1994
<i>Pterocladiella bartlettii</i> (W.R.Taylor) Santelices	AF305806	Limón, Cahuita, Costa Rica	Thomas & Freshwater 2001
Pterocladiella beachiae Thomas & Freshwater	AF305811	Limón, Cahuita, Costa Rica	Thomas & Freshwater 2001
P. australafricanensis Tronchin & Freshwater (=Pterocladiella caerulescens (Kutzing) Santelices & Hommersand)	EF190248	Texas Reef, Punta Do Ouro, Moçambique	Tronchin & Freshwater 2007

Tabela 5 - continuação...

Espécie	Número de acesso	Local de coleta	Referência
Pterocladiella caloglossoides (M.A.Howe) Santelices	AY352422	La Parouse, Baía Botânica, Nova Gales do Sul, Austrália	Millar & Freshwater 2005
Pterocladiella capillacea (Gmelin) Santelices & Hommersand	AB023841	Oshoro, Hokkaido, Japão	Shimata et al. 2000
Pterocladiella capillacea (Gmelin) Santelices & Hommersand	AY352421	Baía Gordon, Clovelly, Nova Gales do Sul, Austrália	Millar & Freshwater 2005
Pterocladiella melanoidea (Schousboe ex Bornet) Santelices & Hommersand	U01046	Ilha de Mallorca, Espanha	Freshwater et al. 1994
Pterocladiella nana (Okamura) Shimada, Horiguchi et Masuda	GU731224	Eoyoung, Jeju, Coréia do Sul	Boo et al. 2010
Pterocladiella psammophila Tronchin & Freshwater	EF190255	Ribbon Reef, Baía de Sodwana, KwaZulu-Natal, África do Sul	Tronchin & Freshwater 2007
Ptilophora hildebrandtii (Hauck) R.E.Norris	AF522359	Tiger Reef, Bhanga Neck, KwaZulu- Natal, África do Sul	Tronchin & Freshwater 2003
Ptilophora subcostata (Okamura) R.E.Norris	U16835	Katassehigashihama, Fujisawa, Kanagawa, Japão	Freshwater et al 1995

Foi feita uma análise concatenada unindo as sequências de rbcL, COI-5P e UPA, nesta ordem, de um mesmo espécime. Como é necessário que os três marcadores sejam obtidos de uma única amostra, essa análise foi realizada utilizando apenas sequências de Gelidiales obtidas nesse trabalho. Sequências cedidas por pesquisadores foram incluídas na matriz, para maior detalhamento da análise: Hypnea sp. (cedida por Fabio Nauer), Amphiroa sp. (cedida por Beatriz Torrano-Silva), Gracilaria isabellana Gurgel, Frederiqc & J.N. Norris (retirada de Costa, 2013), Laurencia dendroidea J. Agardh (cedida por Valéria Cassano), Gigartina skottsbergii Setchell & N.L. Gardner, Plocamium aff. cartilagineum (Linnaeus) P.S. Dixon e Pyropia endivifolia (A. Gepp & E Gepp) H.G. Choi & M.S. Hwang (cedidas por Amanda Medeiros) totalizando uma matriz com 43 sequências (Tabela 6) e 2379 nucletídeos. Como grupo externo, foi selecionada a sequência de Pyropia endivifolia. Os modelos evolutivos foram determinados separadamente para cada marcador. Os métodos de inferência filogenética foram os mesmo utilizados com rbcL, com algumas diferenças. A ML foi analisada no programa raxmIGUI (Silvestro & Michalak 2012), utilizando o modelo de substituição GTR+I+G na matriz com um todo. A inferência bayesiana foi analisada com os mesmos parâmetros citados acima, porém o modelo de substituição foi diferente para as porções referentes aos diferentes marcadores moleculares. Para as porções "rbcL" e "COI-5P" foi utilizado GTR+I+G e na porção "UPA" foi utilizado GTR+G.

Na publicação dos dados, as sequências dos marcadores moleculares e outros dados de cada espécime serão depositados nos bancos de dados do GenBank, (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) e do "Barcoding of Life Data System" (BOLD Systems) (http://www.boldsystems.org/).

Tabela 6 – Informações das sequências utilizadas na análise concatenada.

Espécie	Voucher de herbário	Local de coleta
Amphiroa sp.		Enseada Azul, Meaípe, ES, B.N. Torrano- Silva, M.C. Oliveira, C. Iha, F. Nauer, 09.05.2005
Gigartina skottsbergii Setchell & N.L. Gardner	SPF57324	Enseada Ezcurra, Baía do Almirantado, Ilha do Rei George, Antártica, E.C. Oliveira, 27.02.2007
Gracilaria isabellana Gurgel, Fredericq & N.J. Norris	SPF52190	Cabo Frio, RJ, E.Plastino, 06.11.87
Hypnea sp.	SPF57554	Praia da Lagoinha, Paraipaba, CE, F. Nauer, 02.06.2012
Laurencia dendroidea J.Agardh	SP399927	Praia da Lula, Parati, RJ, V. Cassano, 25.02.2007
Plocaminum aff. cartilagineum (Linnaeus) P.S. Dixon	SPF56423	Enseada Ezcurra, Baía do Almirantado, Ilha do Rei George, Antártica, E.C. Oliveira, 27.02.2007
Pyropia endiviifolia (A. Gepp & E. Gepp) H.G. Choi & M.S. Hwang	SPF56433	Copacabana, Baía do Almirantado, Ilha do Rei George, Antártica, E.C. Oliveira, 17.02.2007

Uma análise filogenética adicional foi realizada pela necessidade de delimitar duas espécies muito próximas de *Pterocladiella* encontradas neste trabalho. Foi obtido um maior número de sequências de *rbc*L de *Pterocladiella* do Genbank, que não foram incluídas nas análises anteriores (Tabela 7). A metodologia e os programas utilizados foram os mesmos da análise filogenética do marcador *rbc*L. O modelo evolutivo de substituição selecionado (GTR) com distribuição gama (G).

Tabela 7 – Sequências obtidas do GenBank utilizadas nas análises filogenéticas de Pterocladiella com o marcador rbcL.

Espécie	Número de acesso	Local de coleta	Referência
P. bartlettii (W. R. Taylor) Santelices	KC209061	Pulau Pinang, Batu Feringgi3, Malásia	Sohrabipour et al. 2013
P. bartlettii	KC209062	Porto Dickson, Lagoa Azul, Malásia	Sohrabipour et al. 2013
P. bartlettii	AF305806	Limon, Cahuita, Costa Rica	Thomas & Freshwater 2001
P. beachiae Freshwater	JN114113	Província de Bocas del Toro, Ilha Colon, Panamá	Não publicado
P. beachiae	KC209075	Pulau Pinang, Batu Feringgi3, Malásia	Sohrabipour et al. 2013
P. beachiae	KC209075	Pulau Pinang, Batu Feringgi3, Malásia	Sohrabipour et al. 2013
P. beachiae	KC209076	Teluk Kemang, Malásia	Sohrabipour et al. 2013
P. beachiae	KC209077	Teluk Kemang, Malásia	Sohrabipour et al. 2013
P. beachiae	AF305811	Limon, Cahuita, Costa Rica	Thomas & Freshwater 2001
P. caerulescens (Kützing) Santelices & Hommersand (= P. beachiae)	HQ412496	Boca del Drago, Bocas, Panamá	Freshwater et al. 2010

Tabela 7 - continuação...

Tabela 7 - continuação Espécie	Número de acesso	Local de coleta	Referência
P. caerulescens (= P. beachiae)	HQ412499	Ponto Baía longa, Ilha Colon, Bocas, Panamá	Freshwater et al. 2010
P. caerulescens (= P. beachiae)	HQ412500	Ponto Velho, Ilha Bastimento, Bocas, Panamá	Freshwater et al. 2010
P. caerulescens (=P. australafricanensis Tronchin & Freshwater)	EF190246	Recife 9-mile, Sodwana Bay, KwaZulu-Natal, África do Sul	Tronchin & Freshwater 2007
P. caerulescens (=P. australafricanensis)	EF190247	Doodles Reef, Punta Do Ouro, Moçambique	Tronchin & Freshwater 2007
P. caerulescens (=P. australafricanensis)	EF190248	Texas Reef, Punta Do Ouro, Moçambique	Tronchin & Freshwater 2007
P. caerulescens	EF190250	Praia Sandy, Oahu, Ilhas Havaianas, EUA	Tronchin & Freshwater 2007
P. caerulescens	KC209070	Port Dickson, Malásia	Sohrabipour et al. 2013
P. caerulescens	KC209071	Port Dickson, Malásia	Sohrabipour et al. 2013
P. caerulescens	KC209072	Teluk Kemang, Malásia	Sohrabipour et al. 2013
P. caerulescens	AF305805	Oahu, Ilha do Coco, Havaí, EUA	Thomas & Freshwater 2001
P. caloglossoides (M.A.Howe) Santelices	AY352422	La Parouse, Baía Botânica , Nova Gales do Sul, Austrália	Millar & Freshwater 2005
P. capillacea (S. G. Gmelin) Santelices & Hommersand	AB023841	Oshoro, Hokkaido, Japão	Shimada et al. 2000
P. capillacea	AY352421	Baía Gordon, Clovelly, Nova Gales do Sul, Austrália	Millar & Freshwater 2005
<i>P. megasporangia</i> Sohrabipour, Phang & Lim	KC209067	Teluk Kemang, Malásia	Sohrabipour et al. 2013
P. megasporangia	KC209068	Teluk Kemang, Malásia	Sohrabipour et al. 2013
P. melanoidea (Schousboe ex Bornet) Santelices & Hommersand	U01046	Mallorca, população da Espanha	Freshwater et al. 1994
<i>P. nana</i> (Okamura) Shimada, Horiguchi et Masuda	GU731224	Eoyoung, Jeju, Coréia do Sul	Boo et al 2010
<i>P. phangiae</i> Sohrabipour, Phang & Maggs	KC209079	Port Dickson, Malásia	Sohrabipour et al. 2013
P. phangiae	KC209080	Port Dickson, Malásia	Sohrabipour et al. 2013
P. psammophila Tronchin & Freshwater	EF190255	Recife Ribbon, Baía Sodwana, KwaZulu-Natal, África do Sul	Tronchin & Freshwater 2007
<i>P. tenuis</i> (Okamura) Shimada, Horiguchi & Masuda	GU731222	Wando, Coréia do Sul	Boo et al. 2010

3.3. Estudos morfológicos

O estudo morfológico dos materiais foi baseado em abordagens taxonômicas atualizadas, com detalhamento dos caracteres morfológicos, comparando-se com material-tipo sempre que possível e/ou com espécimes da localidade-tipo. Os cortes anatômicos foram feitos à mão-livre com auxílio de lâmina de barbear, sob microscópio esteroscópio e corados com azul de anilina a 1%, acidificada com HCl 1N. Foram

confeccionadas lâminas semipermanentes preservadas com Karo® 50% e, assim que secas foram seladas com esmalte. Os aspectos gerais foram fotografados em câmera digital PowerShot G12 (Canon) e os caracteres diagnósticos de cada espécie foram ilustrados com sistema digital de captura no microscópio óptico DM4000 B (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha), constituindo um banco de imagens eletrônicas.

A determinação dos caracteres morfo-anatômicos observados foi feita com base na literatura, principalmente em Fernandes & Guimarães (1998), Millar & Freshwater (2005), Perrone *et al* (2006), Santelices (2004), Thomas & Freshwater (2001), Tronchin & Freshwater (2007), Ugadim (1985) e artigos específicos para os diferentes gêneros e/ou espécie:

I. Caracteres vegetativos:

- Cor do talo;
- Tamanho do talo;
- Estolão:
 - Tipo de estrutura de fixação: filamentos rizoidais independentes, apressório tipo "brush-like" ou apressório tipo "peg-like" (Figura 1)
 - Presença ou não de corticação no apressório;
 - o Forma do estolão: cilíndrico, compresso ou achatado;

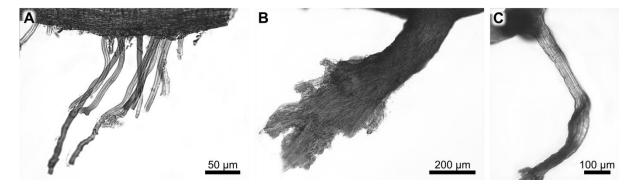


Figura 1 – Estruturas de fixação. A. Filamentos rizoidais independentes. B. Apressório tipo "brush-like". C. Apressório tipo "peg-like".

- Número de camadas de células na medula e no córtex;
- Forma das células medulares;
- Forma das células da camada mais externa do córtex: circulares, transversalmente elípticas ou radialmente elípticas (Figura 2);
- o Distribuição de rizines.

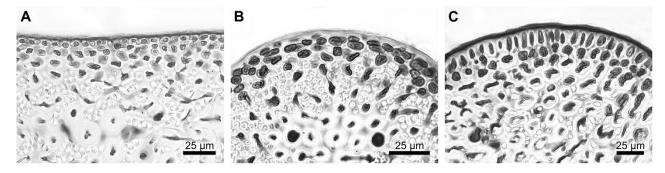


Figura 2 – Cortes transversais mostrando a forma das células da camada mais externa do córtex. A. Células corticais circulares. B. Células corticais transversalmente elípticas. C. Células corticais radialmente elípticas.

· Ramo ereto:

- o Presença ou não de eixo principal;
- o Padrão de ramificação: simples, alterna, dicotômica, pinada ou irregular;
- Presença ou não de constrição nos ramos laterais;
- Forma do ramo principal: cilíndrico, compresso ou achatado (medidos sempre na porção basal e na porção mediana);
- Forma dos ápices: agudo, obtuso, célula apical localizada entre dois lobos corticais ou não;
- o Número de camadas de células na medula e no córtex;
- Forma das células medulares;
- Organização das células medulares centrais: formam ou não uma fileira de células (Figura 3);
- Forma das células da camada mais externa do córtex: circulares, transversalmente elípticas ou radialmente elípticas (Figura 2);
- o Distribuição dos rizines.

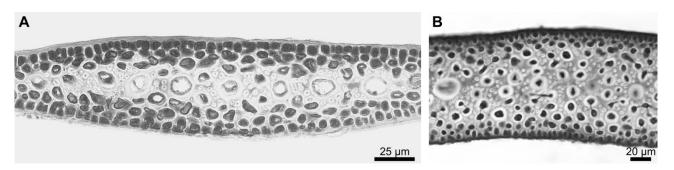


Figura 3 – Cortes transversais da região mediana do talo ereto mostrando a organização das células medulares centrais. A. Células medulares organizadas em uma fileira central. B. Células medulares não organizadas em fileira.

II. Caracteres reprodutivos:

- Plantas tetraspóricas
 - Localização dos soros de tetrasporângio nos ramos férteis;
 - Presença ou não de margens estéreis no soro de tetrasporângios (Figura 4);
 - Margens estéreis afiladas ou arredondadas (Figura 4);
 - Padrão de desenvolvimento do tetrasporângios no soro (acrópeto, basípeto ou irregular);
 - Padrão de divisão do tetrasporângio (tetraédrica ou cruciada);
 - Forma do tetrasporângio (ovoide ou globoide).

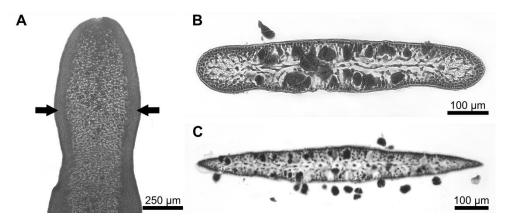


Figura 4 – Margens estéreis do soro de tetrasporângio. A. Vista superficial do ramo com soro de tetrasporângios mostrando as margens estéreis (seta). B e C. Cortes transversais na região do soro de tetrasporângios mostrando as margens estéreis. B. Margens estéreis arredondadas. C. Margens estéreis afiladas.

· Plantas gametofíticas

Monoicas ou dioicas

Plantas femininas

- Localização dos cistocarpos nos ramos férteis;
- Forma do cistocarpo e padrão da saliência (dos dois lados ou de um lado da fronde);
- Quantidade de lóculos (unilocular ou bilocular);
- o Camadas de células corticais no pericarpo;
- Quantidade de filamentos corticais internos;
- Padrão de distribuição de rizines no cistocarpo;
- o Forma dos carpósporos.

Plantas masculinas

- Localização dos soros de espermatângios nos ramos férteis;
- o Padrão de divisão do espermatângio formando o espemácio.

4. Resultados e Discussão

Foram coletadas 146 amostras de Gelidiales na região Sudeste do Brasil: 71 em São Paulo, 28 no Rio de Janeiro e 47 no Espírito Santo. Oito amostras foram obtidas de outros três estados, sendo dois do nordeste, Pernambuco (2 amostras) e Rio Grande do Norte (4 amostras), e um da região Sul, Santa Catarina (2 amostras), totalizando 154 espécimes (Tabela 8). Os detalhes das coletas, assim como os voucher de herbários e indicação dos marcadores sequenciados estão mostrados na Tabela 22 (Apêndice II). Das amostras estudadas, foram identificadas 23 espécies diferentes abrangendo as três famílias: Gelidiella acerosa, Ge. ligulata, Gelidiella sp., Parviphycus sp. (Gelidiellaceae); Gelidium crinale, G. floridanum, G. microdonticum, Gelidium sp. 1, Gelidium sp. 2, Gelidium sp. 3, Gelidium sp. 4, Gelidium sp. 5, Gelidium sp. 6, Gelidium sp. 7, Gelidium sp. 8, Gelidium sp. 9, Gelidium sp. 10 e Gelidium sp. 11 (Gelidiaceae); e, por fim, Pterocladiella australafricanensis, P. bertlettii, P. beachiae, P. capillaceae e Pterocladiella sp. (Pterocladiaceae) (Tabela 8)

Tabela 8 - Quantidade de espécimes por espécies coletados em cada estado.

Espécie	SP	RJ	ES	PE	RN	sc	Total por espécie
Gelidiella acerosa	-	-	2	-	-	-	2
Gelidiella ligulata	5	2	1	-	-	-	8
Gelidiella sp.	-	1	-	-	-	-	1
Gelidium crinale	13	1	4	-	1	-	19
Gelidium floridanum	6	1	3	-	-	1	11
Gelidium microdonticum	6	4	5	-	-	-	15
Gelidium sp. 1	-	-	-	1	1	-	2
Gelidium sp. 2	1	-	1	-	-	-	2
Gelidium sp. 3	2	-	-	-	-	-	2
Gelidium sp. 4	1	-	-	-	-	-	1
Gelidium sp. 5	-	-	3	-	1	-	4
Gelidium sp. 6	-	1	-	-	-	-	1
Gelidium sp. 7	-	4	1	-	-	-	5
Gelidium sp. 8	-	1	-	-	-	-	1
Gelidium sp. 9	-	1	-	-	-	-	1
Gelidium sp. 10	-	-	9	-	-	-	9
Gelidium sp. 11	-	-	2	-	-	-	2
Parviphycus sp.	1	-	-	-	-	-	1
Pterocladiella australafricanensis	-	-	2	-	-	-	2
Pterocladiella bartlettii	13	3	5	1	1	1	24
Pterocladiella beachiae	2	1	2	-	-	-	5
Pterocladiella capillacea	10	8	7	-	-	-	25
Pterocladiella sp.	11	-	-	-	-	-	11
Total por estado	71	28	47	2	4	2	154

4.1. Análises moleculares

A partir das 154 amostras coletadas, foram obtidas 322 sequências, sendo 151 para o marcador UPA, 134 para o COI-5P e 37 para o *rbc*L (CD anexo com as matrizes na contra capa). A quantidade menor de sequências de COI-5P foi devido à dificuldade na amplificação deste marcador, pois era necessário utilizar diferentes pares de "primers" dependendo da espécie (Tabela 3). Em alguns casos não foi possível obter a sequência por causa de problemas durante a etapa do sequenciamento ou decorrentes de contaminação do material.

No marcador UPA, a região dos "primers" é conservada e, portanto, existem "primers" universais, promovendo maior sucesso na amplificação. Este marcador foi sequenciado com intuito de uma primeira triagem na identificação das espécies, para então definir o par de "primers" com maior potencial na amplificação do COI-5P. Com a realização de testes, foi constatada que os pares de "primers" GazF1 e GazR1 eram melhores para amplificar espécies de *Gelidium* e *Gelidiella*. Para as espécies de *Pterocladiella* o par GhalF e COX1R1 foi bastante eficiente na amplificação (Tabela 3).

Havia a intenção de obter o COI-5P para todos os espécimes, pois este possui maior variação, o que torna as análises de divergência mais acurada. Entretanto, devido à dificuldade relacionada à variação na região dos "primers", não foi possível obter esse marcador para todos os espécimes, mas foram adquiridas sequências para todos os táxons revelados pela análise de agrupamento do UPA, com exceção da amostra IBT0060, do gênero *Parviphycus*.

De acordo com as análises de agrupamento dos "DNA barcodes", foram revelados 23 agrupamentos bem definidos. Cada agrupamento foi considerado um táxon distinto. A análise de ambos marcadores resultou em agrupamentos similares, apesar do COI-5P apresentar maior divergência interna nos clados. De cada táxon revelado, foram escolhidos de um a três espécimes para obtenção da sequência de *rbc*L a fim de fazer análises filogenéticas e também comparar com os dados do GenBank, já que existem mais sequências desse marcador no banco de dados. Com isso, foi possível identificar a presença de três espécies do gênero *Gelidiella*, uma de *Parviphycus*, 14 de *Gelidium* e cinco de *Pterocladiella*. A comparação das sequências de *rbc*L das amostras deste estudo com as do banco de dados revelou a presença das seguintes espécies já citadas para o Brasil: *Gelidiella acerosa*, *Ge. ligulata*, *Gelidium crinale*, *G. floridanum*, *Pterocladiella bartlettii* e *P. capillacea*. Além das espécies já citadas em estudos prévios, este trabalho apresenta três novas citações para o Brasil: *Gelidium microdonticum*, *Pterocladiella australafricanensis* e *P. beachiae*. Todas as espécies foram analisadas morfologicamente, confirmando a presença desses táxons. Quatorze espécies não puderam ser identificadas, mesmo aliando dados moleculares e morfológicos, sendo uma espécie de *Gelidiella*, onze de *Gelidium*, uma de *Parviphycus* e uma de *Pterocladiella*.

4.1.1. Análises de agrupamento dos "DNA barcodes"

UPA

A árvore de UPA obtida por análise de agrupamento de Neighbor-Joning foi feita com uma matriz 151 contigs com 371 nucleotídeos (Figura 5). Foram revelados 23 agrupamentos, sendo que cada um corresponde a uma espécie. Na árvore, é possível observar a segregação dos gêneros *Gelidium*, *Pterocladiella* e um agrupamento formado por *Gelidiella* e *Parviphycus*, que pertencem à Gelidiellaceae, a maioria com alto suporte de Bootstrap. Não foi encontrada divergência intraespecífica em nenhuma espécie. A divergência interespecífica dentro dos gêneros variou de 0,6% a 5,4% (2 – 20 nucleotídeos) (Tabela 9).

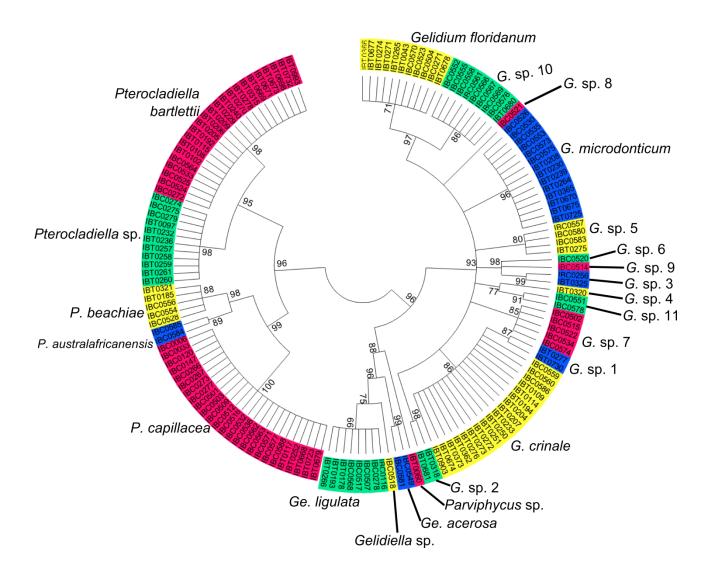


Figura 5 – Análise de Neighbor-Joining (NJ) para sequências do marcador UPA, mostrando os agrupamentos das espécies de Gelidiales. Estão plotados os valores de Bootstrap (2000 réplicas). Foram considerados apenas valores acima de 60.

As espécies de Gelidiellaceae totalizam 12 amostras, sendo oito de *Gelidiella ligulata* e duas de *Ge. acerosa* e duas espécies não identificadas, uma pertencendo ao gênero *Gelidiella* e outra a *Parviphycus*. A divergência interespecífica dentro de *Gelidiella* variou de 1,9% a 2,2% (7 a 8 nucleotídeos) (Tabela 9).

As 66 amostras de *Pterocladiella* estão divididas em cinco espécies. Destas, apenas uma espécie não pôde ser identificada com os dados moleculares e as análises morfológicas. As outras espécies foram identificadas como *P. bartlettii*, *P. beachiae*, *P. australafricanensis* e *P. capillacea*. A variação interespecífica do gênero foi de 0,6% a 5,4% (2 – 20 pb) (Tabela 9). A menor variação foi entre as espécies *P. beachiae* x *P. australafricanensis*. A maior variação ocorreu entre *P. bartlettii* e as espécies *P. beachie* e *P. australafricanensis*.

Todas as 73 sequências do gênero *Gelidium* formam um clado subdividido em 14 agrupamentos. As análises moleculares e morfológicas permitiram a identificação de três espécies: *G. crinale*, *G. floridanum* e *G. microdonticum*. As espécies restantes não puderam ser identificadas em nível de espécie. As espécies *Gelidium* sp. 3, *Gelidium* sp. 6 e *Gelidium* sp. 9 formam um agrupamento que, nas análises de UPA, não é tão evidente, pois está junto às outras espécies de *Gelidium* (Figura 5), porém este se sobressai nas

análises de COI-5P e nas análises filogenéticas, que serão discutidas mais à frente. Por isso, o agrupamento formado por essas espécies será chamado de "Grupo 3-6-9" neste trabalho, para facilitar a discussão. A divergência interespecífica variou de 0,6% a 4,9% (2 – 18 pb) (Tabela 9), incluindo o Grupo 3-6-9. A divergência mínima apareceu entre as espécies *Gelidium crinale* x *Gelidium* sp. 1; *Gelidium* sp. 4 x *Gelidium* sp. 11 e G. *floridanum* x *Gelidium*. sp. 10. Apesar da diferença de apenas 2 nucleotídeos, esses táxons foram considerados diferentes devido as análises dos outros marcadores. A maior variação ocorreu entre *Gelidium* sp. 3 com as espécies *G. crinale*, *Gelidium* sp. 1 e *Gelidium* sp. 2. Excluindo o Grupo 3-6-9 das outras espécies, a variação interespecífica máxima para o gênero passa a ser de 3,6% (13 nucleotídeos), que ocorre entre *Gelidium* sp. 2 e *Gelidium* sp. 10.

A divergência intergenérica, considerando o Grupo 3-6-9 incluído em *Gelidium*, variou de 5,2% a 10,6% (19 – 39 nucleotídeos) (Tabela 9). A menor divergência intergenérica foi entre *Gelidiella acerosa* e *Parviphycus* sp. A divergência máxima ocorreu entre *Parviphycus* sp. e *Pterocladiella caerulescens*. A divergência entre o Grupo 3-6-9 e as outras espécies de *Gelidium* variou entre 2,2% e 4,9% (8 – 18 nucleotídeos) (Tabela 9).

Por ser de fácil amplificação e sequenciamento, o marcador UPA foi utilizado para uma primeira triagem na identificação dos táxons e, assim, selecionar os pares de "primers" para a amplificação do COI-5P. O UPA não tem grande poder de resolução na identificação das espécies e pode subestimar a diversidade (Clarkston & Saunders, 2010; Sherwood *et al.*, 2010). Apesar disso, os resultados dos agrupamentos foram semelhantes ao encontrado com os outros marcadores, porém a divergência de apenas dois nucleotídeos torna a análise pouco eficiente para delimitação de espécies.

Tabela 9 – Divergências intraespecífica, interespecífica e intergenérica para os marcadores UPA, COI-5P e *rbc*L para todos os gêneros estudados. Todas análises de divergência foram feitas apenas com sequências desse trabalho.

	UPA (371pb)		COI-5	P (631 pb)	rbcL (1336 pb)	
	pb	%	pb	%	pb	%
Intraespecífica						
Gelidiella	-	-	0 - 4	0 - 0,7%	-	-
Pterocladiella	-	-	0 - 4	0 - 0,7%	0 - 3	0 - 0,2%
Gelidium (c/Grupo 3-6-9)	-	-	0 - 8	0 - 1,2%	0 - 8	0 - 0,6%
Interespecífica						
Gelidiella	7 - 8	1,9% - 2,2%	83 - 97	13,2% - 15,3%	72 - 100	5,4% - 7,5%
Pterocladiella	2 - 20	0,6% - 5,4%	27 - 102	4,3% - 16,2%	16 - 144	1,2% - 10,8%
Gelidium (c/ Grupo 3-6-9)	2 - 18	0,6% - 4,9%	27 - 112	4,3% - 17,8%	12 - 171	0,9% - 12,8%
Gelidium (s/ Grupo 3-6-9)	2 - 13	0,6% - 3,6%	27 - 97	4,3% - 15,4%	12 - 138	0,9% - 10,3%
Intergenérica						
Gelidiella x Gelidium	20 - 35	5,4% - 9,5%	100 - 124	15,9% - 19,7%	168 - 204	12,6% - 15,3%
Gelidiella x Parviphycus	19 - 22	5,2% - 6,0%	-	-	138 - 151	10,3% - 11,3%
Gelidiella x Pterocladiella	22 - 30	6,0% - 8,1%	109 - 126	17,2% - 19,9%	175 - 207	13,1% - 15,5%
Gelidium* x Parviphycus	26 - 31	7,1% - 8,4%	-	-	166 - 203	12,4% - 15,2%
Gelidium* x Pterocladiella	20 - 37	5,4% - 10,0%	86 - 119	13,7% - 18,8%	148 - 198	11,1% - 14,8%
Pterocladiella x Parviphycus	29 - 39	7,9% - 10,6%	-	-	179 - 202	13,4% - 15,1%
Grupo 3-6-9 x Gelidium	8 - 18	2,2% - 4,9%	90 – 112	14,2% - 17,8%	136 - 171	10,2% - 12,8%

^{*} incluindo o Grupo 3-6-9

COI-5P

A árvore de COI-5P foi obtida utilizando uma matriz de 134 sequências consensos com 631 nucleotídeos da região 5' do gene (Figura 6). Com exceção de *Parviphycus* sp. (IBT0060), em que não foi possível obter sequência de COI-5P, todos os agrupamentos obtidos foram semelhantes à árvore de UPA.

A região do COI-5P possui maior variação de nucleotídeos que o marcador UPA. As análises revelaram a ocorrência de divergência intraespecífica (Tabela 10), que variou de 0 a 1,2% (0 a 8 pb). A divergência interespecífica variou de 4,3% - 17,8% (27 – 112 pb) (Tabela 9).

As sequências de *Gelidiella* formaram um clado com alto suporte de Bootstrap (Figura 6). Foi obtido um total de sete sequências, sendo uma de *Gelidiella* sp., duas de *Ge. acerosa* e quatro de *Ge. ligulata*. Houve divergência intraespecífica apenas em *Ge. ligulata*, de 0,7% (4 nucleotídeos) (Tabela 10), que ocorreu entre os haplótipos de São Paulo e o do Espírito Santo. A divergência interespecífica variou de 13,2% a 15,3% (83 – 97 nucleotídeos), sendo a menor divergência entre *Ge. ligulata* e *Gelidiella* sp. e a maior entre *Ge. ligulata* e *Ge. acerosa*.

As espécies de *Pterocladiella* formaram um clado único com um valor de Bootstrap de 90 (Figura 6). Ocorreu variação intraespecífica em *P. barltettii*, *P. beachiae* e *P. capillacea* (Tabela 10). Em *P. beachiae*, a divergência foi de 0,2% (1 nucleotídeo) apenas no haplótipo do espécime coletado na Ilha Rapada, em Ubatuba (IBT0185) em relação aos outros haplótipos. Em *P. capillacea*, a divergência foi entre 0,2% a 0,4% (1 – 2 nucleotídeos), que ocorreu entre dois haplótipos do Rio de Janeiro (IBC0512 e IBC0516) em relação aos outros haplótipos. Em *P. bartlettii*, a divergência intraespecífica foi maior, de 0,4% a 0,7% (3 – 4 nucleotídeos). A variação máxima ocorreu entre o clado formado somente por haplótipos de espécimes coletados em Ubatuba, São Paulo, (Figura 6) e clado formado por haplótipos de espécimes do nordeste. A menor variação foi entre o clado formado por amostras de todos os estados do Sudeste com os outros dois clados citados acima (Figura 6). A divergência interespecífica foi de 4,3% a 16,2% (27 – 102 nucleotídeos) (Tabela 9). A divergência mínima foi entre *P. beachiae* e *P. australafricanensis*. A máxima ocorreu entre *P. australafricanensis*. A máxima ocorreu entre *P. australafricanensis*.

Tabela 10 – Divergência intraespecífica dos táxons estudados segundo os marcadore COI-5P e *rbc*L. Espécie sem

sequência (N).

sequencia (N).		COI-5P			rbcL	
Espécie	Sequências geradas	%	pb	Sequências geradas	%	pb
Gelidiella acerosa	2	0	0	2	0	0
Gelidiella ligulata	4	0 - 0,7	4	1	0	0
Gelidiella sp.	1	0	0	1	0	0
Parviphycus sp.	N	N	N	1	0	0
Gelidium crinale	19	0,2 - 0,5	1 - 3	2	0	0
Gelidium floridanum	10	0,2 - 0,4	1 - 3	2	0,6	8
Gelidium microdonticum	15	0,2 - 0,7	1 - 4	2	0	0
Gelidium sp. 1	2	0,2	1	2	0,3	4
Gelidium sp. 2	2	0	0	1	0	0
Gelidium sp. 3	3	0	0	2	0	0
Gelidium sp. 4	1	0	0	1	0	0
Gelidium sp. 5	4	0,2 - 1,2	1 - 8	2	0,4	5
Gelidium sp. 6	1	0	0	1	0	0
Gelidium sp. 7	4	0 - 0,8	5	2	0,1	1
Gelidium sp. 8	1	0	0	1	0	0
Gelidium sp. 9	1	0	0	1	0	0
Gelidium sp. 10	8	0	0	2	0	0
Gelidium sp. 11	2	0	0	1	0	0
P. australafricanensis	2	0	0	1	0	0
Pterocladiella bartlettii	17	0,4 - 0,7	3 - 4	2	0,2	3
Pterocladiella beachiae	5	0 - 0,2	1	2	0	0
Pterocladiella capillacea	20	0,2 - 0,4	1 - 2	2	0	0
Pterocladiella sp.	11	0	0	3	0	0

Diferente da árvore de UPA, as 72 sequências de *Gelidium* não formaram um clado único. O clado do Grupo 3-6-9, formado com alto suporte, ficou separado das outras espécies de *Gelidium*, que também possui alto suporte (Figura 6). Houve divergência intraespecífica de 0 a 1,2% (0 – 8 pb) entre as espécies de *Gelidium*, incluindo o Grupo 3-6-9 (Tabela 9 e Tabela 10). A maior variação ocorreu nas amostras de *Gelidium* sp. 5, entre os espécimes IBT0275, do Rio Grande do Norte, e IBC0557, do Espírito Santo. Duas análises de divergência interespecífica foram feitas, uma com o Grupo 3-6-9 e outra sem. A divergência interespecífica incluindo o Grupo 3-6-9 foi de 4,3% a 17,8 % (27 – 112 pb) (Tabela 9). A divergência mínima ocorreu entre *G. floridanum* x *Gelidium* sp. 10 e a máxima foi entre *Gelidium* sp. 6 e *Gelidium* sp. 8. Sem considerar o Grupo 3-6-9, a variação máxima passa a ser de 15,4% (97 pb), entre *Gelidium* sp. 2 e *Gelidium* sp. 8.

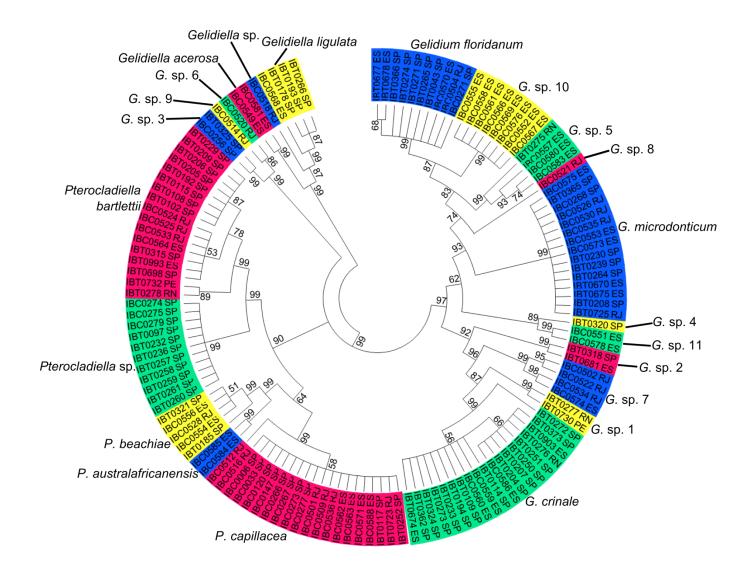


Figura 6 – Análise de Neighbor-Joining (NJ) para sequências do marcador COI-5P, mostrando os agrupamentos das espécies de Gelidiales. Estão plotados os valores de Bootstrap (2000 réplicas). Foram considerados apenas valores acima de 50.

Nas análises de divergência intra e interespecíficas dos três gêneros não ocorreu sobreposição no "barcoding-gap", ou seja, entre a divergência máxima da intraespecífica e a mínima da interespecífica.

rbcL

As análises de divergência nas sequências também foram realizadas para o marcador *rbc*L (Tabela 9). Apesar de não ser ter sido sequenciado com a intenção de "DNA barcode", as análises foram feitas para comparar os valores de "barcoding-gap" com o COI-5P. As sequências de *Gelidiella* não apresentaram divergência intraespecífica (Tabela 10) e a divergência interespecífica variou de 5,4% a 7,5% (72-100 nucleotídeos). Para *Gelidium*, incluindo o Grupo 3-6-9, a divergência intraespecífica máxima foi de 0,6% (8 nucleotídeos) (Tabela 10) e a divergência interespecífica variou de 0,9% a 12,8% (12-171 nucleotídeos). Excluindo Grupo 3-6-9 das análises, a divergência interespecífica máxima passa a ser de 10,3% (138 nucleotídeos). A divergência entre espécies mínima ocorreu entre *Gelidium crinale* e *Gelidium* sp. 1. Em *Pterocladiella* a variação intraespecífica máxima foi de 0,2% (3 nucleotídeos) (Tabela 10) e a divergência

entre as espécies variou de 1,2% a 10,8% (16-144 nucleotídeos). A divergência interespecífica mínima ocorreu entre *Pterocladiella beachiae* e *Pterocladiella australafricanensis*.

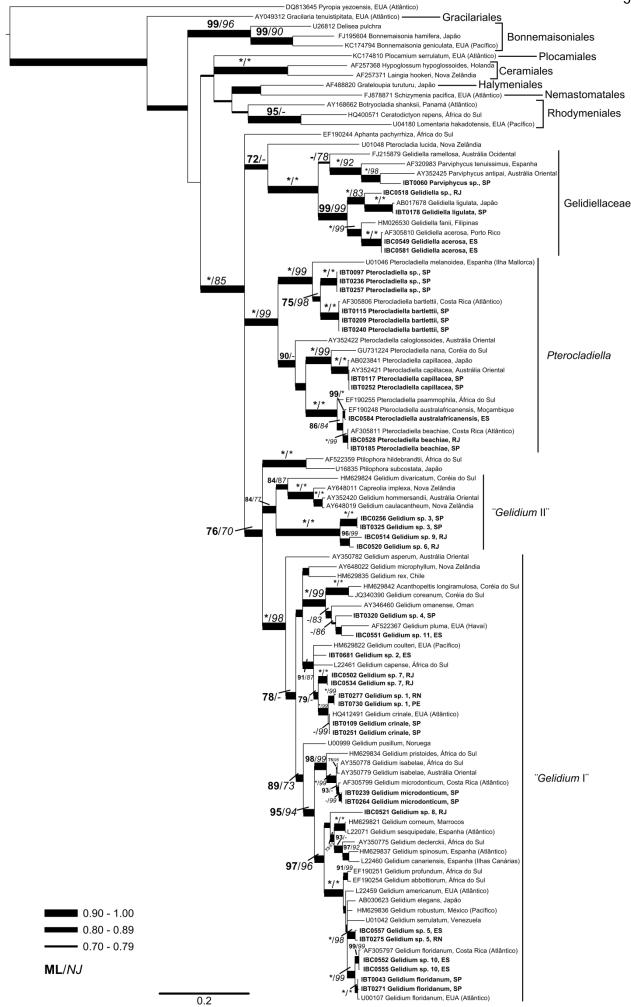
A utilização da técnica de "DNA barcoding" mostrou-se eficiente para auxiliar a taxonomia de Gelidiales para a costa do sudeste brasileiro. Assim como era esperado, o marcador UPA é relativamente mais conservado (Sherwood *et al.*, 2010) e a separação de espécies era dada com a diferença mínima de dois nucleotídeos. Essa delimitação não é satisfatória para distinguir espécies e torna o UPA pouco efetivo, embora o resultado da análise de agrupamento ter sido igual ao COI-5P. Apesar da ineficiência como "DNA barcode" do UPA para espécies proximamente relacionadas, este marcador foi essencial para uma primeira triagem das espécies, já que os "primers" são universais e havia uma necessidade de modificar a combinação de "primers" para amplificar o COI-5P.

4.1.2. Análises filogenéticas

Análise filogenética com rbcL

Para as análises filogenéticas, foi gerada uma matriz de alinhamento com 102 sequências com 1239 pb, incluindo as 38 sequências obtidas neste trabalho e mais 64 retiradas do GenBank. Destas 51 sequências são de Gelidiales e outras 13 pertencem a outras ordens. Na obtenção das sequências deste trabalho foram amplificadas a região do gene *rbc*L e a região espaçadora *rbc*L-*rbc*S. Entretanto, a região espaçadora foi retirada das análises, pois as sequências do Genbank não possuíam essa região. Como grupo externo, foi utilizada uma sequência de *Pyropia yezoensis* (n° de acesso: DQ813645). O cladograma resultante da análise de inferência bayesiada (BI) com os valores de Bootstrap das análises de máxima verossimilhança (ML) e de distância por Neighbor-Joining (NJ) mostra as relações filogenéticas dessas espécies, segundo esse marcador (Figura 7).

Figura 7 – Árvore consenso de inferência bayesiana (BI) para as sequências de *rbc*L, mostrando as relações filogenéticas das espécies de Gelidiales. A probabilidade *a posteriori* (pp) estão representadas na espessura dos ramos, segundo a legenda na figura. Nos ramos, à esquerda e em negrito, estão plotados os valores de Bootstrap para análise de máxima verossimilhança (ML). À direita e em itálico estão plotados os valores de Bootstrap da análise de agrupamento de Neighbor-Joining (NJ). Asterisco (*) indica 100% de Bootstrap. Foram considerados apenas valores acima de 70%. Sequências em negrito foram geradas neste trabalho.



Sequências de outras ordens foram incluídas na análise filogenética para confirmar o monofiletismo de Gelidiales, este, por sua vez, teve alto suporte nas análises de BI (probabilidade *a posteriori* igual a 1) e ML (valor de Bootstrap igual a 100%). Já na análise de agrupamento de NJ o suporte foi mediano (valor de Bootstrap igual a 85).

Todas as sequências pertencentes aos táxons que não foram identificados em nível de espécies são novas para o banco de dados. Estas podem ser espécies já descritas que ainda não possuem dados moleculares ou podem ser espécies novas.

A topografia obtida nesta análise é semelhante à encontrada em trabalhos anteriores (Freshwater *et al.*, 1995; Millar & Freshwater, 2005; Nelson *et al.*, 2006; Shimada *et al.*, 1999; Thomas & Freshwater, 2001; Tronchin & Freshwater, 2007).

Segundo o cladograma, as relações entre as famílias Gelidiellaceae, Pterocladiaceae e Gelidiaceae são incertas, pois formam uma politomia que inclui as famílias e a espécie *Aphanta pachyrrhiza* (Figura 7). *Aphanta pachyrrhiza* foi colocada na família Pterocladiaceae com base na análise de máxima verossimilhança do marcador LSU, porém, sua posição filogenética é incerta em filogenias de outros marcadores (Tronchin & Freshwater, 2007). Além disso, possui algumas características morfológicas diferentes das que caracterizam as outras famílias de Gelidiales. Por exemplo, apressório formado por filamentos rizoidais produzidos por células corticais internas e externas. Em Pterocladiaceae e Gelidiaceae os filamentos são produzidos apenas por células corticais internas e em Gelidiellaceae, apenas por células corticais externas do estolão (Tronchin & Freshwater, 2007).

Gelidiellaceae é monofilética, as espécies desta família formam um clado único com alto suporte em todas as análises (Figura 7). Trabalhos anteriores confirmam o monofiletismo deste grupo (Lin & Freshwater, 2008; Nelson et al., 2006; Wiriyadamrikul et al., 2010). Excluindo Gelidiella ramellosa (FJ215879), as espécies de Gelidiella formam um clado monofilético, também com alto suporte. Gelidiella sp. (IBC0518) foi considerada dentro desse gênero por estar inserida neste clado. Parviphycus tenuissimus (AF320983) e Pa. antipai (AY352425) formaram um clado monofilético com alto suporte, junto com Parviphycus sp. (IBT0060), que foi incluído no gênero por estar dentro deste clado e também considerando análises morfológicas (ver comentários Parviphycus sp.). Gelidiella ramellosa (FJ215879) é grupo irmão de Parviphycus, o que leva a considerar Gelidiella como grupo parafilético nesta análise. Dados moleculares tem mostrado inconsistência na separação dos dois gêneros (Huisman et al., 2009). Gelidiella ramellosa possui características morfológicas típicas de Parviphycus, mas análises moleculares com rbcL e o marcador nuclear LSU (gene nuclear que codifica a subunidade grande do ribossomo) mostraram que essa espécie é intermediária aos dois gêneros (Huisman et al., 2009), indicando que uma revisão acurada com uma abordagem molecular, aliada a morfologia deve ser feita para família (Huisman et al., 2009).

Pterocladia lucida, que pertence à família Pterocladiaceae, formou um agrupamento com Gelidiellaceae, apesar de apresentar baixo suporte (Figura 7). A posição dessa espécie tem se mostrado incerta em trabalhos anteriores. As vezes aparece como grupo-irmão de *Pterocladiella* (Freshwater & Bailey, 1998; Nelson *et al.*, 2006; Tronchin & Freshwater, 2007), mas também pode apresentar-se na base da filogenia, não agrupando com *Pterocladiella* (Freshwater & Bailey, 1998; Freshwater *et al.*, 1995; Millar & Freshwater, 2005; Shimada *et al.*, 1999; Thomas & Freshwater, 2001). Esta relação corrobora na separação dos dois gêneros, proposta por Santelices & Hommersand (1997), contudo, Pterocladieaceae é parafilética e uma revisão deve ser feita para a família.

Todas as *Pterocladiella* spp. formaram um clado monofilético com alto suporte (Figura 7). Dentro do clado, dois agrupamentos principais foram formados. O primeiro deles possui *P. melanoidea* na base e

P. bartlettii como grupo irmão de Pterocladiella sp. Espécimes de P. bartlettii do Brasil divergiram em apenas um nucleotídeo do espécime da Costa Rica (AF305806) e formaram um clado monofilético. O segundo clado possui P. caloglossoides na base de dois grupos: um formado por P. capillacea e P. nana e outro por P. australafricanensis, P. psammophila e P. beachiae. As sequências de P. capillacea brasileiras são idênticas ao espécime australiano (AY352421) e divergiram em dois nucleotídeos do espécime japonês (AB023841). P. psammophila, P. australafricanensis e P. beachiae, formam um grupo monofilético bem sustentado. P. australafricanensis coletada na costa brasileira (IBC0584) diverge em 4 nucleotídeos do espécime de Moçambique (EF190248). As P. beachiae do Brasil são idênticas à sequência da Costa Rica (AF305811), localidade tipo.

Pterocladiella beachiae foi descrita pela primeira vez para a Costa Rica por Thomas & Freshwater (2001). Porém, Tronchin & Freshwater (2007), estudando Gelidiales da África do Sul discutiram a plasticidade fenotípica encontrada em *P. caerulescens* e a baixa divergência do marcador *rbc*L entre a espécies coletadas na Costa Rica e África do Sul. Com isso, decidiram por manter *P. beachiae* em sinonímia com *P. caerulescens*. Freshwater *et al.* (2010), aliando análises de "DNA barcoding" das sequências de COI-5P mostraram que as espécies do complexo "*P. caerulencens*" da Costa Rica, África do Sul e Havaí apresentavam entre si alto valor de "barcoding-gap". Com base nisso, eles propuseram o retorno de *Pterocladiella beachiae* para espécimes do Caribe e descreveram a *P. australafricanensis* para espécimes africanos. Neste trabalho, a separação das duas espécies é corroborada.

Uma análise mais apurada em relação ao gênero *Pterocladiella* foi feita para explicitar a relação dessas espécies do "complexo *Pterocladiella caerulescens*". A topologia da análise da ordem como um todo (Figura 7) e da análise de *Pterocladiella* (Figura 8) foram semelhantes. As espécies que compõem o complexo "*P. caerulescens*" formam clados monofiléticos entre si (Figura 8), esse resultado é semelhante ao apresentado por Sohrabipour *et al.* (2013). Ambos os trabalhos reforçam a proposta de Freshwater *et al.* (2010) de manter essas espécies separadas, porém, revelam que essas espécies não são encontradas apenas nas localidades tipo e arredores. Uma discussão mais aprofundada será feita na seção 4.3, englobando as análises do valor de "barcoding-gap".

As análises filogenéticas deste estudo indicam que *Gelidium* é polifilético (Figura 7). Uma politomia foi formada separando os clados *Ptilophora*, "*Gelidium* II", que inclui o Grupo 3-6-9, e "*Gelidium* I", que comporta a maioria das espécies de *Gelidium*. Esses três clados compõem Gelidiaceae. Essa relação não monofilética de *Gelidium* já foi apresentada na maioria dos trabalhos anteriores de filogenia de Gelidiales (Freshwater *et al.*, 1995; Millar & Freshwater, 2005; Nelson *et al.*, 2006; Thomas & Freshwater, 2001; Tronchin & Freshwater, 2007). A topologia apresentada na árvore desse trabalho também se assemelha aos trabalhos anteriores (Kim & Boo, 2012; Kim *et al.*, 2012; Nelson *et al.*, 2006).

No clado "Gelidium II", as espécies do "Grupo 3-6-9" possuem um ancestral em comum entre si. Este grupo forma um clado monofilético junto de *G. divaricatum*, *G. hommersandii*, *G. caulacantheum* e *Capreolia implexa*, porém, com suporte mediano (Figura 7). Um estudo da taxonomia e filogenia de *Gelidium divaricatum* propôs a segregação dessa espécie para um novo gênero, *Gelidiophycus* (Boo *et al.*, 2013) e considera que *Gelidium* está separado em quatro clados diferentes: i) o clado principal de *Gelidium* ("*Gelidium* I" deste trabalho), ii) grupo *Gelidium divaricatum*, transferido para *Gelidiophycus*; iii) grupo *Capreolia/Gelidium caulacantheum*; e iv) grupo *Gelidium* chilenos (não apresentado na Figura 7) (Boo *et al.*, 2013). Seguindo esse raciocínio, o clado formado pelo Grupo 3-6-9 pode representar um gênero novo.

O grupo "Gelidium I" é monofilético, com alto suporte (Figura 7), incluindo Acanthopeltis longiramulosa que deveria ser transferida para o gênero Gelidium. Esse grupo deve ser considerado como

Gelidium verdadeiro, pois a espécie tipo, Gelidium corneum, já foi sequenciada e está inserida no grupo. Apesar do monofiletismo, a relação dentro do grupo é pouco esclarecida. Dois clados principais foram formados, com suporte mediano. O primeiro deles, Gelidium sp. 4 e Gelidium sp. 11 formam um clado bem sustentado com G. omanense, G. pluma, Acanthopeltis longiramulosa e G. coreanum.

Gelidium sp. 2 está dentro de uma politomia, o que impede de tirar maiores conclusões. Gelidium sp. 7, forma um clado pouco sustentado com *G. crinale* e *Gelidium* sp. 1. Estas duas espécies, por sua vez, formam um clado monofilético bem suportado, indicando serem espécies muito próximas. As sequências de amostras brasileiras de *Gelidium crinale* são idênticas ao material americano (HQ412491) e ao material sequenciado da localidade tipo, Ilfrecombe, Devon, Inglaterra (n° de acesso JX096520; Kim & Boo, 2012).

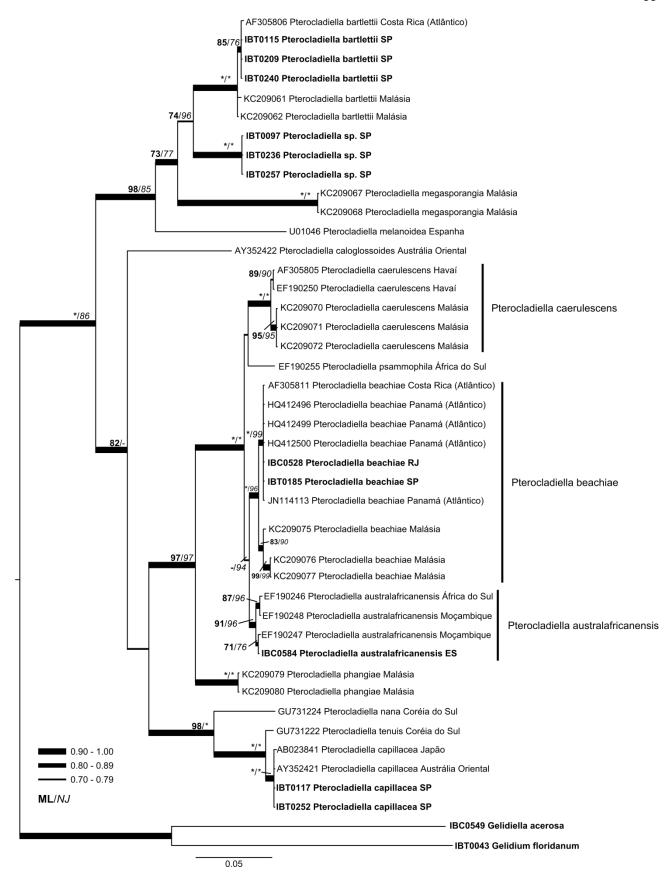


Figura 8 – Árvore consenso de inferência bayesiana (BI) para as sequências de *rbc*L, mostrando as relações filogenéticas das espécies de *Pterocladiella*. A probabilidade à posteriori (pp) estão representadas na espessura dos ramos, segundo a legenda na figura. Nos ramos, à esquerda e em negrito, estão plotados os valores de Bootstrap para análise de máxima verossimilhança (ML). À direita e em itálico estão plotados os valores de Bootstrap da análise de agrupamento de Neighbor-Joining (NJ). Asterisco (*) indica 100% de Bootstrap. Foram considerados apenas valores acima de 70%. Sequências em negrito foram geradas neste trabalho.

O segundo grande clado está mais bem resolvido, em comparação ao primeiro (Figura 7). *G. pusillum* aparece na base de todas outras espécies. Dois agrupamentos são formados com suporte razoavelmente alto. O primeiro destes inclui *G. microdonticum*, *G. isabelae* e *G. pristoides*. *G. microdonticum* é grupo irmão de *G. isabelae*, com alto suporte. Essas duas espécies foram um clado, também com alto suporte, com *G. pristoides*. As espécies de *G. microdonticum* brasileiras divergiram em 9 nucleotídeos do espécime da Costa Rica (AF305799). O segundo clado é formado por várias espécies de *Gelidium*, incluindo as espécies que foram obtidas neste estudo: *Gelidium* sp. 8, *Gelidium* sp. 5, *Gelidium* sp. 10 e *G. floridanum*. *Gelidium* sp. 8 e *Gelidium* sp. 5 formam ramos isolados. As sequências obtidas das amostras de *Gelidium floridanum* do Brasil variaram de 0,3% a 0,5% (3 – 6 pb) do espécime da Flórida (U00107), localidade tipo da a espécie. As sequências de *rbc*L de *Gelidium* sp. 10 formaram um clado junto de uma espécie identificada com *G. floridanum* da Costa Rica (AF305797). Apesar de serem espécies próximas e, outrora nomeadas com o mesmo nome, as análises revelam se tratar de espécies diferentes (ver seção 4.3)

Análise filogenética concatenada com rbcL + COI-5P + UPA

Para a análise concatenada dos marcadores *rbc*L, COI-5P e UPA foi gerada uma árvore consenso de BI, na qual foram plotados os valores de ML e NJ nos ramos (Figura 9), assim como foi feito na árvore filogenética de *rbc*L. Nesse tipo de análise, é importante que todos os marcadores sejam oriundos de um mesmo espécime, e, por isso, nesta análise foram utilizadas somente sequências de Gelidiales obtidas neste trabalho. Apenas *Parviphycus* sp. não entrou nesta análise por falta de sequências do COI-5P. Para enriquecer as análises, foram adicionadas outras sequências, de espécies não pertencentes à Gelidiales, cedidas por outros pesquisadores (Tabela 6). *Pyropia endivifolia* foi escolhida como grupo externo.

A topologia encontrada na análise concatenada foi semelhante da árvore de *rbc*L. Gelidiales é um grupo monofilético, com alto suporte no ramo (Figura 9). As espécies de *Gelidiella* formaram um clado monofilético, com suporte máximo. *Gelidiella* sp. forma um grupo monofilético com *Ge. ligulata*. As espécies de *Pterocladiella* e de *Gelidium* formaram um clado monofilético com baixo suporte, tornando incerta a relação entre esses dois gêneros. Todas as *Pterocladiella* spp. formaram um clado monofilético com alto suporte. *Pterocladiella bartlettii* é grupo irmão de *Pterocladiella* sp. *P. australafricanensis* é grupo irmão de *P. beachiae*, que juntos aproximam-se de *P. capillacea*.

O Grupo 3-6-9 formou um clado irmão bem sustentado com as outras espécies de *Gelidium*. A topologia encontrada no clado de *Gelidium* também foi semelhante à encontrada na árvore de *rbc*L. *Gelidium* sp. 2, *Gelidium* sp. 7, *Gelidium* sp. 1 e *G. crinale* formaram um clado monofilético, em que *G. crinale* é grupo irmão de *Gelidium* sp. 1, juntos formam um clado com *Gelidium* sp. 7.

Gelidium sp. 4 e Gelidium sp. 11 formaram um ramo separado. As outras espécies, *G. microdonticum*, *Gelidium* sp. 8, *Gelidium* sp. 5, *Gelidium* sp. 10 e *G. floridanum* formaram um clado com alto suporte. *Gelidium floridanum* é grupo irmão de *Gelidium* sp. 10 e juntos estão próximos de *Gelidium* sp. 5. *Gelidium* sp. 8 forma um ramo isolado, assim como na árvore de *rbc*L e, por fim, *G. microdonticum* forma um clado separado das espécies citadas acima.

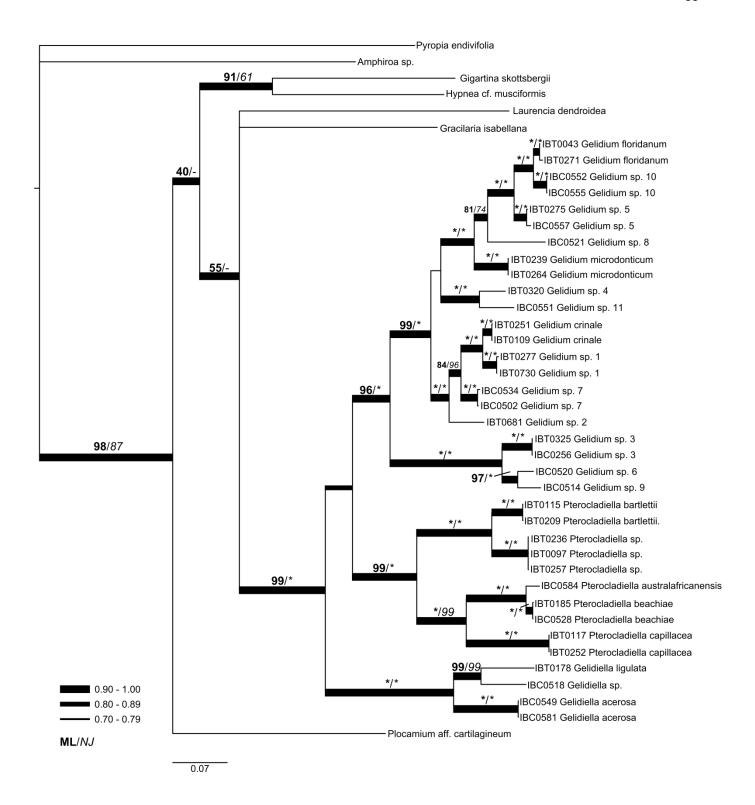


Figura 9 – Árvore consenso de inferência bayesiana (BI) para as sequências de *rbc*L+COI-5P+UPA combinadas, mostrando as relações filogenéticas das espécies de Gelidiales obtidas neste trabalho. A probabilidade *a posteriori* (pp) estão representadas na espessura dos ramos, segundo a legenda na figura. Nos ramos, à esquerda e em negrito, estão plotados os valores de Bootstrap para análise de máxima verossimilhança (ML). À direita e em itálico estão plotados os valores de Bootstrap da análise de agrupamento de Neighbor-Joining (NJ). Asterisco (*) indica 100% de Bootstrap.

4.2. Análises morfológicas

4.2.1. Sinopse dos táxons estudados

Família Gelidiellaceae Fan

Gênero Gelidiella Feldmann & G. Hamel

Gelidiella acerosa (Forsskål) Feldmann & G. Hamel

Gelidiella ligulata E. Y. Dawson

Gelidiella sp.

Gênero Parviphycus Santelices

Parviphycus sp.

Família Gelidiaceae Kützing

Gênero Gelidium J. V. Lamouroux

Gelidium crinale (Hare ex Turner) Gaillon

Gelidium floridanum W. R. Taylor

Gelidium microdonticum W. R. Taylor

Gelidium sp. 1

Gelidium sp. 2

Gelidium sp. 3

Gelidium sp. 4

Gelidium sp. 5

Gelidium sp. 6

Gelidium sp. 7

Gelidium sp. 8

Gelidium sp. 9

Gelidium sp. 10

Gelidium sp. 11

Família Pterocladiaceae G. P. Felicini & C. Perrone

Gênero Pterocladiella Santelices & Hommersand

Pterocladiella australafricanensis Tronchin & Freshwater

Pterocladiella bartlettii (W.R. Taylor) Santelices

Pterocladiella beachiae Freshwater

Pterocladiella capillacea (S.G. Gmelin) Santelices & Hommersand

Pterocladiella sp.

4.2.2. Chave artificial dicotômica para a identificação de Gelidiales com ênfase na região Sudeste do Brasil

Chave artificial dicotômica para identificação de Família

1a. 1b.	Presença de rizines. Estrutura de fixação: formada por apressório composto por filamentos rizoidais agrupados originados das células corticais internas do estolão	
	estolão	Gelidieliaceae
	2a. Apressório do tipo "brush-like". Cistocarpo bilocular, com dois ostíolos, sendo um em cada lado da fronde	Calidianana
	2b. Apressório do tipo "peg-like". Cistocarpo unilocular, com um ou	Geliulaceae
	dois ostíolos, sendo todos do mesmo lado da fronde	Pterocladiaceae
	dois ostiolos, serido todos do mesmo lado da nonde	i terociadiaceae
(Chave artificial dicotômica para identificação de táxons estuda	dos de Gelidiellaceae
1a.	Plantas com apenas uma camada de células medulares no ramo ereto	Parviphycus sp.
1b.	Plantas com mais de uma camada de células medulares no ramo ereto	2
	2a. Plantas com ramo ereto achatado distalmente com nervura	
	longitudinal evidente	Ge. ligulata
	2b. Plantas com ramo ereto cilíndrico	3
3a.	Plantas com ramificação pinada anastomoses ausentes	Ge. acerosa
3b.	Plantas com ramificação dicotômica e anastomoses presentes	Gelidiella sp.
С	have artificial dicotômica para identificação de táxons estudad	los de Pterocladiaceae
	•	
1a.	Plantas geralmente grandes (até 15 cm de altura), ramificação	
	essencialmente pinada a bipinada nos dois terços superiores do ramo	
	ereto dando à fronde um contorno triangular; medula com mais de 10	D. aanillaasa
41	camadas de células por todo talo	
1b.	Plantas com outras características	2
	2a. Plantas com largura acima de 1000 µm; ramos laterais não tão	
	delgados em relação ao ramo principal; rizines numerosos na	
	medula	
		beachiae*
	2b. Plantas com largura de 500 a 900 μm; ramos laterais mais	
	delgados em relação ao ramo principal; rizines escassos ou	
	ausentes na medula	3
3a.	Presença de pelos hialinos apicais	
3b.	Ausência de pelos hialinos apicais	
		P. bartlettii (parte)*

^{*} Espécies separadas por COI-5P

Chave artificial dicotômica para identificação de táxons estudados de Gelidiaceae

1a.	Plantas com fileira central de células medulares evidente na porção	
	mediana do talo ereto	2
1b.	Plantas sem fileira central de células medulares evidente na porção	
	mediana do talo ereto	8
	2a Ramo ereto com margem serreada	G. microdonticum
	2b Ramo ereto sem margem serreada	3
3a.	Soros de tetrasporângio com margens estéreis afiladas	4
3b.	Soros de tetrasporângios com margens estéreis arredondadas	5
	4a. Célula apical nunca entre dois lobos corticais, base do ramo ereto	
	cilíndrico-compressa, tornando-se gradualmente achatado em	
	direção ao ápice	Gelidium sp. 3
	4b. Célula apical entre dois lobos corticais em ramos mais velhos,	
	base do ramo ereto curta, cilíndrico-compressa, lâmina	
	homogeneamente achatada	Gelidium sp. 9
5a.	Estolão cilíndrico com até 100 μm de diâmetro e três camadas de	
	células medulares	Gelidium sp. 8
5b.	Estolão cilíndrico com diâmetro acima de 100 µm de diâmetro e mais	
	de três camadas de células medulares	6
	6a. Plantas com ramo ereto achatado distalmente medindo 110-120	
	μm de espessura e 200-210 μm de largura na região distal	Gelidium sp. 4
	6b. Plantas e ramo ereto achatado com espessura de 100-150 μm	
	com largura acima de 250 µm na região mediana	7
7a.	Plantas com numerosos rizines no estolão e no ramo ereto,	
	concentrados na medula externa	Gelidium sp. 11
7b.	Plantas com quantidade moderada de rizines dispersos no estolão e	
	concentrados na medula interna no ramo ereto	Gelidium sp. 6
	8a. Plantas com ramo ereto achatado com até 500 µm de espessura .	9
	8b. Plantas com ramo ereto achatado com acima de 500 μm de	
	espessura	10
9a.	Ramo ereto cilíndrico proximalmente, 150-200 µm de diâmetro, rizines	
	abundantes a escassos entre a medula e o córtex interno	Gelidium crinale
9b.	Ramo ereto compresso proximalmente, 110-150 µm de espessura e	
	220-240 µm de largura, quantidade mediana de rizines entre as células	
	medulares	Gelidium sp. 2
	10a. Plantas com ramificação pinada e célula apical entre dois lobos	
	corticais	11
	10b. Plantas com outro padrão de ramificação e célula apical evidente,	
	sem lobos corticais	13
11a.	Plantas com a maioria dos râmulos com crescimento determinado,	
	sem contorno piramidal e rizines concentrados entre córtex interno e	
	medula externa, formando um cinturão, no estolão e no ramo ereto	Gelidium sp. 5

11b.	Plantas com ramificação a partir de dois terços superiores do ramo,	
	padrão de ramificação de ramos secundários semelhante ao ramo	
	principal, com contorno piramidal	12
	12a. Plantas de 5,0 a 6,0 cm de altura	G. floridanum
	12b. Plantas de 1,0 a 2,5 cm de altura	Gelidium sp. 10
13a.	Células corticais do estolão transversalmente elípticas e ramo ereto	
	com poucos rizines dispersos pela medula	Gelidium sp. 1
13b.	Células corticais do estolão circulares a radialmente elípticas e ramo	
	ereto com abundantes rizines entre o córtex interno a medula externa .	Gelidium sp. 7

4.2.3. Descrições dos táxons estudados

Gelidiellaceae Fan

Família composta atualmente por dois gêneros: *Gelidiella* e *Parviphycus* possuindo 22 espécies (Guiry & Guiry, 2014). Fan (1961) segregou o gênero *Gelidiella* de Gelidiaceae, que até então era única família de Gelidiales, e criou a família Gelidiellaceae. Essa separação foi baseada em duas características: a ausência de rizines e a ausência da fase sexual (gametofítica) no histórico de vida. Essas características são criticadas por serem critérios anti-naturais, já que se baseiam na ausência da característica e não na constatação de um dado concreto (Kraft & Abbott, 1998; Lin & Freshwater, 2008). Estruturas espermatângiais já foram encontradas em Gelidiellaceae (Santelices & Flores, 2004; Santelices, 1997), entretanto gametófitos femininos são desconhecidos. Outra característica da família é o sistema de fixação composto por filamentos rizoidais unicelulares, de parede grossa, originados a partir das células corticais superficiais, que se mantém conectados por "pit-plugs" (Perrone *et al.*, 2006).

Santelices (2004) estabeleceu o gênero *Parviphycus* agrupando espécies, até então de *Gelidiella*, que apresentavam padrão de divisão dística para as células subapicais; células axiais e periaxiais bem distintas, formando uma fileira, em corte transversal e estiquídios com tetrasporângios organizados regularmente em poucas fileiras. As diferenças nos estiquídios já haviam sido observadas por Feldmann & Hamel (1934), em que definiram dois tipos de estiquídeos: tipo-*acerosa* e tipo-*pannosa*. Estiquídios tipo-*acerosa* são cônicos, contendo tetrasporângios compactos e não organizados por fileiras, enquanto que estiquídeos tipo-*pannosa* são alongados, cilíndricos e os tetrasporângios se organizam em poucas fileiras (Feldmann & Hamel, 1934; Santelices, 2004).

Gelidiellaceae é monofilético (Lin & Freshwater, 2008; Nelson *et al.*, 2006; Wiriyadamrikul *et al.*, 2010; este trabalho [Figura 7]). Apesar disso, separação dos dois gêneros tem mostrado inconsistência com dados moleculares (Huisman *et al.*, 2009). *Gelidiella ramellosa* possui características morfológicas típicas de *Parviphycus*, mas análises moleculares mostraram que essa espécie é intermediária aos dois gêneros, pois agrupa com outras espécies de *Gelidiella* com o marcador *rbc*L e agrupa com *Parviphycus* com LSU (Huisman *et al.*, 2009).

Uma relação das características morfológicas encontradas nas espécies estudas está resumida na Tabela 11.

Gênero tipo: Gelidiella Feldmann & Hamel (1934)

Gelidiella acerosa (Forsskål) Feldmann & Hamel, 1934

Prancha I, Figs 1 – 9 (Apêndice I)

Tabela 11

Localidade tipo: "Mochhae" (Al Mukha), Yemen.

Holótipo: Herbário do Museu de Botânica da Universidade de Copenhague, Dinamarca (Børgesen, 1932)

Basiônimo

Fucus acerosus Forsskål, 1775

Sinônimo Homotípico

Echinocaulon acerosum (Forsskål) Børgesen, 1932

Sinônimos Heterotípicos

Fucus rigidus Vahl, 1802
Fucus spiniformis Lamouroux, 1805
Fucus corneus Hudson var. spiniformis (J.V. Lamouroux) Turner, 1811
Fucus corneus Hudson var. setaceus Turner, 1811
Gelidium spiniforme (J.V. Lamouroux) Lamouroux, 1813
Sphaerococcus rigidus Agardh, 1822
Gelidium rigidum (Agardh) Greville, 1830
Echinocaulon spinellum Kützing, 1843
Echinocaulon rigidum (Vahl) Kützing, 1843
Gelidium corneum J.V. Lamouroux var. setaceum (Turner) Montagne, 1846
Gelidium ramelliferum Kützing, 1863
Echinocaulon ramelliferum (Kützing) Kützing, 1868
Gelidium pulchellum (Turner) Kützing var. setaceum (Turner) Batters, 1902
Gelidiopsis rigida (Agardh) Weber van Bosse, 1904
Gelidiella acerosa (Forsskål) Feldmann & Hamel f. minima Sreenivasa Rao, 1971

Descrição

Talo formando tufos, cartilaginoso, vermelho vináceo escuro a enegrecido, medindo até 5,0 cm de altura fixo ao substrato por filamentos rizoidais independentes produzidos a partir de uma base estolonífera. Filamentos rizoidais desenvolvidos pelas células corticais externas do estolão. Estolões cilíndricos, 650-800 µm de diâmetro. Em corte transversal, estolão formado por uma medula com muitas camadas de células circundada por duas a três camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa radialmente elípticas, 9,0-12,5 µm de altura e 3,5-7,5 µm de largura. Células medulares circulares a levemente elípticas, 15-35 µm de diâmetro, com parede espessa. Ramos eretos com ramificação pinada de primeira ordem, podendo ocorrer ramos pinados de segunda ordem. Râmulos com desenvolvimento determinado crescendo principalmente no mesmo plano, podendo ocorrer múltiplos planos. Ramos eretos cilíndricos a levemente compressos, 720-800 µm de diâmetro. Base dos ramos laterais não constrita. Ápices dos ramos vegetativos obtusos. Em corte transversal, medula com muitas camadas de células densamente dispostas envolvida por duas a três camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa radialmente elípticas, 8,0-10,0 µm de altura e 3,5-5,5 µm de largura. Células medulares com parede celular espessa, longitudinalmente alongadas e circulares transversalmente, 6,0-30 µm de diâmetro. Rizines ausentes. Soros de tetrasporângios dispostos principalmente nas porções distais dos últimos râmulos férteis, sem margens estéreis. Tetrasporângios desenvolvendo-se acropetamente. Tetrasporângios maduros ovoides divididos tetraédrica ou cruciadamente com 30-35 µm de largura e 50-55 µm de comprimento. Gametófitos não foram observados.

Material Examinado

Brasil. Espírito Santo: Anchieta, Praia dos Castelhanos, 05 de maio de 2012, na região entremarés. Col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0549/SPF57705); Meaípe, Enseada Azul, 09 de Maio de 2012, na região entre marés. Col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0581/SPF57706).

Observações e comentários

Gelidiella acerosa foi citada pela primeira vez para o Brasil, no estado de Pernambuco, por Martens (1870) como Gelidium rigidum Montagne. Posteriormente como Gelidium rigidum (Valh) Greville. por Piccone (1886, 1889), Taylor (1930, 1931), Williams & Blomquist (1947). Foi referida também como Gelidiopsis rigida (Vahl) Weber van Bosse (Schmidt, 1924).

Feldmann & Hamel (1934) estabeleceram o gênero *Gelidiella* e, então, transferiram a espécie para o gênero, colocando muitos nomes em sinonímia com *Gelidiella acerosa*. Esta tem sido referida para o país em muitos trabalhos até os dias de hoje (Creed *et al.*, 2010; Oliveira, 1977; Taylor, 1960).

Gelidiella acerosa é facilmente reconhecida pelas suas características morfológicas. Plantas de tamanho robusto, talo rígido, enegrecido, com ramificação pinada. Cresce em locais moderadamente expostos, mas podem tolerar alta insolação, formando populações densas em costões, platôs e poças recifais. Essa espécie é amplamente distribuída em regiões tropicais e subtropicais (Kraft & Abbott, 1998). No Brasil, é facilmente encontrada da costa Espírito Santo até o litoral do Ceará (Creed *et al.*, 2010; Fernandes & Guimarães, 1998; Oliveira, 1977). Podem ser encontradas também no Rio de Janeiro. Neste trabalho, foi encontrada apenas no Espírito Santo, na região entremarés crescendo em recife de arenito e costão rochoso.

A espécie apresenta as características básicas do gênero, como estrutura de fixação por filamentos rizoidais livres (Perrone *et al.*, 2006), ausência de rizines no talo e ausência de gametófitos no histórico de vida (Fan, 1961). Taylor (1960) cita a presença de cistocarpos, com ressalvas, indicado por um ponto de interrogação, com poucos detalhes, apenas que causam um "inchaço" pronunciado em apenas um lado do ramo fértil. Entretanto, a presença de cistocarpo não foi referida outra vez, presumindo que pode ter sido um engano. Estudos detalhados do histórico de vida foram realizados e não foram observadas estruturas reprodutivas femininas (Umamaheswara Rao, 1974). Soros de espermatângios foram observados para a espécies (Santelices & Flores, 2004; Santelices, 1997).

Os dados moleculares também corroboram a identificação de *Gelidiella acerosa*. Na árvore filogenética construida com *rbc*L (Figura 7), as sequências brasileiras agrupam-se com a sequência de Porto Rico (AF305810), com alto suporte. A posição filogenética dessa espécie corrobora com trabalhos anteriores (Lin & Freshwater, 2008; Millar & Freshwater, 2005; Nelson *et al.*, 2006; Shimada & Masuda, 2000; Thomas & Freshwater, 2001; Wiriyadamrikul *et al.*, 2010).

Espécie de importância econômica como fonte de ágar de alta qualidade. Na India, *Gelidiella acerosa* é a fonte preferida para a produção de ágar (Rajakrishna Kumar *et al.*, 2004).

Gelidiella ligulata Dawson, 1953

Prancha II, Figs. 10 – 16 (Apêndice I)

Tabela 11

Localidade tipo: Médio-litoral do costão rochoso em Cabeza Ballena, Baja California, México (Dawson, 1953)

Holótipo: Herbário da Universidade da Califórnia (ex Museu de Los Angeles [LAM]) (Santelices, 2007). **Descrição**

Talo isolado, cartilaginoso, vermelho vináceo claro, medindo até 4,0 cm de altura, fixo ao substrato por filamentos rizoidais independentes produzidos a partir de uma base estolonífera. Filamentos rizoidais desenvolvidos pelas células corticais externas do estolão. Estolões cilíndricos a levemente compressos, 350-450 μm de espessura e 450-550 μm de largura. Em corte transversal, estolão formado por uma medula com muitas camadas de células circundada por duas camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa transversalmente elípticas, 7,5-10 μm de altura e 9,5-17 μm de largura. Células medulares circulares a levemente elípticas, 15-33 μm de diâmetro. Ramos eretos sem ramificação ou com pouca ramificação irregular na porção basal. Ramos eretos foliáceos, com nervura longitudinal evidente, margens onduladas, cilindricos proximalmente, 400-550 μm de diâmetro, tornando-se achatados no sentido apical, 200-250 μm de espessura e 1600-1700 μm de largura. Base dos ramos laterais não constrita. Ápices dos ramos obtusos com célula apical proeminente. Em corte transversal, medula com muitas camadas de células densamente dispostas na porção basal e na porção achatada com 14 a mais camadas, envolvida por três camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares, 6-12 μm de diâmetro. Células medulares longitudinalmente alongadas e circulares a elípticas transversalmente, 12-34 μm de diâmetro. Rizines ausente. Não foram observadas plantas férteis.

Material Examinado

Brasil. Espírito Santo: Marataízes, "Praia da Cruz", 07 de maio de 2012, na região entre marés. Col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano- Silva, Fábio Nauer e Mariana Cabral de Oliveira (IBC0568/SPF57710). Rio de Janeiro: Armação de Búzios, Praia João Fernandinho, 26 de setembro de 2011, na região entre marés. Col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0507/SPF57708); Arraial do Cabo, Praia do Farol (Ilha do Cabo Frio), 28 de setembro de 2011, na região entre marés. Col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0517/SPF57709); São Paulo: Ubatuba, Praia do Costa (costão direito), 16 de outubro de 2008, na região entremarés. Col. Eurico Cabral de Oliveira e Mariana Cabral de Oliveira (IBC0116); Ubatuba, Ilha Rapada, 07 de maio de 2009, na região entremarés. Col. Silvia M. P. B. Guimarães (IBT0178/SP428184); Ubatuba, Ilhota das Couves, 07 de maio de 2009, na região entremarés. Col. Silvia M. P. B. Guimarães (IBT0193/SP428187); Guarujá, Praia do Éden, 02 de dezembro de 2009, na região entremarés. Col. Silvia M.P.B. Guimarães (IBT0266/SP428211); Guarujá, Praia do Éden (costão esquerdo), 12 de setembro de 2011, na região entre marés. Col. Cíntia Iha (IBC0278/SPF57707).

Observações e comentários

Gelidiella ligulata foi estabelecida por Dawson (1953), com base em um material infértil. Os ramos eretos, ligulados e conspícuos sugeriram, a primeira instância, se tratar de uma espécie de *Gelidium*, mas a

total ausência de rizines indicou que era uma *Gelidiella*. Dawson (1953) constatou que os ramos secundários eram destacáveis, o que poderia indicar uma função de reprodução vegetativa.

A espécie foi citada para outros lugares, tais como, Ilhas Salomão (Womersley & Bailey, 1970), Japão (Shimada & Masuda, 1999) e Oman (Wynne, 2001). A primeira citação para o Oceano Atlântico foi feita por Fernandes & Guimarães (1998) para espécimes coletados no Espírito Santo, Brasil. Neste trabalho, amostras foram coletadas na região entremarés em costão rochoso de todos os estados do Sudeste.

Todas as referências, inclusive este trabalho, mencionam plantas inférteis, exceto Womersley & Bailey (1970), que citaram a presença de tetrasporângios desenvolvendo-se irregularmente nas porções superiores de ramos laterais. Entretanto, não apresentam figuras, dando margem à dúvidas sobre o fato em si.

Tanto nas análises filogenéticas como nas análises morfológicas, os espécimes coletados no litoral brasileiro concordam com os espécimes japoneses (Shimada & Masuda, 1999). A sequência gerada neste estudo agrupou com a sequência do espécime japonês (Figura 7), divergindo em apenas quatro nucleotídeos.

Gelidiella sp.

Prancha III, Figs. 17 – 23 (Apêndice I)

Tabela 11

Descrição

Talo isolado ou em tufos, filamentoso, cartilaginoso, vermelho claro, medindo menos que 1,0 cm de altura, fixo ao substrato por filamentos rizoidais independentes que crescem a partir das células corticais externas do estolão. Estolões compressos, 95-105 μm de espessura e 130-145 μm de largura. Em corte transversal, estolão formado por uma medula com oito a dez camadas de células circundada por uma camada de células corticais. Células corticais circulares ou retangulares a transversalmente elípticas, 7,0-10,5 μm de altura e 9,5-15 μm de largura. Células medulares com paredes grossas, circulares a levemente elípticas, 6,0-16 μm de diâmetro. Ramos eretos com ramificações dicotômicas a irregulares, raras anastomoses. Ramos eretos cilíndricos, 90-115 μm de diâmetro. Base dos ramos laterais não constrita. Ápices dos ramos agudos com célula apical proeminente. Em corte transversal, medula com três a quatro camadas de células envolvida por três a quatro camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa grandes, circulares a transversalmente elípticas, 5,0-11 μm de altura e 8,0-14 μm de largura. Células medulares longitudinalmente alongadas e circulares transversalmente, 6,0-12 μm de diâmetro. Rizínes ausentes. Não foram observadas plantas férteis.

Material Examinado

Brasil. Rio de Janeiro: Arraial do Cabo, Praia do Farol (Ilha do Cabo Frio), 28 de setembro de 2011, na região entre marés. Col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0518/SPF57711).

Observações e comentários

O único espécime encontrado foi coletado na região entremarés em costão rochoso, crescendo junto a uma espécie do gênero *Pterocladiella* do mesmo tamanho. Por se tratar de um espécime pequeno e infértil o diagnóstico específico foi dificultado. A sequência do marcador *rbc*L gerada para esse espécime não é semelhante a nenhuma sequência do banco de dados, sendo a que mais se aproximou foi de *Gelidiella ligulata* (n° Genbank: AB017678), com 95% de identidade. Nas análises moleculares, as sequências de UPA, COI-5P e *rbc*L do material estudado agruparam com outras do gênero *Gelidiella*, assumindo, então, que pode ser uma espécie deste gênero.

Das espécies de *Gelidiella* taxonomicamente aceitas atualmente, a morfologia que mais se aproxima com este espécime é *Gelidiella hancockii*, que já foi citada para o Brasil. Comparando com a descrição feita por Ugadim (1974), *G. hancockii* possui ápices obtusos, às vezes possui ramificações dicotômicas, porém aparenta ser mais ramificada que o espécime em estudo, não havendo comentários sobre anastomoses.

Todavia, a ausência de estiquídios na presente amostra não possibilitou um diagnóstico completo, quando comparada com descrições feitas anteriormente. Além disso, uma característica importante do espécime encontrado é a presença de anastomoses, que não é mencionado em nenhuma descrição anterior para *Gelidiella*. Isso pode ser um grande indício de se tratar de uma espécie nova, porém há a necessidade de mais espécimes e, se possível, estruturas férteis para determinar o nível específico desse táxon.

Santelices (2004) estabeleceu o gênero *Parviphycus* agrupando espécies, até então de *Gelidiella*, que apresentassem padrão de divisão dística para as células subapicais; células axiais e periaxiais bem distintas, formando uma fileira, em cortes transversais e estiquídios com tetrasporângios organizados regularmente em poucas fileiras. No material estudado, não é possível afirmar o padrão de divisão das células subapicais e nos cortes transversais é possível distinguir a célula axial, mas não há uma fileira evidente formada pelas células axiais e periaxiais (Apêndice I: Prancha III, Figura 22). Portanto, pela ausência de caracteres suficientes para determinar espécie e também pela falta de sequências similares no banco de dados, o diagnóstico em nível de espécie foi inviável.

Parviphycus sp.

Prancha IV, Figs. 24 – 31 (Apêndice I)

Tabela 11

Descrição

Talo isolado, filamentoso, cartilaginoso, vermelho escuro, muito delicado, medindo até 5,0 mm de altura, fortemente aderido ao substrato por filamentos rizoidais independentes que crescem a partir das células corticais externas ao longo de todo estolão. Estolões compressos a cilindricos, 54-62 μm de espessura e 65-80 μm de largura. Em corte transversal, estolão formado por uma fileira de células medulares circundada por três camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa grandes, transversalmente elípticas, 4,0-6,0 μm de altura e 10-13 μm de largura. Células medulares menos pigmentadas, circulares, 7,0-10 μm de diâmetro. Ramos eretos simples, cilíndricos na base e compressos próximo aos ápices, 28-35 μm de espessura e 100-105 μm de largura. Ápices dos ramos agudos com célula apical proeminente. Em corte transversal, medula formada por uma fileira de células, com célula axial e periaxiais bem evidentes, envolvida por duas camadas de células corticais. Extremidade das margens com uma célula cortical grande em cada lado. Células da camada cortical mais externa, circulares a transversalmente elípticas, 6,5-12 μm de diâmetro. Células medulares longitudinalmente alongadas e circulares transversalmente, 8,0 -13 μm de diâmetro. Rizines ausentes. Não foram observadas plantas férteis.

Material Examinado

Brasil. São Paulo: Ilhabela, Ilha de Búzios, 09 de abril de 2009, no infralitoral (18 metros). Col. Renato Rocha-Jorge e Mutue T. Fujii (IBT0060/SP428178).

Observações e comentários

Espécime único, coletado no infralitoral a 18 metros de profundidade, na Ilha de Búzios, São Paulo. As características morfológicas encontradas nesse espécime, como ausência de rizines por todo talo (Fan, 1961) e estrutura de fixação composta por filamentos rizoidais independentes (Perrone *et al.*, 2006), indicam pertencer à família Gelidiellaceae. A medula do ramo ereto possui célula axial e células periaxiais evidentes (Apêndice I – Pranchas: Figura. 29) e o padrão de divisão dística das células subapicais, sugerem pertencer ao gênero *Parviphycus* (Santelices, 2004). Essa condição é corroborada pelas análises filogenéticas, pois a sequência obtida do presente espécime formou um clado, com suporte alto, junto a outras espécies de *Parviphycus* (Figura 7).

Três espécies de *Parviphycus* já foram citadas para o Brasil (incluindo as correções taxonômicas): *Parviphycus pannosus* (Feldmann) G. Furnari, *Parviphycus trinitatensis* (Taylor) Wynne e *Parviphycus setaceus* (Feldmann) Afonso-Carrillo, Sansón, Sangil & Diaz-Villa. A última foi referida apenas para Atol das Rocas, RN, como *Gelidiella setacea* (Creed *et al.*, 2010; Oliveira, 1977; Oliveira Filho & Ugadim, 1976; Villaça *et al.*, 2010). Esta espécie possui até 3,0 cm de altura e o diâmetro do ramo ereto pode alcançar 150-200 µm (Taylor, 1960), podendo apresentar ramificações. A medula do ramo ereto é constituída de cinco camadas, sendo uma fileira central contendo a célula axial e 2-4 células periaxiais e mais duas camadas de células medulares opostas (Afonso-Carrillo *et al.*, 2007). Mesmo sem a presença de estruturas férteis no espécime deste estudo, as estruturas vegetativas indicam não se tratar de *Pa. setaceous*, já que o

espécime é menor, em altura e diâmetro, não possui ramificações e a medula do ramo ereto é constituída apenas pela fileira central composta pela célula axial e células periaxiais.

Parviphycus trinitatensis foi citada para todos os estados de Sudeste brasileiro e também para os estados do nordeste, como *Gelidiella trinitatensis* (Taylor) (Brasileiro *et al.*, 2009; Creed *et al.*, 2010; Joly, 1957, 1965; Oliveira, 1977; Taylor, 1960). Na descrição original, esta espécie possui estolões cilíndricos (55-75 μm de diâmetro) e ramo ereto cilíndrico a compresso de até 2 mm, raramente 5 mm, simples ou com ramificação esparsa e irregular (Taylor, 1943). Wynne (2010), estudando o holótipo, transferiu a espécie para *Parviphycus*. Ambos os trabalhos enfatizam a descrição dos estiquídios, o que torna impossibilitada a comparação com o espécime coletado neste trabalho, que não apresenta estruturas reprodutivas.

Parviphycus pannosus foi citada muitas vezes para o litoral brasileiro, principalmente para o Sudeste como Gelidiella tenuissima Feldmann et Hamel (Joly, 1965; Oliveira, 1977) e como Parviphycus tenuissimus (Feldmann & Hamel) Santelices (Brasileiro et al., 2009; Creed et al., 2010). Joly (1965) descreve esta espécie como plantas de até 2,0 mm de altura constituídas por uma porção rizomatosa cilíndrica, fixa ao substrato por tufos rizoidais. Ramos eretos cilíndricos, de 60-75 µm de diâmetro, não ramificado ou com raras ramificações. Diferente da descrição feita por Joly (1965), o material estudado neste trabalho apresenta ramo ereto compresso (Apêndice I, Figura 29). Santelices & Rico (2002) publicaram um nota sobre a nomenclatura e tipificação de Gelidiella tenuissima. Eles fizeram uma pesquisa histórica sobre os sinônimos binomiais de Ge. pannosa e Ge. tenuissima, que eram utilizados por diferentes autores referindo a mesma espécie, e concluiram que o nome correto seria Gelidiella tenuissima Feldmann & Hamel. No mesmo trabalho, eles definiram que uma das seis exsicatas depositadas no Herbarium de Thuret (PC) seria o lectótipo. Rico et al. (2002) fizeram um estudo morfológico e sistemático de Gelidiella tenuissima coletada em Gran Canaria, Espanha, e conseguiram seguênciar os marcadores rbcL (nº de acesso: AF309385) e LSU para o lectótipo definido por Santelices & Rico (2002). As seguências de Ge. tenuissima da Espanha, agrupou com as sequências do lectótipo (Rico et al., 2002). Neste trabalho, foi utilizada a sequência de Ge. tenuissima (Parviphycus tenuissimus) da Espanha gerada no trabalho de Rico et al. (2002). Sendo assim, a sequência de rbcL obtida da amostra deste estudo não é semelhante com a do lectótipo, já que Parviphycus tenuissimus não agrupou com o espécime brasileiro (Figura 7). Optou-se por não utilizar a sequência do lectótipo na construção filogenética realizada neste trabalho, pois mais de 200 nucleotídos estão indeterminados, o que poderia atrapalhar as análises. A renomeação de Pa. tenuissimus para Pa. pannosus foi feita por Furnari et al. (2010) baseada no comentário de Silva et al. (1996), que consideram que o basiônimo Echinocaulon pannosum era válido e a justificativa de Feldmann & Hamel (1936) em utilizar o nome Gelidiella tenuissima ao invés de Gelidiella pannosa, para evitar confusão com os nomes Gelidium pannosum Grunow (=Gelidiopsis pannosa (Grunow) Schmitz), era supérflua.

Além dos dados moleculares, algumas características morfológicas descritas por Rico et al. (2002) para *Ge. pannosa* (=*Pa. pannosus*) não são semelhantes ao espécime encontrado no Brasil. O ramo ereto de *Pa. pannosus* é cilíndrico e possui mais de uma fileira de células na medula (Rico *et al.*, 2002, Figura 2). À vista disto, a rara espécie coletada no litoral brasileiro pode se tratar de uma nova espécie para a ciência.

Tabela 11 – Resumo das características morfológicas das espécies de Gelidiellaceae encontradas neste trabalho. (D = diâmetro; E = espessura; L = largura; A = altura)

diâmetro; E = espessura	Gelidiella acerosa	Gelidiella ligulata	Gelidiella sp.	Parviphycus sp.
Isolado ou formando	Formando tufos	Isolado	Isolado ou em tufos	Isolado
tufos	Vermelho vináceo a			
Cor do talo	enegrecido	Vermelho vináceo claro	Vermelho claro	Vermelho escuro
Tamanho do talo	até 5,0 cm	Até 4,0 cm	Até 1,0 cm	até 5,0 mm
Estolão				
Tipo de estrutura de fixação	filamentos rizoidais independentes	filamentos rizoidais independentes	filamentos rizoidais independentes	Filamentos rizoidais independentes
Forma do estolão	Cilíndrico (D: 650-800µm)	Cilíndricos a levemente compressos (E: 350- 450µm/ L: 450-550µm)	Compressos (E: 95-105 μm/ L: 130-145μm)	Compressos a cilíndricos (E: 54-62µm/ L: 65-80µm)
Camadas de células na medula	Muitas	Muitas	8 a 10	1
Forma das células medulares	Circulares a elípticas (D: 15-35µm)	Circulares a elípticas (D: 15-33µm)	Circulares a elípticas (D: 6,0-16,0µm)	Circulares (D: 7,0-10µm)
Camadas de células no córtex	2 a 3	2	1	3
Forma das células da camada mais externa do córtex	Radialmente elípticas (A: 9,0-12,5μm/ L:3,5-7,5μm)	Transversalmente elípticas (A: 7,5-10μm/ L: 9,5-17μm)	Circulares ou retangulares a transversalmente elípticas (A:7,0-10,5µm/ L: 9,5-15µm)	Transversalmente elípticas (A: 4,0-6,0μm/ L: 10-13μm)
Ramo ereto				
Ramificação	Pinada de primeira ordem, raros de segunda ordem	Simples ou pouca ramificação irregular na porção basal	Ramificações dicotômicas a irregulares, raras anastomoses	Simples
Forma do ramo ereto	Cilíndricos a levemente compressos (D: 720- 800µm)	cilíndricos (D: 400- 550µm), achatados distalmente (E: 200- 250µm/ L: 1600-1700µm)	Cilíndricos (D: 90-115µm)	Compressos distalmente (E: 28-35µm/ L: 100- 105µm)
Constricção na base dos ramos adjacentes	Ausente	Ausente	Ausente	-
Ápice dos ramos	Obtuso	Obtuso, célula apical proeminente	Agudo, célula apical proeminente	Agudo, célula apical proeminente
Camadas de células na medula (região mediana)	Muitas	14 a mais camadas	3 a 4	1
Células medulares (corte transversal)	Circulares (D: 6,0- 30,0µm)	Circulares a elípticas (D: 12,0-34,0µm)	Circulares (D: 6,0-12µm)	Circulares (D: 8,0 - 13,0µm)
Camadas de células no córtex	Duas a três	Três	3 a 4	2
Células da camada mais externa do córtex (corte transversal)	Radialmente elípticas (A: 8,0-10,0μm/ L: 3,5- 5,5μm)	Circulares (D: 6,0- 12,0µm)	Circulares a transversalmente elípticas (A: 5,0-11µm/ L: 8,0-14µm)	Circulares a transversalmente elípticas (D: 6,5-12µm)
Presença de fileira central de células medulares distinta	Ausente	Ausente	Presente	Presente
Plantas tetrasporofíticas				
Localização dos soros	Porções distais dos últimos ramos	-	-	-
Presença de margens estéreis	Ausente	-	<u>-</u>	<u>-</u>
Desenvolvimento dos tetrasporângios	Acropetal	-	-	-
Divisão dos tetrasporângios	Tetraédrica e cruciada	-	-	-
Forma do tetrasporângio	Ovóide (L: 30-35µm/ C: 50-55µm)	-	-	-

Gelidiaceae Kützing

Maior família de Gelidiales, com cerca de 153 espécies (Guiry & Guiry, 2014), compreende os gêneros *Gelidium*, *Gelidiophycus*, *Acanthopeltis*, *Capreolia* e *Ptilophora*. Desses, apenas *Gelidium* é referido para o Brasil.

Gelidiaceae é caracterizada por possuir apressórios do tipo "brush-like" que consiste em um conjunto de filamentos rizoidais originados de células corticais internas do estolão crescendo para o exterior desorganizadamente, com forma de pincel quando maduro (Perrone *et al.*, 2006). Possuem histórico de vida trifásico ou, raramente, difásico (em *Capreolia*) (Guiry & Womersley, 1993). Gametóficos dioicos, às vezes monoicos. Cistocarpos biloculares, saliente em ambos os lados da fronde, com um ostíolo em cada lado. Carposporângios desenvolvem em ambos os lados do cistocarpo (Fan, 1961; Hommersand & Fredericq, 1988).

Além de possuir um conjunto de características bem delimitadas, a família é razoavelmente bem suportada molecularmente (Boo *et al.*, 2013; Millar & Freshwater, 2005; Nelson *et al.*, 2006; Thomas & Freshwater, 2001; Tronchin & Freshwater, 2007), apesar de apresentar baixo suporte neste trabalho (Figura 7).

Gênero tipo: Gelidium J.V. Lamouroux (1813)

Gelidium crinale (Hare ex Turner) Gaillon, 1828

Prancha V, Figs. 32 – 43 (Apêndice I)
Prancha VI, Figs 44 – 51 (Apêndice I)
Tabela 17

Localidade tipo: Ilfrecombe, Devon, Inglaterra.

Lectótipo: R. Hare; BM ex K (Lipkin & Silva, 2002). Museu de História Natural de Londres (BM), Inglaterra.

Basiônimo

Fucus crinalis Hare ex Turner, 1815

Sinônimos Homotípicos

Capillaria crinalis (Hare ex Turner) Stackhouse, 1816 Gelidium corneum var. crinale (Turner) Greville, 1830 Acrocarpus crinalis (Turner) Kützing, 1843

Sinônimos Heterotípicos

Gelidium spinescens (Kützing) Trevisan, 1845

Descrição

Talo isolado ou formando tufos, cartilaginoso, vermelho-vináceo escuro a enegrecido, medindo de 0,5 a 3,0 cm de altura, fixo ao substrato por apressórios do tipo "brush-like" produzidos a partir de uma base estolonífera. Apressórios formados por grupos de filamentos rizoidais pouco aderidos uns aos outros que se originam das células do córtex interno e são basalmente circundados por uma corticação de filamentos de células pequenas originadas das células corticais externas. Estolões cilíndricos a levemente compressos, 140-200 µm de diâmetro. Em corte transversal, estolão formado por uma medula com cinco a seis camadas de células circundadas por três camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa transversalmente elípticas, 6,0-9,0 µm de altura e 9,0-13 µm de largura. Células medulares circulares, 12-21 um de diâmetro. Poucos rizines espalhados entre a medula externa e o córtex interno. Ramos eretos com ramificação irregular a oposta nas porções superiores, muitas vezes ausente na base. Ramos eretos linearfiliformes, cilíndricos proximalmente, 150-200 µm de diâmetro, podendo se tornar compresso-achatados em direção ao ápice, 130-155 µm de espessura e 280-345 µm de largura. Base dos ramos laterias não constrita. Ápice dos ramos vegetativos obtusos ou agudos com célula apical proeminente. Em corte transversal, medula com cinco camadas de células frouxamente dispostas envolvida por três a quatro camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa radialmente elípticas, 4,5-7,0 µm de altura e 8,0-11 µm de largura. Células medulares longitudinalmente alongadas e circulares transversalmente, 8,0-22 µm de diâmetro. Rizines variando de abundantes a escassos, localizados apenas na região medular ou espalhados da região medular até o córtex interno. Talos tetrasporangiais e cistocárpicos mais ramificados com ramos férteis mais achatados do que os vegetativos. Soros de tetrasporângios dispostos principalmente nas porções distais dos últimos râmulos. Margens estéreis arredondadas presentes ou não. Desenvolvimento dos tetrasporângios no soro difuso, mas relativamente acropetal Tetrasporângios maduros ovóides divididos tetraedricamente com 30-40 µm de largura e 50-60 um de comprimento. Cistocarpos subterminais em râmulos de última ordem, salientes nas duas faces do ramo fértil, esféricos e biloculares, com um ostíolo de cada lado da fronde. Pericarpo com três a quatro camadas de células. Alongamento das células corticais internas quase ausentes. Filamentos nutritivos se originam da fileira de células de terceira ordem, estendendo-se para os dois lados das células alongadas da

fileira de células de segunda ordem, envolvendo-as. Placenta formada por células do gonimoblasto e por filamentos nutritivos que se desenvolvem nos dois lados do eixo central. Em corte transversal, alas laterais formadas pela lâmina curtas, com raríssimos rizines. Carpósporos alongados e terminais nos gonimoblastos. Gametófitos masculinos não foram observados.

Material Examinado

Brasil. Espírito Santo: Anchieta, Praia Parati, 05 de maio de 2012, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0559/ SPF57712; IBC0560/SPF57713). Meaípe, Enseada Azul, 09 de maio de 2012, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0586/SPF57714). Manguinhos, Manguinhos, 05 de outubro de 2010, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0674/SP428226). Rio de Janeiro: Armação dos Búzios, Praia Pai Vitório, 24 de outubro de 2011, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0903). Rio Grande do Norte: Rio do Fogo, Praia do Rio do Fogo, 20 de agosto de 2009, col. Carolina A. A. Azevedo (IBT0276). São Paulo: Guarujá, Praia do Éden, 01 de novembro de 2009, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0250/SP428201; IBT0251/SP428202). Ilha do Cardoso, Praia Cambriú, 30 de junho de 2010, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0373/SP428220). Itanhaém, Praia Cibratel, 20 de outubro de 2009, col. Nair Yokoya (IBT0273/SP428214). 14 de maio de 2010, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0362/SP428217). Praia do Sonho, 20 de outubro de 2009, col. Nair Yokoya (IBT0272/SP428213). Ubatuba, Praia Brava, 08 de maio de 2009, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0194/SP428188; IBT0204/SP428189; IBT0207/SP428192). Praia Domingas Dias, 04 de setembro de 2009, col. Mutue Fujii (IBT0233/SP428198). Picinguaba, 17 de março de 2010, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0324). Saco da Ribeira, 09 de abril de 2009, col. Mutue Fujii e Diclá Pupo (IBT0109/SP428182; IBT0114).

Observações e comentários

Esta espécie apresenta grande variação morfológica tanto no aspecto geral como na morfologia interna (Kim & Boo, 2012; Millar & Freshwater, 2005; Ugadim, 1985). Nas amostras deste trabalho, o talo pode ser inteiramente cilíndrico ou achatado distalmente, o padrão de ramificação pode variar de simples a pinado e a distribuição e a quantidade de rizines não apresenta uniformidade entre os espécimes. Entretanto, em linhas gerais, as características da espécie referida neste trabalho concordam com descrições já feitas em outros estudos (Cordeiro-Marino, 1978; Joly, 1965; Taylor, 1960; Ugadim, 1985).

Gelidium crinale apresenta ampla distribuição geográfica: Austrália, América do Norte (incluindo Carolina do Norte, Flórida, Havaí e Texas), Brasil, China, Caribe, Coréia do Sul, Espanha (Ilhas Canárias), Grã-Bretanha, Indonésia, Japão, Oceano Índico, Uruguai (Børgesen, 1925; Gardner, 1927; Joly, 1965; Kim & Boo, 2012; Millar & Freshwater, 2005; Newton, 1931; Okamura, 1934; Rodriguez & Santelices, 1988; Santelices, 1977; Silva *et al.*, 1996; Taylor, 1960; Ugadim, 1985; Weber van Bosse, 1921).

Para o Brasil, foi referida inicialmente, para o Rio de Janeiro, por Martens (1870) como *Acrocarpus crinalis* Kützing, sendo posteriormente referida como espécie de existência duvidosa, já sinonimizada com *Gelidium crinale* (Turner) Lamouroux (Taylor, 1931). Mais tarde, foi confirmada para o litoral brasileiro (Joly, 1965; Taylor, 1960; Ugadim, 1974; Williams & Blomquist, 1947), sendo citada para quase todos os estados brasileiros (Ugadim, 1985).

Gelidium crinale e G. pusillum são espécies pequenas e com grande variação morfológica (Kim & Boo, 2012) e a localidade tipo de ambas as espécies fica no condado de Devon, no sudoeste do Reino Unido (Guiry & Guiry, 2014; Kim & Boo, 2012), sendo a primeira de Ilfracome e a segunda de Sidmouth. Tradicionalmente, são reconhecidas como espécies distintas, mas já foram consideradas coespecíficas

(Dixon & Irvine, 1977), incluindo *G. crinale* no complexo *G. pusillum. Gelidium crinale* é caracterizada por formar tapetes com ramos prostrados cilíndricos a compressos e possui ramos eretos filiformes. Já *G. pusillum*, forma tufos e possui ramos achatados, ovais e lanceolados (Feldmann & Hamel, 1936; Silva *et al.*, 1996). Womerley & Guiry (1994) por outro lado, apontaram que o tipo de *G. crinale* e os espécimes da Austrália parecem diferentes do tipo de *G. pusillum*. De modo geral, o nome *G. pusillum* é aplicado para tufos muito pequenos formados por *Gelidium* (Lipkin & Silva, 2002).

A discussão sobre a união ou não das duas espécies foi encerrada com o trabalho de Kim & Boo (2012), em que fizeram um estudo comparando *G. crinale* e *G. pusillum*, incluindo sequências de *rbc*L e *cox*1 de ambas as espécies coletadas em suas respectivas localidades tipo. Resultados filogenéticos concluem que são espécies distintas. Espécimes de *G. crinale* da Ásia, Europa, Austrália e América do Norte formam um clado monofilético, junto com a sequência do material da localidade tipo. Esses resultados reforçam a posição cosmopolita da espécie (Kim & Boo, 2012). *Gelidium pusillum* forma um clado monofilético incluindo apenas sequências europeias e da costa atlântica da América do Norte, confirmando a colocação de que essa espécie é restrita a essas regiões e identificações em outras partes de mundo devem ser feitas com cautela (Freshwater & Rueness, 1994; Kim & Boo, 2012). As sequências de *G. crinale* brasileiras agruparam com a sequência da América do Norte, que por sua vez, também foi utilizada no trabalho de Kim & Boo (2012), indicando que os espécimes coletados na costa do Sudeste e no Rio Grande do Norte pertencem a essa espécie.

Gelidium floridanum Taylor, 1943

Prancha VII, Figs. 52 – 59 (Apêndice I)

Prancha VIII, Figs. 60 – 69 (Apêndice I)

Tabela 15

Localidade tipo: Indian River, Flórida, E. Palmer 47, 1874 (tetraspórico)

Holótipo: Herbário do Jardim Botânico de Nova York

Descrição

Talo isolado ou formando tufos, cartilaginoso, vermelho vináceo, medindo de 5,0 a 6,0 cm de altura, fixos ao substrato por apressórios do tipo "brush-like", produzidos a partir de uma base estolonífera. Apressórios formados por grupos de filamentos rizoidais pouco aderidos uns aos outros que se originam das células do córtex interno. Estolões cilíndricos a levemente compressos, 180-300 µm de diâmetro. Em corte transversal, estolão formado por uma medula de sete a oito camadas de células circundada por três a quatro camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares, 6,0-12 µm de diâmetro. Células medulares circulares, 10-19 µm de diâmetro. Quantidade mediana de rizines espalhados pela medula, porém concentrados principalmente na medula externa. Ramos eretos com eixo principal evidente e ramificação pinada, podendo ser alterna ou irregular, de até terceira ordem, ocorrendo no mesmo plano e nos dois terços superiores da fronde. Ramificação dos ramos secundários semelhante ao do ramo principal. Ramos eretos cilíndricos proximalmente, 300-500 µm de diâmetro, tornando-se achatado em direção ao ápice, 108-120 µm de espessura e 940-1370 µm de largura. Base dos ramos laterais constrita. Ápices dos ramos vegetativos obtusos, com a célula apical proeminente entre dois lobos corticais. Em corte transversal na região mediana, medula com três a cinco camadas de células frouxamente dispostas, envolvida por quatro a cinco camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares, 4,0-9,0 µm de diâmetro. Células medulares longitudinalmente alongadas e circulares transversalmente, 10-17 µm de diâmetro. Rizines, 3,0-5,5 µm de diâmetro, razoavelmente abundantes, espalhados entre células medulares. Talos tetrasporângiais e cistocárpicos mais ramificados que os vegetativos. Soros de tetrasporângios dispostos entre porções medianas e distais dos últimos râmulos do talo. Possuem margens estéreis arredondadas com rizines concentrados. Tetrasporângios desenvolvem-se acropetamente. Tetrasporângios maduros divididos tetraedricamente ou cruciadamente, ovoides, 20-26 µm de largura e 32-37 µm de comprimento. Plantas gametofíticas monoicas. Cistocarpos subterminais ou terminais em râmulos de penúltima ou última ordem, saliente nas duas faces do ramo fértil, esféricos e biloculares, com um ostíolo em cada lado da fronde. Pericarpo com quatro a cinco camadas de células. Quantidade razoavelmente grande de células corticais internas alongadas até a placenta. Filamentos nutritivos se originam da fileira de células de terceira ordem, estendendo-se em direção aos dois lados das células alongadas da fileira de células da segunda ordem. Placenta formada por células do gonimoblasto e por filamentos nutritivos que se desenvolvem nos dois lados do eixo central. Em corte transversal, as alas laterais formadas pela lâmina com grande quantidade de rizines. Carpósporos piriformes e terminais nos gonimoblastos. Gametófitos masculinos encontrados próximos a região do talo desenvolvendo carpogônios. Células-mães dos espermatângios localizados na região cortical externa, dividindo-se transversalmente formando os espermatângios.

Material Examinado

Brasil. Espírito Santo: Manguinhos, Manguinhos, 05 de outubro de 2010, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0677/SP428233; IBC0678/SP428234). Marataízes, Praia da Cruz, 07 de maio de 2012, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva, Fábio Nauer e Mariana Cabral de Oliveira (IBC0570/SPF57718). Rio de Janeiro: Armação dos Búzios, Praia do Forno, 25 de setembro de 2011, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0504/SPF57716). Santa Catarina: Florianópolis, Praia Moçambique, 11 de outubro de 2011, col. Mariana Cabral de Oliveira e Eurico Cabral de Oliveira (IBC0523/SPF57717). São Paulo: Guarujá, Praia Branca, 09 de novembro de 2011, col. Cíntia Iha (IBC0271/SPF57715). Praia do Éden, 02 de dezembro de 2009, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBC0265/SP428210). Itanhaém, Praia Cibratel, 14 de maio de 2010, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0366/SP428219). 20 de outubro de 2009, col. Nair Yokoya (IBT0271/SP428212; IBT0274/SP428215). Ubatuba, Praia Brava, 16 de junho de 2007 (IBT0043).

Observações e comentários

Espécie descrita por Taylor (1943), baseando-se em amostras da Flórida e de Trindade, no Caribe. A localidade tipo foi definida como sendo no Indian River, Flórida. *Gelidium floridanum* está distribuída na região tropical e subtropical da costa oeste do oceano Atlântico. No Brasil, foi citada pela primeira vez por Ugadim (1970) e desde então é comumente encontrada nas regiões Sudeste e Sul (Cordeiro-Marino, 1978; Fernandes & Guimarães, 1998; Oliveira, 1977; Ugadim, 1985; Yoneshigue-Braga, 1971), citada também para o Ceará e Pernambuco (Guimarães, 2014). Neste trabalho, foi coletada em todos os estados do Sudeste e em Santa Catarina.

Plantas não férteis podem ser facilmente confundidas com *Pterocladiella capillacea*, por causa do padrão de ramificação pinada e pelo hábito parecido, crescendo em tufos, fortemente aderidos ao substrato (Thomas & Freshwater, 2001; Ugadim, 1985). Possivelmente, *G. floridanum* possui ampla distribuição pelo Caribe, mas pode ter sido identificado erroneamente como *P. capillacea* (Thomas & Freshwater, 2001). *P. capillacea* se diferencia de *G. floridanum* pela consistência mais dura e ramificações restritas à metade superior dos ramos eretos (Fernandes & Guimarães, 1998). Neste trabalho, as duas espécies também se diferenciaram na disposição e quantidade de camadas das células medulares do ramo ereto. *G. floridanum* apresenta de três a cinco camadas de células medulares frouxamente dispostas (Apêndice I, Figura 58) na região mediana do talo, enquanto *P. capillacea* apresenta muitas camadas mais justapostas (Apêndice I, Figura 236). Estes dados contrastam com os resultados encontrados por Fernandes & Guimarães (1998), que afirmam que *G. floridanum* possui de uma a três camadas e *P. capillacea* de quatro a oito camadas de células medulares.

Espécimes da localidade tipo tiveram o marcador *rbc*L sequenciado (nº de acesso: U00107) (Freshwater *et al.*, 1995), que foi utilizada nas análises filogenéticas deste trabalho. As sequências brasileiras agruparam com a sequência da localidade tipo e apresentam 0,2-0,5% (2-6 nucleotídeos) de divergência.

Thomas & Freshwater (2001) identificaram algas coletadas na região caribenha da Costa Rica como *G. floridanum*, divergindo em 1,4% no marcador *rbc*L, comparando com a sequência da localidade tipo. Eles afirmam que essa divergência intraespecífica alta já havia sido observada anteriormente em Gelidiales (Freshwater & Rueness, 1994; Freshwater *et al.*, 1995). Entretanto, a sequência de "*G. floridanum*" da Costa Rica (n° de acesso: AF305797) se agrupou com a espécie nomeada como *Gelidium* sp. 10 deste trabalho (Figura 7), que estamos sugerindo se tratar de espécies diferentes. A divergência entre a sequência da Costa Rica e as sequências brasileiras foi de 0,4% (5 nucleotídeos). A separação das espécies é baseada

no valor de "barcoding-gap" do marcador COI-5P das duas espécies, que é mais de 10 vezes (ver seção 4.3).

Gelidium microdonticum Taylor, 1969

Prancha IX, Figs. 70 – 80 (Apêndice I) Prancha X, Figs. 81 – 89 (Apêndice I)

Localidade tipo: Em costão rochoso, Baía Pequena, St. Lucy, Parish, Barbados (Taylor, 1969).

Holótipo: Herbário da Universidade de Michigan (voucher: MICH1306400)

Nome mal aplicado para o Brasil:

Gelidium pusillum var. conchicola Piccone & Grunow in Piccone, 1884

Descrição

Talo isolado ou em tufos, cartilaginoso, vermelho vináceo a vermelho enegrecido, medindo de 0,5 a 1,0 cm de altura, fixos ao substrato por apressórios tipo "brush-like", produzidos a partir de uma base estolonífera. Apressórios formados por grupos de filamentos rizoidais pouco aderidos uns aos outros que se originam de células do córtex interno, formando uma massa rizoidal de filamentos entrelaçados e são basalmente circundados por uma corticação de filamentos de células pequenas originadas das células corticais externas. Estolões cilíndricos, 130-160 µm de diâmetro. Em corte transversal, estolão formado por uma medula de três camadas de células circundadas por quatro camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares a transversalmente elípticas, 6,0-10,5 µm de altura e 9,0-15 µm de largura. Células medulares circulares, 9,0-21 µm de diâmetro. Rizines abundantes pela medula, chegando até o córtex interno. Ramos eretos pedunculados, com eixo principal evidente, margens serreadas, ramificações opostas a irregulares localizadas principalmente na região mediana do talo. Ramos eretos cilíndricos proximalmente, 150-200 µm de diâmetro, tornando-se achatados em direção ao ápice, 80-100 µm de espessura e 900-1000 µm de largura Base do ramo pouco constrita. Ápice dos ramos vegetativos obtuso, com célula apical pouco evidente. Porção apical pode apresentar projeções afiladas com ápice agudo. Em corte transversal na região mediana, medula com quatro a cinco camadas de células frouxamente dispostas, formando uma fileira de células centrais evidente, envolvida por quatro camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa radialmente elípticas, 8,0-10 de altura e 3,0-6,0 µm de largura. Células medulares de parede espessa, longitudinalmente alongadas e circulares transversalmente, 11-18 µm de diâmetro. Rizines, 3,5-5,5 µm de diâmetro, abundantes entre as células medulares, chegando até o córtex interno. Soros de tetrasporângio dispostos em ramos laterais ou distais nos ramos principais, com margens estéreis arredondadas com rizines. Tetrasporângios desenvolvem-se acropetamente. Tetrasporângios maduros divididos cruciada ou tetraedricamente com 26-30 µm de largura e 38-44 µm de comprimento. Cistocarpos subterminais em ramos laterais ou ramos principais, salientes nas duas faces do ramo fértil, esféricos e biloculares, com um ostíolo de cada lado da fronde. Pericarpo com quatro camadas de células. Filamentos formados por alongamento das células corticais internas abundantes. Placenta formada por células do gonimoblasto e por filamentos nutritivos que se desenvolvem nos dois lados do eixo central. Em corte transversal, alas laterais formadas pela lâmina apresentam rizines. Carpósporos alongados e terminais nos gonimoblastos. Gametófitos masculinos não foram observados.

Material Examinado

Brasil. Espírito Santo: Anchieta, Praia de Castelhanos, 05 de maio de 2012, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0553/SPF57723). Manguinhos, Manguinhos, 05 de outubro de 2010, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0670/SP428231; IBT0675/SP428232); Guarapari, ponta da Praia de Setiba, 08 de maio de 2012, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva, Fábio Nauer e Mariana Cabral de Oliveira (IBC0573/SPF57724). Praia da Sepetiba, 08 de maio de 2012, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva, Fábio Nauer e Mariana Cabral de Oliveira (IBC0575/SPF57725). Rio de Janeiro: Paraty. Laje Grande, 09 de dezembro de 2011, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0530/SPF57721). Ponta do Costa - Saco do Mamanguá, 09 de dezembro de 2011, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0526/SPF57720). Praia Grande da Cajaíba, Pouso da Cajaíba, 10 de dezembro de 2011, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0535/SPF57722). Armação de Búzios, Praia Geribá, 23 de outubro 2011, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0725). São Paulo: Guarujá, Praia do Éden, 02 de dezembro de 2009, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0264/SP428209). Itanhém, Praia Cibratel, 14 de maio de 2010, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0365/SP428218). São Sebastião, Praia das Cigarras, 05 de setembro de 2009, col. Mutue T. Fujii (IBT0239). Ubatuba, Domingas Dias, 04 de setembro de 2009, col. Mutue T. Fujii (IBT0230/SP428196). Praia Brava, 08 de maio de 2009, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0208/SP428193). Ilhas das Cabras, 29 de agosto de 2011, col. Renato Rocha-Jorge (IBC0268/SPF57719)

Observações e comentários

Algas de pequeno porte crescendo na faixa superior da zona entremarés formando "turf" associadas a *Brachydontes* Gray, *Chthamalus* Ranzani e *Tetraclita* Schumacher. Essa espécie têm sido erroneamente identificada nos trabalhos de flora brasileira como *Gelidium pusillum* var. *conchicola* (Fernandes & Guimarães, 1998), que por sua vez foi sinonimizada com *Pterocladiella caerulescens* (Hatta & Prud'homme van Reine, 1991). Os resultados filogenéticos com *rbc*L mostram que *Gelidium pusillum* deve ser usado com cautela para identificar algas que não foram coletadas na Europa (Freshwater & Rueness, 1994; Freshwater *et al.*, 1995). Além disso, a monofilia de *Gelidium pusillum* e a baixa diversidade genética da espécie sugere que a classificação de variedades deve ser abandonada (Kim & Boo, 2012).

Um material coletado em Peruíbe, São Paulo, previamente identificado como *G. pusillum* var. *conchicola*, foi submetido à análise de sequência do *rbc*L juntamente com materiais identificados como *G. pusillum* de localidades da Europa, América do Norte, Ilhas Canárias, Caribe e Califórnia (Freshwater *et al.*, 1995), mostrando que a espécie brasileira não pertence ao complexo *G. pusillum* (Fernandes & Guimarães, 1998; Freshwater *et al.*, 1995).

Gelidium microdonticum foi descrito por Taylor (1969) com base em espécimes de Barbados. A espécie se caracteriza por ser pequena, com ápice amplo e obtuso, margens serradas e grande número de rizines na medula (Thomas & Freshwater, 2001). Essas características concordam com os espécimes brasileiros. Estudos morfológicos e moleculares foram realizados com algas da Costa Rica (Thomas & Freshwater, 2001) que indicaram que o material costa-riquenho se refere a *G. microdonticum*. As análises moleculares mostraram semelhança na sequência do *rbc*L do material da Costa Rica com o material brasileiro (Thomas & Freshwater, 2001), identificado erroneamente como *G. pusillum* var. *conchicola*.

As sequências de *rbc*L obtidas nesse trabalho agrupam, com alto suporte, com a sequência do material da Costa Rica identificado como *G. microdonticum* (Figura 7). As análises morfológicas do material brasileiro concordam com a descrição original (Taylor, 1969) e com as descrições do material identificado

erroneamente como *Gelidium pusillum* var. *conchicola* de trabalhos anteriores (Joly, 1965; Oliveira, 1977; Ugadim, 1974, 1985). Sendo assim, o nome *Gelidium microdonticum* é referido corretamente pela primeira vez para o Brasil. Essa espécie foi coletada em todos os estados do Sudeste, sempre nas porções superiores do zona entremarés, geralmente em regiões abrigadas de altas radiações.

Prancha XI, Figs. 90 – 98 (Apêndice I)

Tabela 17

Descrição

Talo isolado ou formando tufos, cartilaginoso, vermelho vináceo, medindo até 3,0 cm de altura, fixo ao substrato por apressórios do tipo "brush-like", produzidos a partir de uma base estolonífera. Estolões cilíndricos, 145-185 µm de diâmetro. Em corte transversal, estolão formado por uma medula de seis a sete camadas de células circundada por uma camada de células corticais. Células medulares e corticais muito semelhantes. Células corticais transversalmente elípticas a retangulares, 8,0-20 µm de altura e 11-25 µm de largura. Células medulares com parede celular grossa, circulares, 11-23 µm de diâmetro. Poucos rizines dispersos na medula. Ramos eretos simples ou com pouca ramificação irregular de até terceira ordem. Ramos eretos levemente compressos proximalmente, 210-230 µm de espessura e 260-290 µm de largura, tornam-se achatados distalmente, 130-140 µm de espessura e 1060-1090 µm de largura. Base do ramo não constrita. Ápices dos ramos vegetativos obtusos com célula apical proeminente. Em corte transversal, medula com nove a dez camadas de células nas porções cilíndricas e três a quatro camadas de células, frouxamente arranjadas, nas porções achatadas, envolvida por três a quarto camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares, 5,0-9,0 µm de diâmetro. Células medulares com parede celular grossa, longitudinalmente alongadas e circulares transversalmente, 12-27 µm de diâmetro. Rizines, 4,0-6,5 µm de diâmetro, concentrados entre córtex interno e medula externa nas porções cilíndricas e dispersos pela medula nas porções achatadas. Soros de tetrasporângios dispostos nas regiões apicais de râmulos distintos e podem ocupar quase todo o râmulo. Râmulos tetraspóricos simples a tripartidos, com margem estéril arredondada. Rizines dispersos pela medula e concentrados nas margens estéreis. Tetrasporângios desenvolvem-se acropetamente. Tetrasporângios maduros divididos tetraédrica ou cruciadamente. Gametófitos não foram observados.

Material Examinado

Brasil. Pernambuco: Praia de Boa Viagem, 25 de fevereiro de 2011, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0730). Rio Grande do Norte: Rio do Fogo, Praia Rio do Fogo, 20 de agosto de 2009, col. Carolina A. A. Azevedo (IBT0277).

Observações e comentários

Espécimes foram coletados no médio-litoral em recifes de arenito em praias do Rio Grande do Norte e Pernambuco. A morfologia dessa espécie se semelha com *Gelidium crinale*, com poucas diferenças observadas nos materiais estudados, que podem ser irrelevantes tendo em vista a alta variação morfológica de *G. crinale* (Kim & Boo, 2012; Millar & Freshwater, 2005; Ugadim, 1985).

As análises filogenéticas com o marcador *rbc*L mostraram que *Gelidium* sp. 1 é próxima de *G. crinale*. Em relação ao COI-5P, foi encontrada uma divergência de 5,8-6,2% (37-39 nucleotídeos) entre as duas espécies. O valor de "barcoding-gap" foi de 11,6 vezes para o COI-5P. Para o *rbc*L, o valor de "barcoding-gap" não foi tão alto, de apenas 3,0 vezes (Tabela 16). Valores de "barcoding-gap" para o marcador COI-5P são mais apurados para delimitação de espécie (Freshwater *et al.*, 2010), o que nos levou

a considerar esses dois táxons como espécies diferentes. Maiores detalhes na comparação de *Gelidium* sp. 1 e *G. crinale* estão apresentados na seção 4.3.3.

Prancha XII, Figs. 99 – 106 (Apêndice I)

Descrição

Talo isolado ou em tufos, cartilaginoso, vermelho vináceo, medindo até 2,5 cm de altura, fixo ao substrato por apressórios do tipo "brush-like", produzidos a partir de uma base estolonífera. Apressórios formados por grupos de filamentos rizoidais pouco aderidos uns aos outros que originam-se de células do córtex interno. Estolões cilíndricos a pouco compressos, 165-185 µm de espessura e 200-212 µm de largura. Em corte transversal, estolão formado por uma medula com cinco camadas de células de parede espessa, circundada por três camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares a transversalmente elípticas, 7,0-19 µm de diâmetro. Células medulares circulares, 13-22 µm de diâmetro. Rizines presentes em pouca quantidade principalmente entre a medula externa e o córtex interno. Ramos eretos com ramificação irregular, ausentes nas porções basais. Ramos eretos filiformes, compressos proximalmente, 114-142 µm de espessura e 228-237 µm de largura, tornando-se compressoachatados distalmente, 128-138 µm de espessura e 345-354 µm de largura. Bases dos ramos não constritas. Ápice dos ramos agudos, com célula apical proeminente. Em corte transversal, medula com três camadas de células frouxamente dispostas, células centrais formando uma fileira evidente, envolvida por quatro camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares com 5,0-11 µm de diâmetro, menores que as células corticais mais internas. Células medulares com paredes grossas, longitudinalmente alongadas e circulares transversalmente, 11-21 µm de diâmetro. Rizines em quantidade mediana espalhados entre as células medulares. Não foram observadas plantas férteis.

Material Examinado

Brasil. Espírito Santo: Manguinhos, Manguinhos, 05 de outubro de 2010, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0681/SP428227). São Paulo: Ubatuba, Ilhota das Couves, 18 de março de 2010, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0318)

Observações e comentários

Táxon de ocorrência rara, encontrada nos estados de São Paulo e Espírito Santo. O hábito dessa espécie também é igual ao observado em *G. crinale* e *Gelidium* sp. 1, porém o ramo ereto tende a ser mais estreito. A ausência de estruturas reprodutivas dificulta uma investigação mais aprofundada dessa espécie.

As sequências dos marcadores obtidos nesse trabalho não foram similares com nenhuma outra do banco de dados. Nas análises filogenéticas com o *rbc*L, a sequência dessa espécie não agrupou com nenhuma, sendo posicionada em um clado polifilético junto com *G. capense, G. coulteri* e um agrupamento formado com *Gelidium* sp. 7, *Gelidium* sp. 1 e *G. crinale*.

Prancha XIII, Figs. 107 – 115 (Apêndice I)

Descrição

Talo isolado ou formando tufos, cartilaginoso, vermelho vináceo, medindo até 2,0 cm de altura, fixo ao substrato por apressórios do tipo "brush-like", produzidos a partir de uma base estolonífera. Estolões cilíndricos, 120-150 µm de diâmetro. Em corte transversal, estolão formado por uma medula de sete camadas de células circundada por duas camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa transversalmente elípticas, 5,5-9,5 µm de altura e 10-14,5 µm de largura. Células medulares circulares, 9,0-17 µm de diâmetro. Rizines espalhados pela medula, principalmente na medula externa. Ramos eretos sem ramificações ou com poucas ramificações irregulares de até terceira ordem nas margens dos ramos. Ramos eretos às vezes estipitados, cilíndricos a levemente compressos proximalmente, 130-185 µm de espessura e 180-240 µm de largura, tornam-se achatados na direção do ápice, 50-70 µm de espessura e 990-1040 µm de largura. Base do ramo pouco constrita. Ápices obtusos com célula apical proeminente. Em corte transversal à porção achatada, medula com uma ou duas camadas de células envolvida por duas ou três camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares, 6,0-12,5 µm de diâmetro. Células medulares grandes formam uma fileira distinta, longitudinalmente alongadas e circulares transversalmente, 16-29 µm de diâmetro. Rizines, 3,0-6,5 µm de diâmetro, abundantes e espalhados pela medula. Soros de tetrasporângio dispostos principalmente na porção distal dos ramos com margens estéreis afiladas. Tetrasporângios desenvolvem-se acropetamente. Em corte transversal ao soro, medula com uma única camada de célula relativamente grandes, rizines espalhados pela medula, concentrados nas margens estéreis. Tetrasporângios maduros divididos principalmente tetraedricamente, podem ocorrer divisões cruciadas. Gametófitos são foram observados.

Material Examinado

Brasil. São Paulo: Itanhaém, Ilha Queimada Grande, 17 de março de 2010, col. Cíntia Iha (IBC0256/SPF57726). Ubatuba, Picinguaba, 17 de março de 2010, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0325).

Observações e comentários

Espécie rara coletada no infralitoral raso e no médio-litoral em costões rochosos na costa de São Paulo. Essa espécie, junto com *Gelidium* sp. 6 e *Gelidium* sp. 9 formam um clado separado das outras espécies de *Gelidium*, dentro do grande clado chamado "*Gelidium* II" (Figura 7). As três espécies juntas são grupo irmão do clado formado por *G. divaricatum*, *Capreolia implexa*, *G. hommersandii* e *G. caulacantheum*.

A segregação de *Gelidium divaricatum* para um novo gênero *Gelidiophycus* foi proposta por Boo *et al.* (2013). Eles consideram que *Gelidium* está separado em quatro clados diferentes: i) o clado principal de *Gelidium* ("*Gelidium* I" deste trabalho), ii) grupo *Gelidiophycus*; iii) grupo *Capreolia/Gelidium caulacantheum*; e iv) grupo *Gelidium* chilenos (não apresentado na Figura 7). Seguindo esse raciocínio, o clado formado pelo Grupo 3-6-9 pode representar um gênero novo.

A morfologia geral dessa espécie pode ser considerada dentro das características de *Gelidium*. A única diferença encontrada em relação ao grupo "*Gelidium* II" (Figura 7) é a margem estéril dos soros de tetrasporângios, que nesta espécie é afilada (Figura 4: C).

Prancha XIV, Figs. 116 – 122 (Apêndice I)

Descrição

Talo isolado ou formando tufos, cartilaginoso, vermelho vináceo, medindo até 5,0 mm de altura, fixo ao substrato por apressórios do tipo "brush-like", produzidos a partir de uma base estolonífera. Estolões cilíndricos, 110-120 µm de diâmetro. Em corte transversal, estolão formado por uma medula de cinco a seis camadas de células circundada por três a quatro camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares, 6,0-11 µm de diâmetro. Células medulares circulares, 14-17 µm de diâmetro. Rizines localizados entre o córtex interno e a medula externa. Ramos eretos com pouca ramificação irregular, estipitados, cilíndricos na porção inferior, 150 µm diâmetro, tornam-se achatados em direção ao ápice, 200-210 µm de largura e 110-120 µm de espessura. Base dos ramos não constrita. Ápices obtusos com célula apical proeminente. Em corte transversal na região achatada, medula com três a quatro camadas de células, de paredes grossas, envolvida por quatro camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa radialmente elípticas a circulares, 4,0-6,0 µm de diâmetro. Células medulares centrais de parede grossa, grandes, formam uma fileira central distinta, longitudinalmente alongadas e circulares transversalmente, 10-14 µm de diâmetro. Rizines, 3,0-5,0 µm de diâmetro, presentes em grande quantidade entre a região cortical interna e na região medular. Plantas férteis não foram observadas.

Material Examinado

Brasil. São Paulo: Ubatuba, Picinguaba, 17 de março de 2010, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0320).

Observações e comentários

Planta de ocorrência muito rara, sendo encontrada apenas uma vez no litoral de São Paulo. O único exemplar coletado não possui estruturas reprodutivas e isso dificulta na comparação com outras espécies.

O aspecto geral dessa espécie entra no intervalo de características que era utilizado para definir *Gelidium pusillum*, como algas gelidiáceas formando pequenos tufos (Lipkin & Silva, 2002), de pequeno porte, apresentando talo comprimido ou achatado (Fernandes & Guimarães, 1998) antes de introduzirem os estudos moleculares, que mostraram que o nome *G. pusillum* deve ser aplicado apenas para algas da Europa e América do Norte (Freshwater & Rueness, 1994; Kim & Boo, 2012). As sequências dos marcadores obtidas para essa espécie não são similares a nenhuma outra do banco de dados e as análises moleculares com o *rbc*L indicam, com baixo suporte, que é uma espécie próxima de *G. pluma*, *G. omanense* (Figura 7), mas, morfologicamente não são nada semelhantes (Santelices, 1977; Wynne & Freshwater, 2004).

Prancha XV, Figs. 123 – 134 (Apêndice I)

Descrição

Talo isolado ou formando tufos, cartilaginoso, vermelho-marrom escuro, às vezes com ápices esbranquiçados, medindo até 5,0 cm de altura, fixo ao substrato por apressórios do tipo "brush-like", produzidos a partir de uma base estolonífera. Apressórios formados por grupos de filamentos rizoidais pouco aderidos uns aos outros que se originam das células do córtex interno e são basalmente circundados por uma corticação de filamentos de pequenas células originados das células corticais externas. Estolões cilíndricos, 165-236 µm de diâmetro. Em corte transversal, estolão formado por uma medula de cinco a sete camadas de células circundada por três a quatro camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares a transversalmente elípticas, 3,5-10 µm de diâmetro. Células medulares circulares, 14-26 µm de diâmetro. Grande quantidade de rizines concentrados entre a medula externa e o córtex interno formando um cinturão, alguns dispersos pela medula interna. Ramos eretos com ramificação marginal pinadas de até terceira ordem. A maioria dos râmulos possui desenvolvimento determinado, exceto onde ocorre crescimento de ramificações indeterminadas. Ramos eretos lanceolados, cilíndricos a compressos proximalmente, 350-450 µm de espessura e 330-770 µm de largura, tornam-se achatados distalmente, 130-260 µm de espessura e 900-1500 µm de largura. Base dos ramos laterais constrita. Ápices de ramos obtusos, célula apical proeminente entre dois lobos corticais. Em corte transversal, medula com até 10 camadas de células proximalmente e cinco a sete camadas em direção ao ápice, envolvida por três a quatro camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa pequenas, circulares a cuboides proximalmente, 3,0-8,5 µm de diâmetro, e tornam-se radialmente elípticas próximo dos ápices. Células medulares longitudinalmente alongadas e circulares transversalmente, 12,0-40 µm de diâmetro Como no estolão, grande quantidade de rizines, 3,5-5,0 µm de diâmetro, concentrada entre a medula externa e o córtex interno. Soros de tetrasporângios desenvolvem-se principalmente nas porções distais dos últimos râmulos com margens estéreis arredondadas com muitos rizines. Soros tornam-se alongados quando mais velhos em râmulos férteis que continuam crescendo. Tetrasporângios inicialmente arranjados linearmente e desenvolvem-se acropetamente. Desenvolvimento secundário de tetrasporângios pode ocorrer nas porções mais velhas dos soros. Tetrasporângios maduros ovoides alongados, 20-35 µm de largura e 40-50 µm de comprimento, divididos tetraedricamente. Gametófitos não foram observados.

Material Examinado

Brasil. Espírito Santo: Anchieta, Praia dos Castelhanos, 05 de maio de 2012, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0557/SPF57727). Meaípe, Enseada Azul, 09 de maio de 2012, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0580/SPF57728; IBC0583/SPF57729). Rio Grande do Norte: Rio do Fogo, Praia do Rio do Fogo, 20 de agosto de 2009, col. Carolina A. A. Azevedo (IBT0275/SP428222).

Observações e comentários

Espécimes foram coletados na região entremarés em costão rochoso e em recife de arenito no Espírito Santo e no Rio Grande do Norte. No Brasil, essa espécie é facilmente encontrada no litoral do Espírito Santo até o Nordeste. Tem sido identificada como *Gelidium coarctatum*, que foi descrita por Kützing

(1868) e tem como localidade tipo o estado de Pernambuco (Brasil). Ugadim (1985) comparou as espécies encontradas no litoral brasileiro com fotos do tipo de *G. coarctatum* presentes no trabalho de Segi (1963). Ela, então, concluiu que era a mesma espécie. No presente trabalho, a comparação foi feita com o material-tipo em mãos e observou-se grande diferença no aspecto geral das amostras brasileiras e do tipo, o que levantou dúvidas sobre a identificação feita por Ugadim (1985).

As sequências de *rbc*L das amostras brasileiras são semelhantes às sequências de uma espécie não identificada do Panamá (W. Freshwater, não publicado). A morfologia desses espécimes foi comparada e, então, concluído que se tratavam da mesma espécie.

Foi feita uma tentativa de amplificação de regiões do marcador molecular *rbc*L do material tipo de *G. coarctatum*, obtida do herbário de Leiden (Holanda). Três regiões espaçadas uma das outras tiveram sucesso na amplificação e sequenciamento. Na comparação com o GenBank, todas indicaram 100% de identidade com *Gelidium capense* (S.G.Gmelin) P.C.Silva, espécie nativa da África do Sul (W. Freshwater, comunicação pessoal). Portanto, as amostras brasileiras e caribenhas não são *Gelidium coarctatum*, mas sim uma espécie nova. *Gelidium coarctatum* deve entrar em sinonímia com *G. capense*.

Prancha XVI, Figs. 135 – 141 (Apêndice I)

Descrição

Talo isolado ou formando tufos, cartilaginoso, vermelho vináceo, medindo até 1,0 cm de altura, fixo ao substrato por apressórios do tipo "brush-like". Estolões cilíndricos, 140-160 µm de diâmetro. Em corte transversal, estolão formado por uma medula de sete camadas de células circundadas por três camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa transversalmente elípticas, 9,0-15 µm de altura e 8,0-18 µm de largura. Células medulares circulares, 11-20 µm de diâmetro. Rizines espalhados entre células da medula externa e do córtex interno. Ramos sem ou com pouca ramificação irregular, de até segunda ordem, nas margens do ramo. Ramos eretos às vezes estipitados, proximalmente compressos, 80-105 μm de espessura e 150-211 μm de largura, tornando-se achatados distalmente, 50-70 μm de espessura e 800-980 µm de largura. Base dos ramos laterais não constrita. Ápices obtusos. Podem ocorrer alongamentos das porções apicais. Em corte transversal, medula formada por três a cinco camadas de células proximalmente e uma a duas camadas de células nas porções achatadas, circundada por três camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares a transversalmente elípticas, 7,0-10 µm de altura e 7,0-15 µm de largura. Células medulares longitudinalmente alongadas e circulares transversalmente, 12-20 µm de diâmetro. Células medulares centrais grandes formam uma fileira central distinta. Rizines espalhados pela medula, principalmente na medula externa. Plantas férteis foram observadas.

Material Examinado

Brasil. Rio de Janeiro: Arraial do Cabo, Praia do Forno, 28 de setembro de 2011, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0520/SPF57730).

Observações e comentários

Espécie muito rara, encontrada apenas uma vez no Rio de Janeiro formando um pequeno tufo em costão rochoso. O hábito dessa espécie é semelhante ao *Gelidium microdonticum*, porém não tem a margem serrada característica de *G. microdonticum*.

Assim como outras espécies não identificadas, essa espécie poderia entrar no intervalo de características que descrevem *Gelidium pusillum*, porém, molecularmente pode representar outro gênero, pois pertence ao grupo "*Gelidium* II" (Figura 7).

Pela ausência de estruturas reprodutivas, não foi possível comparar a margem estéril do soro de tetrasporângio com as outras espécies do Grupo 3-6-9.

Prancha XVII, Figs. 142 – 150 (Apêndice I)

Descrição

Talo isolado ou formando tufos, cartilaginoso, vermelho claro a marrom claro, medindo até 2,5 cm de altura, fixos ao substrato por apressórios do tipo "brush-like", produzidos a partir de uma base estolonífera. Apressórios formados por grupos de filamentos rizoidais, que se originam das células do córtex interno, fracamente consolidados e se entrelaçam de forma desorganizada. Estolões cilíndricos, 220-340 um de diâmetro. Em corte transversal, estolão formado por uma medula de cerca de dez camadas de células circundada por quatro camadas de células corticais. Células corticais da camada mais externa circulares a radialmente elípticas, 5,5-11 µm de altura e 4,5-7,5 µm de largura. Células medulares circulares, 11-24 µm de diâmetro, com parede celular grossa. Rizines espalhados pela medula, principalmente entre o córtex interno e a medula externa. Ramos eretos sem ramificação, quando presente irregular, de até segunda ordem, crescendo nas margens dos ramos. Ramos eretos às vezes estipitados, proximalmente cilíndricos, 290-350 µm de diâmetro, tornando-se rapidamente achatados distalmente, 100-115 μm de espessura e 1040-1070 μm de largura. Base dos ramos laterais constrita. Ápices obtusos. Em corte transversal, medula formada de 9 a 10 camadas de células, nas porções cilíndricas, e quatro a cinco camadas de células, frouxamente arranjadas, nas porções achatadas, circundada por quatro camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares proximalmente, 5,5-8,5 µm de diâmetro, e radialmente elípticas, 3,0-5,0 µm de largura e 5,0-8,0 µm de altura, na região mediana do talo. Células medulares longitudinalmente alongadas e circulares transversalmente, 12-28 µm de diâmetro. Rizines abundantes, 3,0-5,0 µm de diâmetro, espalhados do córtex interno até a medula central. Soros de tetrasporângios dispostos principalmente nas porções distais de ramos distintos, podem ocorrer em ramos principais. Possuem margens estéreis arredondadas com rizines concentrados. Ramos tetrasporangiais crescem a partir das margens do talo, às vezes, na superfície, com ramificação irregular. Tetrasporângios se desenvelvem irregularmente pelo soro. Em corte transversal na região do soro tetrasporangial, medula com três camadas de células, com rizines dispersos. Tetrasporângios maduros divididos tetraedricamente. Gametófitos não foram observados.

Material Examinado

Brasil. Espírito Santo: Guarapari, ponta da Praia de Setiba, 08 de maio de 2012, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva, Fábio Nauer e Mariana Cabral de Oliveira (IBC0574/SPF57734). Rio de Janeiro: Arraial do Cabo, Prainha, 29 de setembro de 2011, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva, Fábio Nauer (IBC0522/SPF57732). Armação de Búzios, Praia do Forno, 25 de setembro de 2011, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva, Fábio Nauer (IBC0502). Praia João Fernandes, 27 de setembro de 2011, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva, Fábio Nauer (IBC0515/SPF57731). Paraty, Praia Grande da Cajaíba, Pouso da Cajaíba, 10 de dezembro de 2011, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0534/SPF57733).

Observações e comentários

Algas encontradas no litoral do Rio de Janeiro e do Espírito Santo. São plantas pequenas que não formam grandes tufos, coletadas em costão rochoso. Sem as inferências moleculares, as características

morfológicas dessa espécie poderiam entrar no intervalo de características que era utilizado para definir *Gelidium pusillum*, como algas gelidiáceas formando pequenos tufos (Lipkin & Silva, 2002), de pequeno porte, apresentando talo comprimido ou achatado (Fernandes & Guimarães, 1998), porém, já foi demonstrado que o nome *G. pusillum* só deve ser aplicado para algas da Europa e América do Norte (Freshwater & Rueness, 1994; Kim & Boo, 2012)

As sequências dos marcadores obtidos nesse trabalho não foram similares com nenhuma outra do banco de dados. Nas análises filogenéticas com o *rbc*L, a sequência dessa espécie agrupou, com baixo suporte, com o clado formado por *Gelidium* sp. 1 e *G. crinale* (Figura 7). A morfologia dessas espécies é rezoavelmente semelhante, porém *Gelidium* sp. 7 possui o estolão um pouco mais robusto, com mais camadas de células medulares e corticais.

Os dados moleculares indicam se tratar de uma espécie nova, porém uma maior investigação, com coletas mais ao norte do país e análises de estruturas reprodutivas, é necessária para descrever essa espécie.

Prancha XVIII, Figs. 151 – 160 (Apêndice I)

Descrição

Talo isolado ou formando tufos, cartilaginoso, vermelho claro, medindo até 1,0 cm de altura, fixos ao substrato por apressórios do tipo "brush-like", produzidos a partir de uma base estolonífera. Apressórios formados por grupos de filamentos rizoidais pouco aderidos uns aos outros, que se originam das células do córtex interno e se entrelaçam de forma desorganizada. São basalmente circundados por uma corticação de filamentos de células pequenas originadas das células corticais externas. Estolões cilíndricos, 68-90 µm de diâmetro. Em corte transversal, estolão formado por uma medula de três camadas de células circundada por três camadas de células corticais. Células corticais da camada mais externa circulares a transversalmente elípticas, 6,0-13 µm de altura e 9,0-17,5 µm de largura. Células medulares circulares, 10-15,5 µm de diâmetro, com parede celular grossa. Células centrais formam uma fileira de células alinhadas. Rizines dispersos pela medula. Ramos eretos com pouca ramificação irregular, crescendo nas margens dos ramos. Ramos eretos às vezes estipitados, proximalmente compressos, 75-100 µm de espessura e 150-270 μm de largura, tornando-se rapidamente achatados distalmente, 60-70 μm de espessura e 430-450 μm de largura. Base dos ramos laterais não constrita. Ápices obtusos, com célula apical proeminente. Em corte transversal, medula formada de três a cinco camadas de células, nas porções basais, e uma a duas camadas de células, frouxamente arranjadas, nas porções achatadas, circundada por três a quatro camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares a radialmente elípticas, 5,5-10 µm de altura e 5,4-8,2 µm de largura. Células medulares longitudinalmente alongadas e circulares transversalmente, 8,0-17 µm de diâmetro. Células medulares centrais grandes, de parede grossa e formam uma fileira de células alinhadas. Rizines abundantes, 3,0-4,5 µm de diâmetro, dispersos entre as células medulares. Soros de tetrasporângios dispostos principalmente nas porções distais dos ramos tetrasporangiais. Possuem margens estéreis arredondadas com rizines concentrados. Tetrasporângios desenvolvem irregularmente pelo soro. Tetrasporângios maduros ovoides, 29-45 µm de comprimento e 20-28 µm de largura, divididos tetraedricamente. Gametófitos não foram observados.

Material Examinado

Brasil. Rio de Janeiro: Arraial do Cabo, Praia do Forno, 28 de setembro de 2011, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva, Fábio Nauer (IBC0521/SPF57735).

Observações e comentários

Planta rara, encontrada apenas uma vez no estado do Rio de Janeiro. O hábito desta planta se assemelha ao *Gelidium microdonticum*, entretanto, *Gelidium* sp. 8 não possui margens serradas, característico de *G. microdonticum*.

As sequências dos marcadores obtidos nesse trabalho não foram similares com nenhuma outra do banco de dados. Nas análises filogenéticas com o *rbc*L, a sequência dessa espécie é grupo irmão, apesar de distante e com suporte moderado, com o clado formado por *G. corneum*, *G. sesquipedale*, *G. declerckii*, *G. spinosum* e *G. canariensis*.

Os dados moleculares indicam ser uma espécie nova, mas investigações mais profundas devem ser feitas para confirmar esse fato.

Prancha XIX, Figs. 161 – 168 (Apêndice I)

Descrição

Talo isolado, cartilaginoso, vermelho claro, medindo até 1,5 cm de altura, fixo ao substrato por apressórios do tipo "brush-like", produzidos a partir de uma base estolonífera. Apressórios formados por filamentos rizoidais fracamente aderidos que se originam a partir de células corticais internas. Células corticais externas envolvem os filamentos rizoidais consolidados produzindo uma camada de corticação na base do apressório. Estolões cilíndricos, 110-160 µm de diâmetro. Em corte transversal, estolão formado por uma medula com cinco a seis camadas de células, circundada por duas ou três camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa transversalmente elípticas, 3,5-7,5 µm de altura e 6,5-12 μm de largura. Células medulares com parede celular espessa, circulares, 12-20 μm de diâmetro. Poucos rizines localizados entre o córtex interno e a medula externa. Ramos eretos não ramificados, ocasionais ramificações na porção basal. Ramos eretos estipitados, cilíndricos a compressos na base, 120-140 µm de diâmetro, tornam-se rapidamente achatados em direção ao ápice, 50-65 µm de espessura e 630-910 µm de largura. Base dos ramos laterais não constrita. Ápice obtuso com célula apical entre dois lobos de células corticais. Em corte transversal, medula formada por cinco camadas de células proximalmente e três camadas distalmente, frouxamente dispostas, circundada por três camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa transversalmente elípticas, 5,0-7,0 µm de altura e 6,0-10 µm de largura. Células medulares longitudinalmente alongadas e circulares transversalmente, 12,5-20 µm de diâmetro. Células medulares centrais formam uma fileira distinta de células alinhadas. Rizines, 3,0-5,5 µm de diâmetro, abundantes, preenchendo os espaços entre as células medulares. Soros de tetrasporângios desenvolvem-se nos ápices dos ramos eretos, possuem margens estéreis afiladas com rizines. Tetrasporângios maduros globoides, 25-29 µm de diâmetro, divididos tetraédricamente e desenvolvem-se acropetamente. Gametófitos férteis não foram observados.

Material Examinado

Brasil. Rio de Janeiro: Armação dos Búzios, Praia João Fernandes, 27 de setembro de 2011, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva, Fábio Nauer (IBC0514/SPF57736).

Observações e comentários

Espécie rara, coletada apenas uma vez no litoral do Rio de Janeiro. Faz parte do Grupo 3-6-9, que está dentro do clado "*Gelidium* II" (Figura 7). Foi encontrado apenas dois soros de tetrasporângios no espécime coletado e esses soros apresentam margem estéril afilada, assim como observado no *Gelidium* sp. 3. Essa característica pode ser importante para determinar esse grupo, em que, dados moleculares, indicam se tratar de um gênero distinto.

Prancha XX, Figs. 169 – 176 (Apêndice I)

Prancha XXI, Figs. 177 – 184 (Apêndice I)

Tabela 15

Descrição

Talo isolado ou formando tufos, cartilaginoso, vermelho vináceo, medindo de 1,0 a 2,5 cm de altura, fixos ao substrato por apressórios do tipo "brush-like", produzidos a partir de uma base estolonífera. Apressórios formados por grupos de filamentos rizoidais pouco aderidos uns aos outros que originam-se das células do córtex interno e se entrelaçam de forma desorganizada. Células corticais externas envolvem os filamentos rizoidais consolidados produzindo uma camada de corticação na base do apressório. Estolões cilíndricos, 150- 250 µm de diâmetro. Em corte transversal, estolão formado por uma medula de seis a sete camadas de células circundada por quatro a cinco camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares, 5,0-10,5 µm de diâmetro. Células medulares circulares, 12-19 µm de diâmetro. Grande quantidade de rizines espalhados pela medula, concentrados principalmente na medula externa. Ramos eretos com eixo principal evidente e ramificação pinada, podendo ser alterna ou irregular, de até terceira ordem, ocorrendo no mesmo plano e nos dois terços superiores da fronde. Ramificação dos ramos secundários semelhante ao do ramo principal. Ramos eretos cilíndricos proximalmente, 240-310 µm de diâmetro, tornando-se achatado em direção ao ápice, 130-170 µm de espessura e 1240-1350 µm de largura. Base dos ramos laterais constrita. Ápices dos ramos vegetativos obtusos, com célula apical proeminente entre dois lobos corticais. Em corte transversal na região mediana, medula com cinco a seis camadas de células frouxamente dispostas, envolvida por três a quatro camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares pequenas, 4,0-8,0 µm de diâmetro. Células medulares de parede espessa, longitudinalmente alongadas e circulares transversalmente, 17-24 µm de diâmetro. Rizines, 3,5-6,0 µm de diâmetro, abundantes e espalhados pela medula. Soros de tetrasporângios dispostos entre porções medianas e distais nos últimos râmulos do talo. Possuem margens estéreis arredondadas com rizines concentrados. Desenvolvimento do tetrasporângios no soro difuso, mas relativamente acropetal. Tetrasporângios maduros ovoides, divididos tetraedricamente, 30-34 µm de largura e 43-55 µm de comprimento. Cistocarpos subterminais em râmulos de penúltima ou última ordem, saliente nas duas faces do ramo fértil, esféricos e biloculares, com um ostíolo em cada lado da fronde. Pericarpo com quatro a cinco camadas de células. Quantidade razoavelmente grande de células corticais internas alongadas até a placenta. Placenta formada por células do gonimoblásto e por filamentos nutritivos que se desenvolvem nos dois lados do eixo central. Em corte transversal, as alas laterais formadas pela lâmina com grande quantidade de rizines. Carpósporos piriformes e terminais nos gonimoblastos. Gametófitos masculinos não foram observados.

Material Examinado

Brasil. Espírito Santo: Anchieta, Praia dos Castelhanos, 05 de maio de 2012, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva, Fábio Nauer (IBC0552/SPF57737; IBC0555/SPF57738). Praia Parati, 05 de maio de 2012, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva, Fábio Nauer (IBC0558/SPF57739; IBC0561/SPF57740). Ubu Costão, 06 de outubro de 2010, col. Silvia Guimarães (IBT0680/SP428229). Marataízes, Praia da Cruz, 07 de maio de 2012, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva, Fábio Nauer, Mariana Cabral de Oliveira

(IBC0566/SPF57741; IBC0567/SPF57742; IBC0569/SPF57743). Guarapari, Praia dos Namorados, 08 de maio de 2012, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva, Fábio Nauer, Mariana Cabral de Oliveira (IBC0576/SPF57744).

Observações e comentários

Gelidium sp. 10 foi encontrado apenas no estado do Espírito Santo em costão rochoso ou recife de arenito. Essa espécie havia sido identificada inicialmente como Gelidium floridanum, com base nas semelhanças morfológicas e na baixa divergência encontrada na comparação de marcadores moleculares. Além disso, nas análises filogenéticas do *rbc*L, haviam sequências identificadas como *G. floridanum* que agruparam com as de *Gelidium* sp. 10 (Figura 7). A suspeita de que tratavam-se de espécies diferentes apareceu nas análises de agrupamento do COI-5P (Figura 6), em que a divergência interespecífica mínima entre os dois agrupamentos formado por essas espécies era de 4,3% (27 nucleotídeos), acima da divergência intraespecífica máxima encontrada para o gênero (Tabela 9).

Nas análises filogenéticas do marcador *rbc*L (Figura 7), a espécie identificada como "*G. floridanum*" da Costa Rica possui divergência intraespecífica de mais de 1,4% das amostras da Flórida (localidade tipo). Enquanto que as sequências de *G. floridanum* da Flórida, Venezuela e do Brasil divergiram em 0,4% entre si. *Gelidium* sp. 10 agrupou com "*G. floridanum*" da costa rica (AF305797) e possuem divergência de apenas 0,4%. Neste trabalho, estamos sugerindo que *G. floridanum* e *Gelidium* sp. 10 são espécies diferentes, baseando-se na comparação do "barcoding-gap", que está mais detalhada na seção 4.3.2.

Prancha XXII, Figs. 185 – 195 (Apêndice I)

Descrição

Talo isolado ou formando tufos, cartilaginoso, vermelho vináceo, medindo até 1,0 cm de altura, fixo ao substrato por apressórios do tipo "brush-like", produzidos a partir de uma base estolonífera. Apressórios formados por grupos de filamentos rizoidais pouco aderidos uns aos outros que se originam das células do córtex interno. Estolões cilíndricos, 160-182 µm de diâmetro. Em corte transversal, estolão formado por uma medula de cerca de cinco camadas de células circundada por quatro camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa transversalmente elípticas, 8,0-11 µm de altura e 14-17 µm de largura. Células medulares circulares, 14-24 µm de diâmetro, com parece celular grossa. Rizines localizados o córtex interno e a medula externa. Ramos eretos com ramificação irregular a oposta no mesmo plano de até segunda ordem. Região basal do ramo sem ramificações. Ramos eretos proximalmente compressos, 130-140 µm de espessura e 160-200 µm de largura, e achatados distalmente, 90-120 µm de espessura e 680-820 µm de largura. Base dos ramos laterais constrita. Ápices obtusos com célula apical proeminente. Em corte transversal na região mediana, medula formada por três camadas de células, frouxamente arranjadas, circundada por três a quatro camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares, 5,5-8,5 µm de diâmetro. Células medulares longitudinalmente alongadas e circulares transversalmente, 15-23 µm de diâmetro. Células medulares centrais formam uma fileira de células alinhadas. Rizines abundantes, 3,5-5,7 µm de diâmetro, espalhados do córtex interno até a medula central. Soros de tetrasporângios desenvolvem-se principalmente nas porções distais râmulos secundários, mas também podem ocorrer nos ramos principais. Possuem margens estéreis pouco arredondadas. Região do soro apresenta um alargamento da fronde. Padrão de desenvolvimento dos tetrasporângios é irregular. Em corte transversal, o ramo tetrasporangial possui de duas a três camadas de células na medula e rizines presentes principalmente nas margens estéreis. Tetrasporângios maduros, ovoides, 37-45 µm de comprimento e 20-28 µm de largura, divididos tetraedricamente. Gametófitos não foram observados.

Material Examinado

Brasil. Espírito Santo: Anchieta, Praia dos Castelhanos, 05 de maio de 2012, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0551/SPF57745). Meaípe, Enseada Azul, 09 de maio de 2012, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer e Mariana Cabral de Oliveira (IBC0578/SPF57746).

Observações e comentários

Espécie rara, encontrada apenas no Espírito Santo. Foi inicialmente identificada como *Gelidium* sp. 4, pois a divergência interespecífica entre essas duas espécies era de apenas 0,6% (2 nucleotídeos) para o marcador UPA. Com as análises do marcador COI-5P e as análises filogenéticas (Figura 7), foi constatado que são espécies diferentes. As análises filogenéticas mostram que são espécies próximas, mas a relação entre elas é incerta. A morfologia de ambas as espécies também é ligeiramente diferente, entretanto *Gelidium* sp. 11 é mais larga e mais achatada. *Gelidium* sp. 11 pode ser uma espécie nova. Entretanto, são necessárias maiores investigações para determinar essa espécie.

Pterocladiaceae Felicini & Perrone

Família com cerca de 22 espécies (Guiry & Guiry, 2014), composta por três gêneros: *Pterocladia*, *Aphanta* e *Pterocladiella*. Dados moleculares têm indicado que Pterocladiaceae não é monofilética, já que os três gêneros que formam a família não aparentam ter um ancestral comum exclusivo (Thomas & Freshwater, 2001; Tronchin & Freshwater, 2007; este trabalho). Neste trabalho, *Aphanta* e *Pterocladia* foram ramos bem distantes de *Pterocladiella* (Figura 7). *Pterocladia lucida* formou um agrupamento com Gelidiellaceae, apesar de apresentar baixo suporte. *Aphanta pachyrrhiza* está inserida em uma politomia junto com os clados formados por Gelidiellaceae/*Pterocladia lucida*, *Pterocladiella* e Gelidiaceae ("*Gelidium* II") (Figura 7).

Pterocladiaceae foi separada de Gelidiaceae com base, principalmente, nas características do cistocarpo e estruturas de fixação. O apressório de Pterocladiaceae é do tipo "peg-like", formado por filamentos rizoidais originados de células corticais internas do estolão, crescendo paralelamente uns aos outros para o exterior, circundados por uma bainha grossa e possui forma de pino quando desenvolvido, mas ainda não fixado (Perrone *et al.*, 2006). Além disso, caractísticas do desenvolvimento do cistocarpo também definem a família: cistocarpo é unilocular, com um ou dois ostíolos do mesmo lado da fronde e os carpósporos desenvolvem-se de um lado ou todos os lados do plano central do cistocarpo.

Gênero tipo: Pterocladia Agardh (1851)

Pterocladiella australafricanensis Tronchin & Freshwater

Prancha XXIII, Figs. 196 – 204 (Apêndice I)

Tabela 20

Localidade tipo: Recife Quatro Buoy, Baía Sodwana, Província de KwaZulu-Natal, África do Sul.

Holótipo: Herbário Bolus (BOL). Rondebosch, Província do Cabo do Oeste, África do Sul

Descrição

Talo isolado ou formando tufos, cartilaginoso, vermelho vináceo, medindo até 2,5 cm de altura, fixo ao substrato por apressórios do tipo "peg-like", produzidos a partir de uma base estolonífera. Apressórios formados por filamentos rizoidais originados das células do córtex interno, dispostos paralelamente uns aos outros. Estolões cilíndricos, 380-470 µm de diâmetro. Em corte transversal, estolão formado por uma medula de cerca de onze camadas de células circundada por três camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa radialmente elípticas, 12-19 µm de altura e 8,0-12,5 µm de largura. Células medulares circulares, 15-29 µm de diâmetro. Quantidade mediana de rizines dispersos entre as células medulares, principalmente na medula externa. Ramos eretos com eixo principal evidente, ramificação pinada a irregular. Ramos eretos compressos proximalmente, 227-240 µm de espessura e 330-455 µm de largura, tornando-se achatado em direção ao ápice,180-200 µm de espessura e 1400-1440 µm de largura. Base dos ramos laterais levemente constrita. Ápice dos ramos obtuso, com célula apical proeminente, pode ou não estar entre dois lobos corticais. Em corte transversal na região mediana, medula com cerca de dez camadas de células, envolvida por duas a três camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares a radialmente elípticas, 9,5-17 µm de altura e 7,0-13 µm de largura. Células medulares longitudinalmente alongadas e circulares transversalmente, 18-29 µm de diâmetro. Numerosos rizines localizados na medula, principalmente na medula externa. Plantas férteis não foram observadas.

Material Examinado

Brasil. Espírito Santo: Meaípe, Enseada Azul, 09 de maio de 2012, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva, Fábio Nauer e Mariana Cabral de Oliveira (IBC0584/SPF57771; IBC0585/SPF57772).

Observações e comentários

Inicialmente, essa espécie foi identificada como *Pterocladiella caerulescens*, com base em três critérios: essa espécie já foi citada para o Brasil (Ugadim, 1985), semelhança morfológica; e comparação do marcador *rbc*L com o banco de dados. As sequências de *rbc*L presentes no GenBank que agrupam com a do material estudado estão erroneamente nomeadas como *P. caerulescens*. Estas foram depositadas por Tronchin & Freshwater (2007) estudando algas da África do Sul. Com as análises de "DNA barcoding" do marcador COI e *rbc*L, Freshwater et al. (2010) notaram que o marcador *rbc*L não era eficiente para separar as espécies do complexo *Pterocladiella caerulescens* e constatou que utilizando o valor de "barcoding-gap" do COI a diferenciação das espécies era possível. Com isso, as três espécies do complexo foram separadas: *P. caerulescens*, *P. beachiae* e, uma nova espécie foi descrita, *P. australafricanensis* (Freshwater *et al.*, 2010). Os espécimes de *P. australafricanensis* haviam sido descritos anteriormente como *P. caerulescens* (Tronchin & Freshwater, 2007).

Espécie rara para o litoral brasileiro, encontrada apenas uma vez no litoral do Espírito Santo no médio litoral em costão rochoso. As características morfológicas são muito semelhantes a *P. beachiae* e com descrições anteriores de *P. caerulescens* (Fernandes & Guimarães, 1998; Ugadim, 1985). Sendo assim, não é possível determinar essa espécie sem a obtenção de dados moleculares.

Pterocladiella bartlettii (W. R. Taylor) Santelices, 1998

Prancha XXIV, Figs. 205 – 217 (Apêndice I)

Localidade tipo: Saint Louis du Sud, Haiti.

Holótipo: Herbário da Universidade de Michigan, EUA. **Basinômio:** *Pterocladia bartlettii* W.R.Taylor, 1943

Descrição

Talo formando tufos, cartilaginoso, vermelho vináceo, medindo até 5,0 cm de altura, fixo ao substrato por apressórios do tipo "peg-like", produzidos a partir de uma base estolonífera. Apressórios formados por filamentos rizoidais originados das células do córtex interno, dispostos paralelamente uns aos outros, justapostos, tendo a porção terminal discoide quando aderida ao substrato. Estolões cilíndricos a compressos, 95-110 µm de espessura e 210-2250 µm de largura. Em corte transversal, estolão formado por uma medula de cinco a seis camadas de células circundada por duas camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares, 7,0-13 µm de diâmetro. Células medulares circulares, 14-23 µm de diâmetro. Raríssimos rizines. Ramos eretos com ramificação pinada a irregular nas porções medianas e apicais do talo, pode apresentar séries bilaterais de pequenos ramos ao longo de todo ramo. Ramos eretos compressos proximalmente, 88-105 µm de espessura e 170-300 µm de largura, tornando-se achatado em direção ao ápice, 88-125 µm de espessura e 520-630 µm de largura. Base dos ramos laterais não constrita. Ápice dos ramos agudo, com célula apical proeminente, pode apresentar abundantes pelos hialinos. Em corte transversal na região mediana, medula com cinco a sete camadas de células, envolvida por uma a duas camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares, 7,0-13,5 µm de diâmetro. Células medulares longitudinalmente alongadas e circulares a levemente elípticas transversalmente, 11-32 µm de diâmetro. Raríssimos rizines na porção basal do ramo ereto, poucos na região mediana, quando presentes localizados na medula central. Soros de tetrasporângios dispostos nas porções terminais dos ramos principais e secundários. Podem ou não apresentar margens estéreis, quando presente com raríssimos rizines. Tetrasporângios desenvolvem-se de modo acrópeto a irregular. Tetrasporângios maduros divididos tetraedricamente, ovóides, 24-27 µm de largura e 35-45,5 µm de comprimento. Cistocarpos terminais ou subterminais nos ramos de última ordem, esféricos e uniloculares, com um único ostíolo. Pericarpo com quatro a cinco camadas de células. Placenta formada por células do gonimoblasto e filamentos nutritivos e desenvolvendo-se ao redor do eixo central. Em corte transversal, as alas laterais formadas pela lâmina curtas e com raríssimos rizines. Carpósporos globóides e terminais nos gonimoblastos. Gametófitos masculinos não foram observados.

Material Examinado

Brasil. Espírito Santo: Manguinhos, Manguinhos, 05 de outubro de 2010, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0669/SP428224; IBT0671/SP428230; IBT0673/SP428221). Marataízes, Ponta das Arraias ("Praia da Morte"), 07 de maio de 2012, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva, Fábio Nauer e Mariana Cabral de Oliveira (IBC0564/SPF57752). Serra, Praia da ponta da Baleia, 18 de janeiro de 2012, col. Levi Machado (IBT0993). Pernambuco: Praia de Boa Viagem, 25 de fevereiro de 2011, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0732). Rio de Janeiro: Paraty, Praia do Carro – Saco do Mamanguá, 09 de dezembro de 2011, col.

Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0524/SPF57748; IBC0525/SPF57749). Praia Grande da Cajaíba, Pouso da Cajaíba, 10 de dezembro de 2011, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0533/SPF57750). Rio Grande do Norte: Rio do Fogo, Praia do Rio do Fogo, 20 de agosto de 2009, col. Carolina Azevedo (IBT0278). Santa Catarina: Florianópolis, Praia do Sambaqui, 25 de fevereiro de 2012, Beatriz Torrano-Silva, Fábio Nauer e Carolina Azevedo. São Paulo: Guarujá, Praia Branca, 09 de novembro de 2011, col. Cíntia Iha (IBC0272/SPF57747). Itanhaém, Praia dos Sonhos, 05 de novembro de 2010, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0698). São Sebastião, Balneário da Praia Grande, 15 de outubro de 2009, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0270). Ubatuba, Domingas Dias, 04 de setembro de 2009, col. Mutue T. Fujii (IBT0229/SP428195). 06 de setembro de 2009, col. Mutue T. Fujii (IBT0240/SP428200). 16 de março de 2010, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0192/SP428186; IBT0205/SP428190; IBT0206/SP428191; IBT0209/SP428194). Saco da Ribeira, 09 de abril de 2009, col. Mutue T. Fujii e Diclá Pupo (IBT0102/SP428180; IBT0108/SP428181; IBT0115)

Observações e comentários

Essa espécie foi descrita por Taylor (1943) com base no material do Haiti coletado por H.H. Bartlett, como *Pterocladia bartlettii*. No mesmo trabalho, o autor cita a espécie para Baía Copano no Texas, que havia sido previamente identificada como *Gelidium crinale* (Taylor, 1941). *P. bartlettii* é facilmente distinguível quando adulta, porque é muito mais delgada em relação a outras Gelidiales com estruturas parecidas. Entretanto, a identificação é problemática quando está pouco desenvolvida (Taylor, 1943). A espécie foi transferida para o gênero *Pterocladiella* com base na morfologia do desenvolvimento do cistocarpo (Santelices, 1998).

A distribuição mundial era restrita a costa tropical oeste do oceâno Atlântico: Cuba, Jamaica, República Dominicana, Guadalupe, Barbados e Pequenas Antilhas (Taylor, 1960, 1969), Haiti, Costa Rica (Thomas & Freshwater, 2001), Colômbia (Díaz Pulido & Díaz Ruiz, 2003), Venezuela (Ganesan, 1989) e Texas (EUA) (Taylor, 1960; Thomas & Freshwater, 2001). Recentemente, foi encontrada na Malásia (Sohrabipour *et al.*, 2013).

No Brasil, a primeira referência para foi feita por Ugadim (1985) como *Pterocladia bartlettii* Taylor para espécimes coletados no Maranhão, Piauí, Rio Grande do Norte, Paraíba, Espírito Santo e Rio de Janeiro. A autora comenta que são plantas muito parecidas com *Gelidium crinale* e espécimes de *P. bartlettii* de Parati, Rio de Janeiro, foram erroneamente identificadas como *G. crinale* por Joly (1965). Fernandes & Guimarães (1998) descreveram *P. bartlettii* para o Espírito Santo. Eles comentam que nos espécimes estudados, os tetrasporângios não se distribuem em "V" aberto, como mencionado por Ugadim (1985). Essa característica também não foi observada nos espécimes desse trabalho.

Thomas & Freshwater (2001) sequenciaram amostras de *Pterocladiella bartlettii* coletadas em Porto Aransas, Texas, próximo a região em que Taylor (1943) citou a espécie. As sequências de algas identificadas como *P. bartlettii* da Costa Rica agruparam com a sequência das amostras do Texas, divergindo em apenas 0,43% no marcador *rbc*L, indicando se tratar da mesma espécie. Sequências de *rbc*L obtidas neste trabalho agruparam com sequências da Costa Rica, com 0,01% (1 nucleotídeo) de divergência (Figura 7). A similaridade também foi encontrada na morfologia. As amostras estudadas concordam com a descrição original (Taylor, 1943) e com outros trabalhos (Fernandes & Guimarães, 1998; Sohrabipour *et al.*, 2013; Thomas & Freshwater, 2001; Ugadim, 1985).

Pterocladiella beachiae Freshwater

Prancha XXV, Figs. 218 – 228 (Apêndice I)

Tabela 20

Localidade tipo: Cahuita, Limon, Costa Rica.

Holótipo: Herbário da Universidade de Michigan, EUA.

Descrição

Talo isolado ou formando tufos, cartilaginoso, vermelho vináceo, medindo até 3,0 cm de altura, fixo ao substrato por apressórios do tipo "peg-like", produzidos a partir de uma base estolonífera. Apressórios formados por filamentos rizoidais originados das células do córtex interno, dispostos paralelamente uns aos outros, justapostos. Estolões cilíndricos, 270-400 µm de diâmetro. Em corte transversal, estolão formado por uma medula de nove a onze camadas de células circundada por três a quatro camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa radialmente elípticas, 9,7-19,5 µm de altura e 7,9-17 µm de largura. Células medulares circulares, 17-29 µm de diâmetro. Poucos rizines dispersos entre as células medulares. Ramos eretos com eixo principal evidente, ramificação marginal pinada a irregular, principalmente nas porções medianas do talo. Ramos eretos ligulados, compressos proximalmente, 180-225 μm de espessura e 320-390 μm de largura, tornando-se rapidamente achatado em direção ao ápice,120-145 µm de espessura e 1030-1520 µm de largura. Base dos ramos laterais constrita. Ápice dos ramos obtuso, com célula apical proeminente, podendo ou não estar entre dois lobos corticais. Em corte transversal na região mediana, medula com cinco a oito camadas de células, envolvida por duas a três camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa radialmente elípticas, 8,0-15,5 µm de altura e 7,0-11,5 µm de largura, sendo mais elípticas na porção basal. Células medulares longitudinalmente alongadas e circulares a elípticas transversalmente, 18-24 µm de diâmetro. Numerosos rizines localizados na medula central. Soros de tetrasporângios dispostos nas porções terminais e subterminais dos ramos laterais. Possuem margens estéreis curtas. Tetrasporângios desenvolvem-se acropetal a irregularmente. Tetrasporângios maduros divididos tetraedricamente, ovoides a globoides, 15-23 µm de largura e 24-28 µm de comprimento. Gametófitos femininos e masculinos não foram observados.

Material Examinado

Brasil. Espírito Santo: Anchieta, Praia dos Castelhanos, 05 de maio de 2012, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva, Fábio Nauer (IBC0554/SPF57754; IBC0556/SPF57755). Rio de Janeiro: Paraty, Ponta do Costa – Saco do Mamanguá, 09 de dezembro de 2011, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0528/SPF57753). São Paulo: Ubatuba, Ilha Rapada (infra-litoral 10-15m), 08 de maio de 2009, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0185/SP428185). Picinguaba, 17 de março de 2010, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0321/SP428225).

Observações e comentários

Espécie descrita pela primeira vez por Thomas & Freshwater (2001) com base em algas coletadas no médio-litoral da costa atlântica da Costa Rica. *Pterocladiella beachiae* faz parte do complexo *P. caerulescens*, que inclui também *P. australafricanensis*, todas essas espécies são crípticas (Freshwater *et al.*, 2010). Existem apenas duas sutis diferenças morfológicas entre *P. caerulescens* e *P. beachiae*. Na

primeira, a base dos ramos laterais é gradualmente cônica para constrita, enquanto que a base dos ramos laterais de *P. beachiae* possui constrição marcada. Sobre o cistocarpo, em *P. caerulescens*, o núcleo placental é inicialmente ligado ao fundo da cavidade do cistocarpo, apenas em estágios posteriores de desenvolvimento a placenta pode se desligar. Em *P. beachiae*, o núcleo central da placenta se mantém centralizado na cavidade do cistocarpo e produz carpósporos por todos os lados (Thomas & Freshwater, 2001).

Posteriormente, *P. beachiae* foi colocada em sinonímia *P. caerulescens* por não possuir características morfológicas marcantes que justifiquem a separação (Tronchin & Freshwater, 2007). A diferença nas sequências de *rbc*L também não era considerada significativa, de apenas 2,14% (Thomas & Freshwater, 2001; Tronchin & Freshwater, 2007). Freshwater *et al.* (2010) fizeram um estudo utilizando "DNA barcoding" com Gelidiales. Inicialmente, esses autores consideraram *P. caerulescens* como uma espécie única presente na Costa Rica, África do Sul e Havaí. A diversidade intraespecífica variava até 5,58% para o marcador COI e 2,22% para *rbc*L. Entretanto, considerando "*P. caerulescens*" de cada localidade como espécies diferentes, a divergência intraespecífica variava de 0,15-1,36% para COI e 0-0,44% para *rbc*L e, portanto, os valores de "barcoding-gap" mostravam se tratar de espécies distintas (Freshwater *et al.*, 2010 ver Tabela 5). Sendo assim, foi proposta o retorno de *P. beachiae* para o material da Costa Rica e descrita uma nova espécie, *P. australafricanensis* para o material da África do Sul (Freshwater *et al.*, 2010).

Esta é a primeira citação de *P. beachiae* para o Brasil, sendo encontrados em todos os estados do Sudeste, principalmente na região entremarés, mas também no infralitoral. Fora a localidade tipo, esta espécie também foi descrita para a Malásia (Sohrabipour *et al.*, 2013).

As análises morfológicas vegetativas concordaram com a descrição do material tipo. Na descrição original, não foram encontrados espécimes tetraspóricos. As estruturas tetrasporofíticas observadas nas algas brasileiras apresentavam margens estéreis nos soros e divisão do tetrasporângio tetraédrica, diferentes ao encontrado nas algas malasianas, que não possuíam margens estéreis e a divisão do tetrasporângio era cruciada (Sohrabipour *et al.*, 2013).

Nas análises filogenéticas, as sequências de *rbc*L dos espécimes brasileiros agruparam com a sequência do material da localidade tipo (Figura 7) e possuem 100% de similaridade. As sequências do espécime da Malásia possuem 0,6% de divergência com os espécimes brasileiros e costa-riquenhos. Com relação ao marcador COI-5P, as sequências brasileiras diferem em 0,2-0,4% da localidade tipo (Costa Rica) e 2,0% do material malasiano (Tabela 19). Com base nos dados moleculares e morfológicos, não há dúvidas de que os espécimes brasileiros pertencem à *P. beachiae*.

Pterocladiella capillacea (S. G. Gmelin) Santelices & Hommersand

Prancha XXVI, Figs. 229 – 236 (Apêndice I) Prancha XXVII, Figs. 237 – 247 (Apêndice I)

Localidade tipo: Locus, Mar mediterrâneo (Gmelin, 1768).

Lectótipo: Ilustração original, na ausência do material tipo (Gmelin , 1768, pl. 15 fig.1)

Basiônimo: Fucus capillaceus S.G.Gmelin, 1768

Sinônimo homotípico

Gelidium capillaceum (S.G.Gmelin) Meneghini in Freuenfeld, 1854 Pterocladia capillacea (S.G.Gmelin) Bornet in Bornet & Thuret, 1876

Sinônimo heterotípico

Fucus pinnatus Hudson, 1762
Fucus corneus Zoega var. pinnatus (Hudson) Goodenough & Woodward, 1797
Gelidium corneum (Hudson) J.V.Lamouroux. f. clavatum Ardissone, 1874
Gelidium pyramidale N.L.Gardner, 1927
Pterocladia densa Okamura, 1934
Gelidium okamurae Setchell & Gardner, 1937
Pterocladia pyramidale (Gardner) Dawson, 1945
Pterocladia mexicana W.R.Taylor, 1945
Pterocladia robusta W.R.Taylor 1945
Pterocladia okamurae (Setchell & N.L.Gardner) W.R.Taylor 1945
Pterocladia complanata N.H.Loomis, 1949
Pterocladia pinnata (Hudson) Papenfuss, 1950
Pterocladia lindaueri K.C.Fan 1961

Nomes mal aplicados para o Brasil

Gelidium corneum (Hudson) J.V.Lamouroux var. pinnatum (Hudson) Turner Sphaerococcus corneus (Hudson) Stackhouse var. pinnatus Turner Gelidium supradecompositum Küetzing

Descrição

Talo formando tufos, cartilaginoso, vermelho vináceo, medindo de 2,0 a 15 cm de altura, fixo ao substrato por apressórios do tipo "peg-like", produzidos a partir de uma base estolonífera. Apressórios formados por filamentos rizoidais originados das células do córtex interno, dispostos paralelamente uns aos outros, justapostos, tendo a porção terminal discoide quando aderida ao substrato. Estolões cilíndricos, 400,0-700,0 µm de diâmetro. Em corte transversal, estolão formado por uma medula de muitas camadas de células circundada por duas camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares a radialmente elípticas, 6,5-12,5 µm de altura e 5,5-9,5 µm de largura. Células medulares circulares, 12-27 µm de diâmetro. Pouquíssimos rizines dispersos entre as células da medula externa. Ramos eretos com eixo principal evidente e ramificação pinada a bipinada, de até quarta ordem, ocorrendo no mesmo plano e nos dois terços superiores da fronde. Ramificação dos ramos secundários semelhante ao do ramo principal. Ramos eretos cilíndricos proximalmente, 730-850 µm de diâmetro, tornando-se achatado em direção ao ápice, 270-300 µm de espessura e 1270-1350 µm de largura. Base dos ramos laterais constrita. Ápices dos ramos vegetativos obtusos, com a célula apical proeminente entre dois lobos corticais. Em corte transversal, medula com mais de quinze camadas de células, envolvida por uma a duas camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa da região basal radialmente

elípticas, 8,5-15 µm de altura e 4,5-6,5 µm de largura, e da região mediana circulares, 4,5-9,0 µm de diâmetro. Células medulares longitudinalmente alongadas e circulares a levemente elípticas transversalmente, 10-28 µm de diâmetro, células da medula externa com diâmetro maior que da medula central. Quantidade mediana de rizines dispersos entre as células medulares. Soros de tetrasporângios dispostos nas porções terminais e subterminais dos ramos laterais. Podem ou não apresentar margens estéreis, quando presente, curtas e com raríssimos rizines. Tetrasporângios desenvolvem-se acropetamente, formando fileira de tetrasporângios em forma de "V". Tetrasporângios maduros divididos tetraedricamente, ovoides a globoides, 24-30 µm de largura e 33-46 µm de comprimento. Plantas gametofíticas dioicas. Cistocarpos terminais ou subterminais nos ramos de última ordem, saliente principalmente em uma das faces do ramo fértil, ovais a esféricos e uniloculares, com um único ostíolo. Pericarpo com cinco a seis camadas de células. Filamentos nutritivos se originam da fileira de células de terceira ordem, estendendo-se em direção aos dois lados das células alongadas da fileira de células da segunda ordem. Placenta formada por células do gonimoblasto e filamentos nutritivos e desenvolvem-se ao redor do eixo central. Em corte transversal ao cistocarpo, as alas laterais formadas pela lâmina com muitos rizines, quantidade razoável de células corticais internas alongadas até o centro do cistocarpo. Carpósporos globoides e terminais nos gonimoblastos. Soros de espermatângios terminais ou subterminais em todos os ramos do talo fértil, exceto no ramo principal. Espermatângios localizados na região das células corticais externas, em uma ou ambas as faces do ramo fértil. Espermatângios dividem-se transversalmente formando o espermácio.

Material Examinado

Brasil. Espírito Santo: Anchieta, Praia Parati, 07 de outubro de 2010, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0668/SP428223). Guarapari, Praia dos Namorados, 08 de maio de 2012, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva, Fábio Nauer e Mariana Cabral de Oliveira (IBC0577/SPF57769).Manguinhos, Manguinhos, 05 de outubro de 2010, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0679/SP428228). Marataízes, Ponta das Arraias ("Praia da Morte"), 07 de maio de 2012, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva, Fábio Nauer e Mariana Cabral de Oliveira (IBC0563/SPF57767). Praia da Cruz, 07 de maio de 2012, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva, Fábio Nauer e Mariana Cabral de Oliveira (IBC0571/SPF57768). Meaípe, Enseada Azul, 09 de maio de 2012, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva, Fábio Nauer e Mariana Cabral de Oliveira (IBC0588/SPF57770). Piúma, Praia do Aghá, 06 de maio de 2012, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0562/SPF57766). Rio de Janeiro: Armação de Búzios, Praia Azeda, 26 de setembro de 2011, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0509). Praia Brava, 27 de setembro de 2011, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0512/SPF57762). Praia do Forno, 25 de setembro de 2011, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0501/SPF57760; IBC0503/SPF57761). Praia ao lado da Praia da Foca, 23 de outubro de 2011, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0723). Arraial do Cabo, Praia do Farol – Ilha do Cabo Frio, 28 de setembro de 2011, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0516/SPF57763). Paraty, Praia de Itaoca - Pouso da Cajaíba, 10 de dezembro de 2011, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0532/SPF57764). Praia Grande da Cajaíba, Pouso da Cajaíba, 10 de dezembro de 2011, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Fábio Nauer (IBC0536/SPF57765). São Paulo: Guarujá, Praia do Éden, 01 de dezembro de 2008, col. Silvia Maria P. B. Guimarães (IBT0252/SP428203). 12 de setembro de 2011, col. Cíntia Iha (IBC0273/SPF57758; IBC0277/SPF57759). Santos, Laje de Santos, 18 de agosto de 2008, col. Eurico Cabral de Oliveira (IBC00006). São Sebastião, Praia das Cigarras, 08 de maio de 2009, col. Mariana

Cabral de Oliveira (IBC0147). Ubatuba, Bonetinho, 02 de março de 2009, col. Mutue T. Fujii (IBT0117/SP428183). Ilha das Cabras, 29 de agosto de 2011, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Amanda Medeiros (IBC0267/SPF57757). Ilha das Palmas, 29 de agosto de 2011, col. Cíntia Iha, Beatriz Torrano-Silva e Amanda Medeiros (IBC0266/SPF57756). Ilha Vitória, 30 de outubro de 2011, col. Mariana Cabral de Oliveira (IBC0120). Praia Vermelha do Sul, 13 de outubro de 2008, col. Eurico Cabral de Oliveira (IBC0033).

Observações e comentários

A primeira referência foi feita por von Martius *et al.* (1833) como *Sphaerococcus corneus* var. *pinnatus* Turner. Mais tarde, foi citada por Taylor (1931) como *Gelidium corneum* var. *pinnatum*.

Taylor (1943) refere a espécie *Pterocladia capillacea* (Gmelin) Bornet & Flahault e comenta que esta espécie havia sido reportada como *Gelidium corneum* var. *pinnatum* para o Brasil e as Ilhas Virgens. Taylor (1960) refere a espécie como *Pterocladia pinnata*, colocando *Pterocladia capillacea* como sinônimo.

Papenfuss (1950) colocou *Pterocladia capillacea* em sinonímia com *Pterocladia pinnata*, cujo basiônimo seria *Fucus pinnatus* Hudson, tendo prioridade cronológica sobre o nome *Fucus capillaceus*. Entretanto, Dixon (1960) discorda da proposição de Papenfuss (1950). Ele leva em consideração que *Fucus pinnatus* foi descrito em duas edições diferentes da Flora Ânglica, de Hudson (Hudson, 1762, 1798) e são algas que possuem diferenças significativas e as localidades referidas nas duas edições também não são as mesmas. A descrita na segunda edição pode ser referida ao gênero *Pterocladia*, enquanto a originalmente descrita não. Ele concluiu que o epíteto legítimo, mais antigo, que poderia ser aplicado às espécies europeias de *Pterocladia*, era *Pterocladia capillacea*, baseado em *Fucus capillaceus* Gmelin, tipificado pela figura apresentada por Gmelin. Além disso, a localidade tipo não é mencionada.

Joly (1957) cita a espécie para o litoral de São Paulo como *Pterocladia pinnata* (Hudson) Papenfuss. Outros autores passam a referir essa alga com este epíteto (Ugadim 1974). Joly (1965) comenta que é espécie única da flora brasileira, explorada comercialmente como fonte de ágar de excelente qualidade. A coleta e a venda constituem uma das poucas fontes de renda dos pescadores de praias e ilhas afastadas.

Pterocladiella capillacea é uma das espécies mais estudadas de Gelidiales no Brasil e é facilmente encontrada nas franjas do médio litoral inferior, no litoral do Sudeste e Sul (Ugadim, 1985, 1988). Referências para o litoral do nordeste devem ter sido identificações equivocadas e provavelmente deveriam ser atribuidas à espécie que até então era identificada como *Gelidium coarctatum*, já que esta é uma espécie abundante nessa região e de hábito semelhante (Ugadim, 1988).

Neste trabalho, *P. capillacea* foi encontrada em todos os estados do sudeste e é facilmente identificada em campo, pelo seu tamanho, pois costuma ser maior que as outras Gelidiales, pela ramificação claramente pinada e por formar grandes bancos fortemente fixados nos costões rochosos, principalmente em fendas e locais batidos.

Pterocladiella sp.

Prancha XXVIII, Figs. 248 – 261 (Apêndice I)

Tabela 13

Descrição

Talo formando tufos, cartilaginoso, vermelho vináceo, medindo até 6,0 cm de altura, fixos aos substrato por apressórios do tipo "peg-like", produzidos a partir de uma base estolonífera. Apressórios formados por filamentos rizoidais originados das células do córtex interno, dispostos paralelamente uns aos outros. Quando jovem tem forma cônica e torna-se longo e torcido quando mais velho, formando um disco quando aderido ao substrato. Estolões cilíndricos a compressos, 110-210 µm de diâmetro. Em corte transversal, estolão formado por uma medula de até 10 camadas de células circundada por duas camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares, 4,0-15 µm de diâmetro, células da camada cortical interna são semelhantes às células medulares. Células medulares circulares, 5,0-25 µm de diâmetro, com pouco espaçamento entre elas. Raros rizines dispersos pela medula. Ramos eretos com eixo principal evidente, ramificação oposta ou pinada a irregular nos ramos de segunda ordem, raramente terceira ordem, em múltiplos planos, porção basal geralmente sem ramificações. Ramos eretos cilíndricos proximalmente, 180-210 µm de diâmetro, tornando-se achatados distalmente, 130-140 µm de espessura e 750-820 µm de largura. Base dos ramos laterais não constrita. Ápices agudos a obtusos com célula apical proeminente. Em corte transversal, medula formada por 11 a 12 camadas de células justapostas nas porções cilíndricas e cinco a sete camadas de células mais frouxamente arranjadas nas porções achatadas, circundadas por duas camadas de células corticais. Células da camada cortical mais externa circulares, 7,0-15 µm de diâmetro proximalmente, tornando-se radialmente elípticas distalmente, 7,5-9,5 µm de altura e 4,0-7,0 µm de largura. Células medulares longitudinalmente alongadas e circulares transversalmente, 10-30 μm de diâmetro. Poucos rizines, 3,5-5,0 μm de diâmetro, nas porções basais dos ramos eretos, raríssimos ou ausentes próximos do ápice. Ramos férteis mais ramificados. Soros de tetrasporângios dispostos predominantemente na porção distal dos ramos principais e laterais. Não apresentam margens estéreis. Rizines ausentes. Tetrasporângios desenvolvem-se irregularmente. Tetrasporângios maduros divididos tetraédrica ou cruciadamente, ovoides, 15-30 µm de largura e 28-40 µm de comprimento. Cistocarpos terminais, às vezes subterminais nos ramos que continuam crescendo, saliente principalmente em uma das faces do ramo fértil, ovais, uniloculares. Um ou dois ostíolos localizados no mesmo lado da fronde. Pericarpo com quatro a sete camadas de células. Filamentos nutritivos originam-se da base das células da fileira de células de terceira ordem em ambos os lados do plano central da fronde, crescendo tangencialmente ao eixo de células centrais, formando um "V" em corte longitudinal. Em corte transversal ao cistocarpo, as alas laterais formadas pela lâmina com raros rizines e quantidade razoável de células corticais internas alongadas até o centro do cistocarpo. Placenta formada por células do gonimoblasto e filamentos nutritivos, que são relativamente pequenos. Desenvolvem-se ao redor do eixo central, permanecendo perto do piso da cavidade do cistocarpo durante o desenvolvimento. Carpósporos globoides e pequenos. Gametófitos masculinos não foram observados.

Material Examinado

Brasil. São Paulo: Guarujá, Praia do Éden, 12 de setembro de 2011, col. Cíntia Iha (IBC0274/SPF57773; IBC0275/SPF57774; IBC0279/SPF57775). 01 de dezembro de 2009, col. Silvia Maria.

P. B. Guimarães (IBT0257/SP428204; IBT0258/SP428205; IBT0259/SP428206; IBT260/SP428207; IBT0261/SP428208). Ubatuba, Bonetinho, 02 de março de 2009, col Mutue T. Fujii (IBT0097/SP428179). Domingas Dias, 04 de setembro de 2009, col. Mutue T. Fujii (IBT0232/ SP428197). Domingas Dias, 06 de setembro de 2009, col. Mutue T. Fujii (IBT0236/ SP428199).

Observações e Comentários

Espécie encontrada apenas no litoral de São Paulo em costão rochoso, principalmente entre o limite da rocha e da areia. Na praia do Éden, São Paulo, forma grandes bancos, cobrindo rochas rasas, que ficavam totalmente emersas na maré baixa.

A morfologia se aproxima de *Pterocladiella bartlettii*, com a qual essa espécie pode ser confundida à primeira vista, porém *Pterocladiella* sp. é normalmente mais robusta. Uma relação mais detalhada entre essas duas espécies é apresentada na seção 4.3.1.

As sequências de *rbc*L dessa espécie formam um clado bem distinto na árvore de filogenética, formando um clado irmão de *P. bartlettii* (Figura 7, Figura 8). Essa topologia também é encontrada na análise concatenada (Figura 9). As observações morfológicas mostram características consideradas próprias de *Pterocladiella* sp., como células do gonimoblasto e dos filamentos nutritivos aparentemente pequenas em relação à outras espécies de *Pterocladiella*. Com base em dados morfológicos e moleculares, *Pterocladiella* sp. trata-se de uma espécie nova.

4.3. Verificação do valor de "barcoding-gap" e a relação entre espécies próximas

A verificação do valor de "barcoding-gap" só é possível na presença de divergência intraespecífica. Por conta disso, foi realizada apenas com os marcadores COI-5P e *rbc*L, já que o UPA não apresentou variação dentro da espécie. A verificação foi feita apenas em espécies que se mostraram muito próximas, que poderiam levantar dúvidas quanto a sua delimitação das espécies, segundo os resultados de agrupamento dos marcadores, e que apresentaram divergência intraespecífica em pelo menos uma das espécies analisadas.

As duplas de espécies analisadas foram: *P. bartlettii* x *Pterocladiella* sp., *Gelidium floridanum* x *Gelidium* sp. 10, *G. crinale* x *Gelidium* sp. 1. Uma análise mais apurada foi feita entre as espécies *Pterocladiella beachiae* e *P. australafricanensis*, pois ambas fazem parte do complexo "*Pterocladiella caerulescens*" e a delimitação dessas espécies pode ser complicada.

4.3.1. Pterocladiella bartlettii x Pterocladiella sp.

As espécies *Pterocladiella bartlettii* e *Pterocladiella* sp. formaram clados irmão em todas as análises realizadas neste trabalho. Apesar de possuírem certa divergência nos marcadores moleculares (Tabela 12), o aspecto geral dessas espécies é semelhantes e podem ser confundidas à primeira vista.

A verificação do "barcoding-gap" foi feita para *rbc*L e COI-5P (Tabela 12). *Pterocladiella* sp. não apresentou divergência intraespecífica em nenhum dos marcadores, ao contrário de *P. bartlettii*. O valor de "barcoding-gap" revelado foi de 10,71x e 24x, para COI-5P e *rbc*L, respectivamente.

Tabela 12 – Divergência intraespecífica (diagonal em cinza para cada marcador), divergência interespecífica (abaixo da diagonal) e verificação do "barcoding-gap" (acima da diagonal) dos marcadores COI-5P e *rbc*L para as espécies *Pterocladiella bartlettii* e *Pterocladiella* sp. 1.

		Pterocladiella sp. 1	Pterocladiella bartlettii
Pterocladiella sp. 1	COI-5P	0	10,71x
Pterocladiella bartlettii	COI-5P	7,5 - 7,8%	0,4 - 0,7%
Pterocladiella sp. 1	wh al	0	24,0x
Pterocladiella bartlettii	rbcL	4,8 - 5,0%	0,0 - 0,2%

O hábito de *P. bartlettii* e *Pterocladiella* sp. pode ser muito semelhante. Uma comparação entre as estruturas morfológicas dessas espécies está apresentada na Tabela 13. A principal diferença morfológica encontrada entre essas duas espécies é o diâmetro do ramo ereto quando ambas estão adultas, pois *P. bartlettii* costuma ser mais delgada em relação as outras Gelidiales, como já havia sido observado por Taylor (1943). Apesar das semelhanças morfológicas e da proximidade filogenética, os valores de "barcoding-gap" não deixam dúvidas de que se tratam de espécies diferentes.

Tabela 13 – Resumo das características morfológicas das espécies de *Pterocladiella* bartlettii e *Pterocladiella* sp. (D = diâmetro; E = espessura; L = largura; A = altura)

	Pterocladiella bartlettii	Pterocladiella sp.
Isolado ou formando tufos	Formando tufos	Formando tufos
Cor do talo	Vermelho vináceo	Vermelho vináceo
Гаmanho do talo	até 5,0 cm	Até 6,0 cm
Estolão		
Γipo de estrutura de fixação	"Peg-like"	"Peg-like"
Forma do estolão	Cilíndrico a compresso (E: 95-110µm/ L: 210-225µm)	Cilíndricos a compressos (D: 110- 210µm)
Camadas de células na medula	5 a 6	Até 10
Forma das células medulares	Circulares (D: 14-23µm)	Circulares (D: 5-25µm)
Camadas de células no córtex	2	2
Forma das células da camada mais externa do córtex	Circulares (D: 7-13µm)	Circulares (D: 4-15 µm)
Distribuição de rizines	Raríssimos	Raros, na medula
Ramo ereto		
Ramificação	Pinada a irregular nas porções medianas e apicais do talo	Oposta ou pinada a irregular
Forma do ramo ereto	Compressos proximalmente (E: 88- 105μm/ L: 170-300μm), achatado distalmente (E: 88-125μm/ L: 520- 630μm)	Cilíndricos (D: 180-210μm), achatado: distalmente (E: 130-140μm/ L: 750- 820μm)
Constricção na base dos ramos adjacentes	Ausentes	Ausentes
Ápice dos ramos	Agudo, célula apical proeminente, pelos hialinos	Agudo a obtuso, célula apical proeminente
Camadas de células na medula região mediana)	5 a 7	5 a 7
Células medulares (corte transversal)	Circulares a levemente elípticas (D: 11-32µm)	Circulares (D: 10-30µm)
Camadas de células no córtex	1 a 2	2
Células da camada mais externa do cortex (corte transversal)	Circulares (D: 7-13 µm)	Radialmente elípticas (A: 7,5-9,5μm/ L 4-7μm)
Presença de fileira central de células medulares distinta	Ausentes	Ausentes
Distribuição de rizines	Poucos, na medula central	Raríssimos ou ausentes
Plantas tetrasporofíticas		
ocalização dos soros	Porções distais dos ramos principais e laterais	Porções distais dos ramos principais laterais
Presença de margens estéreis	Sim ou não, raros rizines	Não
Desenvolvimento dos	Acropetal a irregular	Irregular
etrasporângios Divisão dos tetrasporângios	Tetraédrica	Tetraédrica ou cruciada
Forma do tetrasporângios	Ovóide (L: 24-27 μm/ C: 35-45 μm)	Ovóide (L:15-30µm/ C: 28-40µm)
Gametófito feminino	Ονοία ο (Ε. 24-27 μπ/ Ο. 35-45 μπ)	Ονοία ο (Ε. 13-30μπ/ Ο. 20-40μπ)
Localização dos cistocarpos	Terminais ou subterminais nos ramos de última ordem	Terminais ou subterminais
Forma do cistocarpo e saliência	Esférico	Ovais, saliente em uma das faces do ramo
-óculos	Unilocular	Unilocular
Ostíolo	Apenas um	Um ou dois, no mesmo lado da fronde
Camadas de células no pericarpo	4 a 5	4 a 7
Quantidade de filamentos formados células corticais internas alongadas	Ausentes	Razoável
Presença de rizines nas alas laterais	Raríssimos	Raros
Carpósporos	Globóides	Globóides

4.3.2. Gelidium floridanum x Gelidium sp. 10

As análises de divergência de todos os marcadores relacionando as espécies irmãs *Gelidium floridanum* e *Gelidium* sp. 10 mostraram que são espécies muito próximas. Destas, apenas *G. floridanum* apresentou divergência intraespecífica (Tabela 14). O valor de "barcoding-gap" para o marcador *rbc*L foi baixo, de apenas 1,8x. Entretanto, na análise do COI-5P, o valor apresentado passa a ser bem maior, de 10,75x.

Tabela 14 – Divergência intraespecífica (diagonal em cinza para cada marcador), divergência interespecífica (abaixo da diagonal) e verificação do "barcoding-gap" (acima da diagonal) dos marcadores COI-5P e *rbc*L para as espécies *Gelidium floridanum* e *Gelidium* sp. 10.

		Gelidium floridanum	Gelidium sp. 10
Gelidium floridanum	COI-5P	0,2 - 0,4%	10,75x
Gelidium sp. 10	COI-5P	4,3 - 4,6%	0
Gelidium floridanum	wh al	0,0 - 0,6%	1,8x
Gelidium sp. 10	rbcL	1,1 - 1,6%	0

Gelidium sp. 10 foi identificado inicialmente como *G. floridanum*, não apenas pelas semelhanças morfológicas, mas principalmente pela baixa divergência interespecífica apresentada pelo marcador UPA, de apenas 0,6% (2 nucleotídeos). Além disso, nas análises filogenéticas do *rbc*L, haviam sequências identificadas como *G. floridanum* que agruparam com as de *Gelidium* sp. 10 (Figura 7). A suspeita de que se tratava de espécies diferentes apareceu nas análises de agrupamento do COI-5P (Figura 6), em que o agrupamento ficava mais evidente e a divergência interespecífica mínima era de 4,3% (27 nucleotídeos), acima da divergência intraespecífica máxima (Tabela 9). Apesar do valor de "barcoding-gap" do *rbc*L ter sido de apenas 1,8x, o valor encontrado pelo COI-5P foi de 10,75x, acima dos valores encontrados para diferenciar outras espécies de Gelidiales (Freshwater *et al.*, 2010).

Uma comparação das características morfológicas das espécies é apresentada na Tabela 15. Ambas as espécies possuem hábitos e estruturas vegetativas muito semelhantes, porém plantas adultas de *Gelidium* sp. 10 são menores do que as de *G. floridanum*. O cistocarpo das duas espécies é esférico, mas do *G. floridanum* é mais saliente do que do *Gelidium* sp. 10. Houve diferenças biogeográficas também, *Gelidium* sp. 10 foi encontrado apenas no Espírito Santo enquanto que *G. floridanum* foi encontrado principalmente nos outros estados, até Santa Catarina, indicando que pode haver uma separação geográfica na costa brasileira, sendo o estado do Espírito Santo a região limite que separa as duas espécies. Mais estudos, envolvendo análises biogeográficas entre essas duas espécies, poderiam ser realizados para elucidar esse fato.

Tabela 15 - Resumo das características morfológicas das espécies de Gelidium floridanum e Gelidium sp. 10 (D =

diâmetro; E = espessura; L = largura; A = altura)

	Gelidium floridanum	Gelidium sp. 10
Isolado ou formando tufos	Isolado ou em tufos	Isolado ou em tufos
Cor do talo	Vermlho vináceo	Vermelho vináceo
Tamanho do talo	5,0 a 6,0 cm	1,0 a 2,5 cm
Estolão		
Tipo de estrutura de fixação	"Brush-like"	"Brush-like"
Forma do estolão	Cilíndricos a levemente compressos (D: 180-300µm)	Cilíndricos (D: 150-250 µm)
Camadas de células na medula	7 a8	6 a 7
Forma das células medulares	Circulares (D: 10-19µm)	Circulares (D: 12-19 µm)
Camadas de células no córtex	3 a 4	4 a 5
Forma das células da camada mais externa do córtex	Circulares (D: 6-12µm)	Circulares (D: 5,0-10,5 µm)
Distribuição de rizines	Mediana, espalhados pela medula e concentrados na medula externa	Abundantes na medula, concentrados na medula externa
Ramo ereto		
Ramificação	Pinada, alterna ou irregular, de até terceira ordem	Ramificação pinada, alterna ou irregular, de até terceira ordem
Forma do ramo ereto	Cilíndricos proximalmente (D: 300-500µm), achatado distalmente (E: 108-120µm/ L:940-1370µm)	Cilíndricos proximalmente (D: 240-310 μm), achatado distalmente (E: 130-170μm/ L: 1240-1350 μm)
Constricção na base dos ramos adjacentes	Presente	Presente
Ápice dos ramos	Obtusos, célula apical proeminente entre dois lobos corticais	Obtuso, célula apical entre dois lobos corticais
Camadas de células na medula (região mediana)	3 a 5	5 a 6
Células medulares (corte transversal)	Circulares (D: 10-17μm)	Circulares (D: 17-24 μm)
Camadas de células no córtex	4 a 5	3 a 4
Células da camada mais externa do córtex (corte transversal)	Circulares (D: 4-9µm)	Circulares (D: 4,0-8,0 µm)
Presença de fileira central de células medulares distinta	Ausentes	Ausentes
Distribuição de rizines	Abundantesna medula	Abundantes na medula
Plantas tetrasporofíticas		
Localização dos soros	Porções medianas e distais dos últimos râmulos	Porções mediana e distal nos últimos râmulos
Presença de margens estéreis	Sim, arredondadas, com muitos rizines	Sim, arredondadas, com muitos rizines
Desenvolvimento dos tetrasporângios	Acropetal	Irregular para acropetal
Divisão dos tetrasporângios	Tetraédrica ou cruciada	Tetraédrica
Forma do tetrasporângio	Ovóide (L: 20-26µm/ C: 32-37µm)	Ovóide (L: 30-34µm/ C: 43-55µm)
Gametófito feminino		
Localização dos cistocarpos	Terminais ou subterminais	Subterminais em ramos de penúltima e última ordem
Forma do cistocarpo e saliência	Esférico, saliente dos dois lados da fronde	Esférico
Lóculos	Bilocular	Bilocular
Ostíolo	Dois, sendo um em cada lado da fronde.	Dois, sendo um em cada lado da fronde.
Camadas de células no pericarpo	4 a 5	4 a 5
Quantidade de filamentos formados células corticais internas alongadas	Muitos	Muitos
Presença de rizines nas alas laterais	Presentes, abundantes	Presentes, abundantes
Carpósporos	Periformes	Periformes

4.3.3. Gelidium crinale x Gelidium sp. 1

Assim como *Gelidium* sp. 10 e *G. floridanum*, as espécies irmãs *Gelidium* sp. 1 e *G. crinale* também são muito próximas molecular (Figura 7) e morfologicamente. A divergência interespecífica do marcador UPA entre essas duas espécies foi de apenas 0,6% (2 nucleotídeos), o que levantou a hipótese de que eram a mesma espécie. Porém, as análises de divergência do COI-5P permitiu considerar que são espécies diferentes, pois foi encontrada uma divergência de 5,8-6,2% (37-39 nucleotídeos) entre as duas espécies. O valor de "barcoding-gap" foi de 11,6 vezes para o COI-5P. Para o *rbc*L, o valor de "barcoding-gap" foi de apenas 3,0 vezes (Tabela 16).

Tabela 16 – Divergência intraespecífica (diagonal em cinza para cada marcador), divergência interespecífica (abaixo da diagonal) e verificação do "barcoding-gap" (acima da diagonal) dos marcadores COI-5P e *rbc*L para as espécies *Gelidium crinale* e *Gelidium* sp. 1.

		Gelidium crinale	Gelidium sp. 1
Gelidium crinale	COLED	0,2 - 0,5%	11,6x
Gelidium sp. 1	COI-5P	5,8 - 6,2%	0,2%
Gelidium crinale	wh al	0	3,0x
Gelidium sp. 1	rbcL	0,9 - 1,2%	0,0 - 0,3%

Um resumo das principais características das duas espécies está ilustrado na Tabela 17. Poucas diferenças são observadas entre essas duas espécies. Além disso, *G. crinale* apresenta grande plasticidade fenotípica (Kim *et al.*, 2012; Millar & Freshwater, 2005; Ugadim, 1985), o que torna complicada a delimitação de caracteres entre essas espécies.

O fator biogeográfico para a distinção dessas espécies pode ser importante, pois *Gelidium* sp. 1 só foi encontrado em praias nordestinas. É possível que essa espécie tenha sido erroneamente identificada como *Gelidium crinale* para o nordeste em trabalhos anteriores. O valor de "barcoding-gap" e as análises filogenéticas (Figura 7) mostram que são espécies distintas, porém uma investigação maior, aliando dados moleculares, morfológicos e biogeográficos é importante para determinar limites entre essas duas espécies.

Tabela 17 – Comparação das características morfológicas das espécies *Gelidium crinale* e *Gelidium* sp. 1 encontradas neste trabalho. (D = diâmetro; E = espessura; L = largura; A = altura)

	Gelidium crinale	Gelidium sp. 1
Isolado ou formando tufos	Isolado ou em tufos	Isolado ou em tufos
Cor do talo	Vermelho vináceo escuro a enegrecido	Vermelho vináceo
Tamanho do talo	0,5 a 3,0 cm	Até 3,0 cm
Estolão		
Tipo de estrutura de fixação	"Brush-like"	"Brush-like"
Forma do estolão	Cilíndricos a levemente compressos (D: 140-200µm)	Cilíndricos (D: 145-185µm)
Camadas de células na medula	5 a 6	6 a 7
Forma das células medulares	Circulares (D: 12-21)	Circulares (D: 11-23µm)
Camadas de células no córtex	3	1
Forma das células da camada mais externa do córtex	Transversalmente elípticas (A: 6-9 μm/ L:9-13μm)	Transversalmente elípticas (A: 8- 20μm/ L:11-25μm)
Distribuição de rizines	Poucos entre medula externa e córtex interno	Poucos dispersos na medula
Ramo ereto		
Ramificação	Irregular a oposta nas porções superiores, ausente na base	Simples ou pouca ramificação irregular de até terceira ordem
Forma do ramo ereto	Cilíndricos proximalmente (D: 150-200µm). Compresso-achatados distalmente (E: 130-155µm/ L: 280-345µm)	Compresso proximalmente (E: 210-230µm/ L:260-290µm), achatado distalmente (E: 130-140µm/ L:1060-1090µm)
Constricção na base dos ramos adjacentes	Ausente	Ausente
Ápice dos ramos	Obtusos ou agudos, célula apical proeminente	Obtusos, célula apical proeminente
Camadas de células na medula (região mediana)	5	3 a 4
Células medulares (corte transversal)	Circulares (D: 8-22 µm)	Circulares (D: 12-27µm)
Camadas de células no córtex	3 a 4	3 a 4
Células da camada mais externa do córtex (corte transversal)	Radialmente elípticas (A: 4,5-7µm/ L:8-11µm)	Circulares (D: 5-9µm)
Presença de fileira central de células medulares distinta	Ausente	Ausente
Distribuição de rizines	Abundantes a escassos, entre medula e córtex interno	Dispersos na medula
Plantas tetrasporofíticas		
Localização dos soros	Porções distais dos últimos râmulos	Mediana e distal de ramos distintos
Presença de margens estéreis	Sim ou não. Arredondada	Sim, arredondadas com muitos rizines
Desenvolvimento dos tetrasporângios	Irregular para acrópeta	Acrópeta
Divisão dos tetrasporângios	Tetraédrica	Tetraédrica ou cruciada
Forma do tetrasporângio	Ovóide (L: 30-40µm/ C: 50-60µm)	Não medido

4.3.4. Comparação das espécies do complexo Pterocladiella caerulescens

As três espécies que compõem o complexo "Pterocladiella caerulescens" são morfologicamente muito semelhantes e molecularmente muito próximas (Freshwater et al., 2010). Utilizando apenas dados morfológicos e análises de divergência do marcador rbcL, a determinação de limites específicos é difícil (Freshwater et al., 2010; Sohrabipour et al., 2013; Tronchin & Freshwater, 2007). Pterocladiella beachiae e P. australafricanensis foram descritas para espécimes que haviam sido identificadas como P. caerulescens para Costa Rica e África do Sul, respectivamente, porém dados moleculares revelaram se tratar de espécies crípticas.

A localidade tipo de *P. caerulescens* fica na Nova Caledônia. A espécie foi descrita como *Gelidium caerulescens* por Kützing (1868) com base em espécimes coletadas por Vieillard. O tipo do material é uma figura da planta original de Kützing. Entretanto, no herbário do Jardim Botânico de Nova York existe um espécime, identificado como *G. caerulescens*, que também foi coletado por Vieillard no mesmo lugar e na mesma data que o original, marcado como "cotipo" por Howe (Santelices, 1976; Taylor, 1943). Tanto o material definido como "cotipo", como a ilustração de Kützing não apresentaram cistocarpos, levando a definir essa espécie como *Gelidium*. Santelices (1976) encontrou semelhanças entre algas havaianas com o cotipo de Nova York e concluiu que se tratavam da mesma espécie. Ele concluiu que a organização interna do material havaiano e do "cotipo" se aproximavam mais de *Pterocladia* do que *Gelidium* e, portanto, transferiu a espécie para o gênero *Pterocladia*. Mais tarde, a espécie foi transferida para o gênero *Pterocladiella*, com base no desenvolvimento cistocarpo (Santelices & Hommersand, 1997). Todas as análises moleculares que incluíram *P. caerulescens* foram feitas baseadas em amostras do Havaí, pois não existem dados moleculares de espécimes da Nova Caledônia.

Pterocladiella caerulescens é comumente encontrada em regiões tropicais e subtropicais (Guiry & Guiry, 2014) e, inclusive, já foi referida para o Brasil, desde o litoral da região sul, até o nordeste (Fernandes & Guimarães, 1998; Ugadim, 1985). No Brasil, nenhum dos trabalhos anteriores utilizou dados moleculares em suas análises e, por conta disto, há possibilidade de que as citações anteriores possam ser equivocadas, já que existem espécies pseudo-crípticas. Neste trabalho, *P. caerulescens* não foi encontrada nas coletas feitas ao longo do litoral do sudeste, porém as duas espécies crípticas, *P. beachiae* e *P. australafricanensis*, foram coletadas.

As análises filogenéticas, baseadas no marcador *rbc*L, mostram três agrupamentos distintos, bem suportados, separando as espécies do complexo (Figura 8). O mesmo resultado foi observado em Sohrabipour *et al.* (2013). Apesar da distinção dos agrupamentos, a divergência entre sequências de *rbc*L dessas espécies pode gerar dúvidas para determinação do limite específico (Tronchin & Freshwater, 2007), como é observado na Tabela 18, pois a distância entre a divergência intraespecífica máxima e a divergência interespecífica mínima pode ser pequena. As sequências de *Pterocladiella beachiae* da Costa Rica, Panamá e Brasil, todas do oceano Atlântico, apresentaram 100% de similaridade, entretanto, em relação aos espécimes da Malásia, a variação foi de 0,6-0,8% (7 a 9 nucleotídeos). Essa variação foi considerada dentro da faixa de verificação intraespecífica permitindo determinar essa espécie para os espécimes da Malásia (Sohrabipour *et al.*, 2013). Entretanto, o valor de divergência interespecífica mínima foi de 1,2% (14 nucleotídeos) entre as espécies *P. beachiae* e *P. australafricanensis*. Portanto, com base nesses valores, a diferença de apenas cinco nucleotídeos entre a variação interespecífica e a intraespecífica difere uma espécie da outra. Os cálculos do valor de "barcoding-gap" para o marcador *rbc*L não foram feitos porque a maioria das sequências da mesma localidade não apresentou diversidade intraespecífica.

Tabela 18 – Divergência intraespecífica (diagonal em cinza), divergência interespecífica em porcentagem (abaixo da diagonal) e em nucleotídeos (acima da diagonal) do marcador *rbc*L para as espécies do "complexo *Pterocladiella caerulescens*" separadas por localidade. A divergência intraespecífica de localidades diferentes está separada dentro quadros marcados.

	1	2	3	4	5	6	7
1. P. caerulescens Havaí	0,4%	5-7	25-28	27-34	26-29	25-29	23-28
2. P. caerulescens Malásia	0,4-0,7%	0	27	32	28	27-28	26
3. P. beachiae Atlântico	2,1-2,4%	2,3%	0	7-9	15	14-15	14
4. P. beachiae Malásia	2,3-2,9%	2,4-2,7%	0,6-0,8%	0,5%	15-19	14-19	14-16
5. P. australafricanensis África do Sul	2,2-2,5%	2,4%	1,3%	1,3-1,6%	0	2-6	5
6. P. australafricanensis Moçambique	2,1-2,5%	2,3-2,4%	1,2-1,3%	1,2-1,6%	0,2-0,5%	0,5%	1-5
7. P. australafricanensis Brasil	2,0-2,4%	2,2%	1,2%	1,2-1,4%	0,4%	0,1-0,4%	0

O marcador COI-5P e a comparação do valor de "barcoding-gap" tem se mostrado eficente na separação de espécies muito próximas (Freshwater *et al.*, 2010). Uma análise de divergência deste marcador foi feita com sequências das espécies do complexo *Pterocladiella caerulescens*, considerando as localidades em foram coletadas (Tabela 19). O menor valor de "barcoding-gap" entre diferentes espécies encontrado foi entre *P. australafricanensis* de Moçambique com *P. beachiae* do Brasil e do Panamá, que foi de 3,21x.

Tabela 19 – Divergência intraespecífica em porcentagem (diagonal em cinza), divergência interespecífica em porcentagem (abaixo da diagonal) e verificação do "barcoding-gap" (acima da diagonal) do marcador COI-5P para as espécies do "complexo *Pterocladiella caerulescens"* separadas por localidade. A divergência intraespecífica de localidades diferentes está separada dentro quadros marcados.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. P. beachiae CR	0	0,5x	0,5x	2,44x	-	3,36x	-	23,5x	11,25x
2. P. beachiae PA	0,2-0,4	0-0,4	0,5x	2,22x	14,25x	3,21x	11,25x	11,25x	10,75x
3. P. beachiae BR	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4	2,22x	13,75x	3,21x	11,25x	11,25x	10,5x
4. P. beachiae MA	2,2-2,5	2,0-2,5	2,0-2,5	0,7-0,9	6,78x	3,57x	5,89x	5,78x	5,56x
5. P. australafricanensis AS	5,8	5,7-5,8	5,5-5,8	6,1-6,5	0	0,36x	-	28,5x	13,75x
6. P. australafricanensis MO	4,7-5,7	4,5-5,7	4,5-5,7	5,0-6,3	0,5-1,5	1,4	0,29x	3,71x	3,57x
7. P. australafricanensis BR	4,7	4,5-4,7	4,5-4,7	5,3-5,7	1,9	0,4-1,7	0	27,5x	13,25x
8. P. caerulescens HV	4,7-4,8	4,5-4,8	4,5-4,8	5,2-5,7	5,7-5,8	5,2-5,7	5,5-5,7	0,2	2,25x
9. P. caerulescens MA	4,5	4,3-4,5	4,2-4,5	5,0-5,3	5,5	5,0-5,3	5,3	0,9-1,4	0-0,4

^{*} Abreviação das localidades: CR, Costa Rica; PA, Panamá; BR, Brasil, MA, Malásia; AS, Áfica do Sul; MO, Moçambique; HV, Havaí.

As sequências de *P. beachiae* do Atlântico apresentaram um valor de "barcoding-gap" de 0,5x (Tabela 19). Ou seja, houve sobreposição entre as divergências intraespecífica e interespecífica, indicando que são a mesma espécie. Todavia, na comparação com espécimes da Malásia, o valor do "barcoding-gap" foi de 2,22x a 2,44x (Tabela 19, em negrito), esse valor é alto quando comparado aos outros valores de "barcoding-gap" encontrados nesta análise. A divergência de 2,0-2,5% entre algas da Malásia e do Caribe foi considerada suficiente para considerar os espécimes coespecíficos (Sohrabipour *et al.*, 2013). Em

relação à *P. caerulescens* da Malásia e do Havaí, o valor de "barcoding-gap" também foi alto, de 2,25x (Tabela 19, em negrito). Esses valores altos na comparação com algas da Malásia podem ser reflexos da distância geográfica. Uma amostragem mais extensiva de *P. caerulescens* ao longo dos lugares onde ela foi relatada, especialmente na localidade tipo, se faz necessária para determinar se existem mais espécies no complexo e, também, elucidar limites entre essas espécies (Freshwater *et al.*, 2010).

As únicas diferenças morfológicas retratadas entre espécies do complexo são muito sutis, relatadas apenas entre *P. caerulescens* e *P. beachiae*. Em *P. caerulescens*, a base dos ramos laterais é gradualmente cônica para constrita, enquanto que a base dos ramos laterais de *P. beachiae* possui constrição marcada. No cistocarpo, em *P. caerulescens*, o núcleo placental é inicialmente ligado ao fundo da cavidade do cistocarpo, apenas em estágios posteriores de desenvolvimento a placenta pode se desligar e se manter no meio do cistocarpo. Em *P. beachiae*, o núcleo central da placenta se mantém centralizado na cavidade do cistocarpo ao longo de todo o desenvolvimento e produz carpósporos por todos os lados (Thomas & Freshwater, 2001). Em *P. australafricanensis*, as características morfológicas são semelhantes às encontradas em *P. beachiae* (Freshwater *et al.*, 2010; Tronchin & Freshwater, 2007). Não foram encontradas plantas cistocárpicas nos exemplares brasileiros. A única diferença observada foi na distribuição dos rizines da região mediana do ramo ereto, em *P. beachiae* os rizines se concentraram na região central da medula (Apêndice I: Prancha XXV, Fig. 225), enquanto que em *P. australafricanensis*, se concentraram na medula externa (Apêndice I: Prancha XXIII, Fig. 203). Uma comparação morfológica entre as duas espécies encontradas neste trabalho então apresentadas na Tabela 20.

Tabela 20 – Comparação das características morfológicas das espécies *Pterocladiella beachiae* e *Pterocladiella australafricanensis* encontradas neste trabalho. (D = diâmetro; E = espessura; L = largura; A = altura)

australatricanensis encontradas neste t	rabalho. (D = diâmetro; E = espessura; L :	
	Pterocladiella beachiae	Pterocladiella australafricanensis
Isolado ou formando tufos	Isolado ou formando tufo	Isolado ou formando tufo
Cor do talo	Vermelho vináceo	Vermelho vináceo
Tamanho do talo	Até 3,0	Até 2,5
Estolão		
Tipo de estrutura de fixação	"Peg-like"	"Peg-like"
Forma do estolão	Cilíndricos (D: 270-400µm)	Cilíndricos (D: 380-470µm)
Camadas de células na medula	9 a 11	ca. 11
Forma das células medulares	Circulares (D: 17-29µm)	Circulares (D: 15-29µm)
Camadas de células no córtex	3 a 4	3
Forma das células da camada mais externa do córtex	Radialmente elípticas (A: 9,7-19,5µm/ L: 7,9-17,0µm)	Radialmente elípticas (A: 12-19µm/ L: 8-12,5µm)
Distribuição de rizines	Poucos, dispersos na medula	Quantidade mediana, principalmente na medula externa
Ramo ereto		
Ramificação	Pinada a irregular principalmente nas porções medianas do talo	Pinada a irregular
Forma do ramo ereto	Compressos proximalmente (E: 180- 225μm/ L: 320-390μm), achatado distalmente (E: 120-145μm/ L: 1030- 1520μm)	Compressos proximalmente (E: 227-240µm/ L: 330-455µm), achatado distalmente (E: 180-200µm/ L: 1400-1440µm)
Constricção da base dos ramos adjacentes	Presente	Presente
Ápice dos ramos	Obtuso, célula apical proeminente, pode ou não estar entre dois lobos corticais	Obtuso, célula apical proeminente, pode ou não estar entre dois lobos corticais
Camadas de células na medula (região mediana)	5 a 8	ca. 10
Células medulares (corte transversal)	Circulares a elípticas (D: 18-24µm)	Circulares (D: 18-29µm)
Camadas de células no córtex	2 a 3	2 a 3
Células da camada mais externa do córtex (corte transversal)	Radialmente elípticas (A: 8-15,5µm/ L: 7-11,5µm)	Radialmente elípticas (A: 9,5-17µm/ L: 7-13µm)
Presença de fileira central de células medulares distinta	Ausentes	Ausentes
Distribuição de rizines	Numerosos, na medula central	Numerosos, principalmente na medula externa
Plantas tetrasporofíticas		
Localização dos soros	Porções terminais e subterminais dos ramos laterais	-
Presença de margens estéreis	Presente	-
Desenvolvimento dos tetrasporângios	Acropetal a irregular	-
Divisão dos tetrasporângios	Tetraédrica	-
Forma do tetrasporângio	Ovoide a globoide (L: 15-23µm/ C: 24- 28µm)	-

4.4. Considerações taxonômicas para Gelidiales do Sudeste

Dezoito espécies de Gelidiales haviam sido referidas para o Brasil (Tabela 1), entretanto neste trabalho foram encontradas 23 espécies, a maioria descobertas apenas por dados moleculares e sem identificação em nível específico. Essa diferença na quantidade de espécies encontradas em relação ao que já havia sido citado reflete o fato da biodiversidade de Gelidiales para a costa brasileira estar subestimada. Considerando que o foco das coletas ficou limitado na região Sudeste do Brasil, existe o potencial de se encontrar ainda mais espécies numa amostragem mais ampla.

A aliança de dados moleculares e dados morfológicos permitiram a identificação de nove espécies, sendo que, das citadas anteriormente, apenas seis foram encontradas neste trabalho: *Gelidiella acerosa* (Forsskål) Feldmann & Hamel, *Gelidiella ligulata* E.Y. Dawson, *Gelidium crinale* (Hare ex Turner) Gaillon, *Gelidium floridanum* W.R. Taylor, *Pterocladiella bartlettii* (W.R. Taylor) Santelices e *Pterocladiella capillacea* (S.G. Gmelin) Santelices & Hommersand. Duas são novas referências para o Brasil: *Pterocladiella australafricanensis* Tronchin & Freshwater e *Pterocladiella beachiae* Freshwater e uma correção taxonômica: *Gelidium microdonticum* W. R. Taylor, que era identificado como *Gelidium pusillum* var. *conchicola*. Uma comparação entre as espécies citadas anteriormente e as encontradas neste trabalho está apresentada na Tabela 21.

4.4.1. Gelidiellaceae

As espécies não identificadas de Gelidiellaceae, *Gelidiella* sp e *Parviphycus* sp. foram comparadas molecular e morfologicamente com todas as espécies da família. Existem 16 espécies de *Gelidiella* taxonomicamente aceitas atualmente e seis de *Parviphycus*. (Guiry & Guiry, 2014). Dessas, apenas *Ge. acerosa*, *Ge. ligulata*, *Ge. ramellosa*, *Ge. fanii*, *Parviphycus pannosus* (como *P. tenuissimus*) e *P. antipai* possuem sequências de *rbc*L no GenBank.

As características morfológicas que separam os dois gêneros são: padrão de divisão dística para as células subapicais em *Parviphycus* e padrão de divisão decussada para *Gelidiella*; distinção das células axiais e periaxiais em cortes transversais no ramo ereto em *Parviphycus*, células sem essa organização em *Gelidiella*; e estiquídios com tetrasporângios organizados regularmente em poucas fileiras (estiquídio "pannosa-type") em *Parviphycus* e estiquídio com tetrasporângios organizados desordenados com muitas fileiras (estiquídio "acerosa-type") em *Gelidiella* (Santelices, 2004).

Dados moleculares têm mostrado certa inconsistência na separação dos dois gêneros. *Gelidiella ramellosa* possui características morfológicas típicas de *Parviphycus*, mas análises moleculares com *rbc*L e o marcador nuclear LSU mostraram que essa espécie é intermediária aos dois gêneros (Huisman *et al.*, 2009), indicando que uma revisão acurada com uma abordagem molecular, aliada a morfologia deve ser feita para família.

Dentre as espécies de *Gelidiella* taxonomicamente aceitas atualmente, a que mais se aproxima com *Gelidiella* sp. é a *Gelidiella hancockii*, que já foi citada para o Brasil. Porém, a ausência de material fértil impossibilitou um diagnóstico completo. Além disso, uma característica importante do espécime encontrado é a presença de anastomoses, que não é mencionado em nenhuma descrição anterior para *Gelidiella*. Isso pode ser um grande indício de se tratar de uma espécie nova, assim como foi discutido nos comentários da descrição de *Gelidiella* sp.

Gelidiella hancockii E.Y. Dawson foi citada com cautela por Ugadim (1974). Oliveira (1977) reforça essa posição. Entretanto, nenhum estudo aprofundado com essa espécie foi realizado até então. Além disso, essa espécie não possui sequências no banco de dados. Sequências desse material da localidade tipo, cidade de Kino, Sonora (México) (Dawson, 1953), desse material seria um fator importante para tornar uma análise florística da espécie mais apurada.

Comparando *Parviphycus* sp. com as espécies citadas anteriormente foi concluído que esse espécime apresenta características próprias que sugerem ser uma espécie nova. *Parviphycus setaceous* e *Parviphycus trinitatensis* não possuem sequências no banco de dados, portanto as comparações com *Parviphycus* sp. foram feitas apenas com bases morfológicas. *Pa. trinitatensis* é muito ramificado e o espécime estudado não possui ramificações. *Parviphycus setaceus* apresenta filamentos rizoidais em regiões determinadas, diferente da espécie deste estudo, que possui ao longo de todo o estolão. Apesar das comparações com estruturas vegetativas, a ausência de estiquídios impossibilita a distinção de espécies desse gênero.

Parviphycus pannosus foi citada muitas vezes para o litoral brasileiro, principalmente para o Sudeste (Brasileiro *et al.*, 2009; Creed *et al.*, 2010; Joly, 1965; Oliveira, 1977). Joly (1965) descreve esta espécie como plantas de até 2,0 mm, de altura, constituídas por uma porção rizomatosa cilíndrica, fixa ao substrato por tufos rizoidais. Ramos eretos cilíndricos, de 60-75 µm de diâmetro, não ou rarissimamente apresentando ramificação. Diferente da descrição feita por Joly (1965), o material estudado neste trabalho apresenta ramo ereto compresso (Apêndice I: Prancha IV - Figura 29). Essa diferença morfológica e as comparações moleculares, detalhadas nos comentários da descrição de *Parviphycus* sp., levaram a conclusão de que a espécie encontrada neste trabalho não é *Pa. pannosus*.

4.4.2. Pterocladiaceae

Duas espécies foram citadas anteriormente e não foram encontradas no litoral do Sudeste brasileiro: *Pterocladiella caerulescens* (Kützing) Santelices & Hommersand e *Pterocladiella taylorii* (A.B. Joly) Santelices.

Pterocladiella caerulescens foi citada para o Brasil tanto por este binômio como por Gelidium pusillum var. conchicola. Essa espécie é referida para o Brasil desde o litoral da região sul até o nordeste (Fernandes & Guimarães, 1998; Ugadim, 1985). Entretanto, nenhum dos trabalhos anteriores utilizou dados moleculares em suas análises e, por conta disto, há possibilidade de que as citações anteriores podem ter sido equivocadas, já que existem espécies crípticas, como foi discutido na seção 4.3.4. Neste trabalho, P. caerulescens não foi encontrada nas coletas feitas ao longo do litoral do sudeste, porém as duas espécies crípticas, P. beachiae e P. australafricanensis, foram coletadas.

Pterocladiella taylorii (A.B. Joly) Santelices foi descrita por Joly (1957) como Gelidiella taylorii, a partir do material coletado próximo à praia de Paranapoã, em São Vicente. Santelices (2007) analisou o isótipo e observou a presença de rizines no talo e apressórios do tipo "peg-like", transferindo, então, a espécie para Pterocladiella. Foi feita, neste trabalho, a tentativa de amplificação do material depositado no herbário do Departamento de Botânica da Universidade de São Paulo identificado como Gelidiella taylorii, mas não obtivemos sucesso. Comparações morfológicas do material da exsicata com o material coletado neste trabalho não foram suficientes pra maiores conclusões sobre essa espécie.

4.4.3. Gelidiaceae

Assim como já havia sido constatado *Gelidium* é um gênero "diabólico" (Bornet, 1892), A dificuldade de determinar limites para a separação de espécies é um problema antigo (Dixon, 1961) até os dias de hoje. A ferramenta da biologia molecular tem auxiliado nesses estudos e também revelado que o gênero é mais complexo do que a morfologia podia indicar.

Duas espécies citadas anteriormente foram consideradas referências equivocadas: *Gelidium pusillum* (Stackhouse) Le Jolis e *Gelidium coarctatum* Kützing. Estudos filogenéticos mostram que *G. pusillum* deve ser utilizado com cautela e se restringe às regiões europeias e da costa atlântica da América do Norte (Freshwater & Rueness, 1994; Kim & Boo, 2012). Além disso, a monofilia de *Gelidium pusillum* e a baixa diversidade genética da espécie sugere que a classificação de variedades deve ser abandonada (Kim & Boo, 2012). Algas de pequeno porte crescendo na faixa superior da zona entremarés formando "turf", associadas à *Brachydontes*, *Chthamalus* e *Tetrachlita* têm sido identificadas em trabalhos de flora brasileira como *Gelidium pusillum* var. *conchicola* (Fernandes & Guimarães, 1998). Entretanto, estudos moleculares mostraram que esse material estava sendo identificado erroneamente e que na verdade se trata de *Gelidium microdonticum* (Thomas & Freshwater, 2001).

Algas identificadas como *Gelidium coarctatum* para a costa brasileira devem ter sua taxonomia desconsiderada. Regiões do marcador molecular *rbc*L do material tipo de *G. coarctatum*, obtida do herbário de Leiden (Holanda), revelaram que esse material é na verdade *Gelidium capense*, espécie nativa da África do Sul. Com isso, *G. coarctatum* deve ser sinonimizado com *G. capense* e as algas que são comumente encontradas no litoral do nordeste e do Espírito Santo não se tratam de *G. coarctatum*, mas sim uma espécie nova. As espécies brasileiras não podem ser *G. capense* pois existem sequência para esta espécie no banco de dados.

Três espécies de *Gelidium* citadas anteriormente não foram encontradas neste trabalho: *Gelidium americanum* (W.R. Taylor) Santelices, *Gelidium spinosum* (S.G. Gmelin) P.C. Silva e *Gelidium torulosum* Kützing. *G. americanum* e *G. spinosum* possuem sequências no banco de dados. São plantas relativamente grandes, maiores de 4,0 cm, que dificilmente passariam despercebidas nas coletas. Entretanto, é possível que não tenham sido coletadas, pois *G. americanum* foi citado principalmente para o Nordeste (Ugadim, 1985), mas já foi encontrada no Espírito Santo (Fernandes & Guimarães, 1998). *G. spinosum* é mais comum no litoral da região Sul (Ugadim, 1985).

Gelidium torulosum foi descrito por Kützing (1868) com base em um material brasileiro coletado por A. Von Chamisso. O local de coleta não foi especificado. Desde sua descrição, a espécie foi considerada algumas vezes como citação duvidosa (Oliveira, 1977; Taylor, 1960). Ugadim (1985) descreve a espécie para um material coletado em Pernambuco, baseando em fotos do tipo mostrada no trabalho de Segi (1963). A espécie também foi citada para o Espírito Santo (Fernandes & Guimarães, 1998). Existe a possibilidade dessa espécie não ter sido coletada durante este trabalho, pois foi encontrada em trabalhos anteriores no litoral mais ao norte do país. Todavia, uma pesquisa mais detalhada do tipo e de espécimes brasileiras é importante para confirmar a situação taxonômica dessa espécie, se possível, aliando dados moleculares.

As análises filogenéticas deste estudo indicam que *Gelidium* não é monofilético. O Grupo 3-6-9, segregado do clado que incluiu outras espécies de *Gelidium*, possui hábito pequeno, de até 2,0 cm e talo achatado. Possivelmente, sem análises moleculares, essas espécies seriam facilmente identificadas erroneamente como *Gelidium pusillum*. Não foram encontradas evidências morfológicas relevantes que

pudessem separar esse grupo de *Gelidium*, exceto pela margem estéril afilada dos soros de tetrasporângios (Figura 4: C). As espécies *Gelidium* sp. 2, *Gelidium* sp. 4, *Gelidium* sp. 7, *Gelidium* sp. 8 e *Gelidium* sp. 11 estão em ramos isolados nas análises moleculares e a falta de características morfológicas, principalmente reprodutivas, impossibilita a distinção dessas espécies.

Tabela 21 - Relação de espécies de Gelidiales citadas anteriormente e encontradas neste trabalho.

Espécie	Estados	Referências	Comentários
Gelidiella acerosa (Forsskål) Feldmann & Hamel	CE, RN, PB, PE, BA, ES, RJ, Atol das Rocas, Arq. Fernando de Noronha	Fernandes & Guimarães, 1998 Pereira <i>et al.</i> , 2002 Guimarães, 2006 Este trabalho	Identificação confirmada por dados moleculares e morfológicos.
Gelidiella hancockii E.Y. Dawson	SP	Ugadim, 1974 Oliveira et al., 2002	Necessita de revisão taxonômica.
Gelidiella ligulata E.Y. Dawson	BA, RN, ES, SP, RJ	Fernandes & Guimarães, 1998 Guimarães, 2006 Este trabalho	Identificação confirmada por dados moleculares e morfológicos.
Gelidium americanum (W.R. Taylor) Santelices	BA, MA, PB, ES, SP, SC	Joly, 1965 Taylor, 1960 Fernandes & Guimarães, 1998 Guimarães, 2006	Não encontrada neste trabalho.
Gelidium coarctatum Kützing	AL, BA, CE, PB, PE, RN, ES	Ugadim, 1985 Fernandes & Guimarães, 1998 Guimarães, 2006	Identificação errônea. G. coarctatum que será sinônimizada com G. capense. Algas identificadas anteriormente como G. coarctatum pertencem à Gelidium sp. 5 deste trabalho, que será descrita como espécie nova.
<i>Gelidium crinal</i> e (Hare ex Turner) Gaillon	MA, CE, RN, PB, PE, AL, BA, ES, RJ, SP, PR, SC, RS, Arq. Fernando de Noronha	Taylor, 1960 Joly, 1965 Ugadim, 1970 Cordeiro-Marino, 1978 Ugadim, 1985 Fernandes & Guimarães, 1998 Guimarães, 2006 Este trabalho	Identificação confirmada por dados moleculares e morfológicos.
Gelidium floridanum W.R. Taylor	CE, PE, ES, RJ, SP, PR, SC, RS	Ugadim, 1970 Ugadim, 1985 Fernandes & Guimarães, 1998 Guimarães, 2006 Este trabalho	Identificação confirmada por dados moleculares e morfológicos.
Gelidium microdonticum W.R. Taylor	SP, RJ, ES	Este trabalho	Espécie identificada erroneamente como <i>G.</i> pusillum var. conchicola em trabalhos anteriores.
Gelidium pusillum (Stackhouse) Le Jolis	PA, BA, CE, MA, PB, PE, PI, RN, SE, ES, RJ, SP, PR, SC, RS, Arq. Fernando de Noronha, I. de Trindade, Abrolhos	Joly, 1957 Taylor, 1960 Joly, 1965 Ugadim, 1985	Identificação errônea. Esse nome não deve ser aplicado para algas brasileiras.
Gelidium spinosum (S.G. Gmelin) P.C. Silva	CE, PE, BA, RJ, SP, PR, SC, Arq. Fernando de Noronha	Ugadim, 1985 Oliveira <i>et al.</i> , 2002	Não encontrada neste trabalho.
Gelidium torulosum Kützing	BA, PE, ES, SP, PR, SC	Ugadim, 1985 Fernandes & Guimarães, 1998 Guimarães, 2006	Necessita de revisão taxonômica.
Gelidium sp. 1 Gelidium sp. 2	PE, RN SP, ES	Este trabalho Este trabalho	Possível espécie nova Possível espécie nova
Gelidium sp. 3	SP	Este trabalho	Possível espécie e gênero novos
Gelidium sp. 4	SP	Este trabalho	Possível espécie nova
Gelidium sp. 5	ES	Este trabalho	Possível espécie nova. Era identificada erroneamente como <i>Gelidium coarctatum</i>
Gelidium sp. 6	RJ	Este trabalho	Possível espécie e gênero novos
Gelidium sp. 7 Gelidium sp. 8	RJ, ES RJ	Este trabalho Este trabalho	Possível espécie nova Possível espécie nova
Gelidium sp. 9	RJ	Este trabalho	Possível espécie e gênero
Gelidium sp. 10	ES	Este trabalho	novos Possível espécie nova, pode ter sido identificada erroneamente como G. floridanum
Gelidium sp. 11	ES	Este trabalho	Possível espécie nova
Parviphycus pannosus (Feldmann) G. Furnari	CE, RJ, SP, SC	Joly, 1965 Széchy <i>et al.</i> , 2005	Não encontrada neste trabalho.

Tabela 21- continuação...

Espécie	Estados	Referências	Comentários
Parviphycus setaceous (Feldmann) Afonso-Carrillo, Sanson, Sangil & Diaz-Villa	BA, RN	Oliveira Filho & Ugadim, 1976	Não encontrada neste trabalho.
Parviphycus trinitatensis W.R. Taylor (M.J. Wynne)	BA, CE, ES, RJ, SP, I. de Trindade	Taylor, 1960 Joly, 1965 Horta, 2000 Guimarães, 2006 Brasileiro <i>et al.</i> , 2009	Não encontrada neste trabalho.
Parviphycus sp.	SP	Este trabalho	Coletado no infralitoral. Possível espécie nova
Pterocladiella australafricanensis Tronchin & Freshwater	ES	Este trabalho	Pode ter sido identificada erroneamente como <i>P. caerulescens</i> em trabalhos anteriores
Pterocladiella bartlettii (W.R. Taylor) Santelices	BA, MA, PB, PI, RN, ES, RJ, SP	Ugadim, 1985 Fernandes & Guimarães, 1998 Guimarães, 2006 Este trabalho	Identificação confirmada por dados moleculares e morfológicos.
Pterocladiella beachiae Freshwater	SP, RJ, ES	Este trabalho	Pode ter sido identificada erroneamente como <i>P.</i> <i>caerulescens</i> em trabalhos anteriores
Pterocladiella caerulescens (Kützing) Santelices & Hommersand	AL, BA, CE, PB, PE, RN, ES, RJ, SP, SC	Joly, 1965 Ugadim, 1985 Fernandes & Guimarães, 1998 Guimarães, 2006	Foi identificada erroneamente e pertencem a P. australafricanensis ou P. beachiae (espécies crípticas)
Pterocladiella capillacea (S.G. Gmelin) Santelices & Hommersand	CE, RN, ES, RJ, SP, PR, SC, RS	Joly, 1957 Taylor, 1960 Joly, 1965 Ugadim, 1985 Fernandes & Guimarães, 1998 Guimarães, 2006 Este trabalho	Identificação confirmada por dados moleculares e morfológicos.
Pterocladiella sanctarum (Feldmann & G. Hamel) Santelices	BA, RN	Nunes & Guimarães, 2008	Não encontrada neste trabalho.
Pterocladiella taylorii (A.B. Joly) Santelices	RJ, SP	Joly, 1957 Oliveira <i>et al.</i> , 2002	Necessita de revisão taxonômica.
Pterocladiella sp.	SP	Este trabalho	Possivel espécie nova

5. Considerações finais

A utilização da técnica de "DNA barcoding" mostrou-se fundamental para auxiliar a taxonomia de Gelidiales para a costa do sudeste brasileiro. Assim como era esperado, o marcador UPA é relativamente mais conservado, pois foi observada uma diferença mínima de dois nucleotídeos na separação de espécies proximamente relacionadas. Essa delimitação não é satisfatória para distinguir espécies e torna o "DNA barcode" pouco efetivo, embora o resultado da análise de agrupamento ter sido igual ao COI-5P. Apesar da ineficiência como "DNA barcode" do UPA para separar espécies proximamente relacionadas, este marcador foi essencial para uma triagem inicial das espécies, já que os "primers" são universais e havia uma necessidade de modificar a combinação de "primers" para amplificar o COI-5P.

O COI-5P apresentou grande poder de resolução na delimitação de espécies, bem como na análise do valor de "barcoding-gap". Espécies muito próximas, com baixa divergência interespecífica em todos os marcadores, puderam ser delimitadas com base no valor de "barcoding-gap".

As análises filogenéticas reforçaram a posição monofilética de Gelidiales, como já havia sido colocado em trabalhos anteriores. As relações entre as famílias Gelidiellaceae, Pterocladiaceae e Gelidiaceae são incertas, pois formam uma politomia que inclui as três famílias e *Aphanta pachyrrhiza*. A única família monofilética bem sustentada é Gelidiellaceae, porém a relação entre os dois gêneros pertencentes a essa família, *Gelidiella e Parviphycus*, é incerta, pois *Gelidiella ramellosa* aparece em uma posição intermediária entre os dois gêneros. Os resultados desse trabalho confirmaram a presença de *Ge. acerosa* e *Ge. ligulata* no litoral brasileiro e revelaram a existência de duas espécies, *Gelidiella* sp. e *Parviphycus* sp., que não foram identificadas e podem ser espécies novas para a ciência.

Os três gêneros que compõem Pterocladiaceae não possuem um ancestral em comum. *Aphanta* e *Pterocladia* se posicionaram na filogenia distantes de *Pterocladiella*. Este último gênero é monofilético e as análises moleculares revelaram a presença de espécies pseudo-crípticas, como *P. australafricanensis* e *P. beachiae*. Os estudos morfológicos, junto com dados moleculares, confirmaram a presença de *P. bartlettii* e *P. capillacea* para o litoral do Sudeste e, por fim, uma espécie nova, *Pterocladiella* sp, foi descoberta.

Gelidiaceae formou um clado unindo todos os gêneros dessa família, mas com baixo suporte, tornando duvidosa a colocação monofilética da família. As análises filogenéticas deste estudo indicam que *Gelidium* é polifilético Uma politomia foi formada separando os clados *Ptilophora* e dois grupos de *Gelidium*, "*Gelidium* II", que inclui o Grupo 3-6-9, e "*Gelidium* I", que comporta a maioria das espécies de *Gelidium*. Segundo esses resultados, o Brasil possui dois gêneros de Gelidiaceae: *Gelidium* e um gênero novo formado pelo Grupo 3-6-9. A única diferença morfológica encontrada no Grupo 3-6-9 é a presença de margens estéreis afiladas nos soros de tetrasporângios, observada em *Gelidium* sp. 3 e *Gelidium* sp. 9. Sem essa característica, esse grupo só pode ser separado com bases moleculares.

O grupo "Gelidium I" é monofilético, se desconsiderar Acanthopeltis longiramulosa. Entretanto, a relação dentro do grupo é pouco esclarecida. As análises morfológicas e moleculares confirmaram a presença de *G. crinale* e *G. floridanum* para o litoral brasileiro. *G. microdonticum* é referido de forma taxonomicamente correta pela primeira vez para o Brasil. Essa espécie era identificada erroneamente como *G. pusillum* var. *conchicola*. A diversidade do gênero era subestimada, pois até esse trabalho eram citadas sete espécies para o Brasil. Os resultados desse trabalho revelaram a existência do dobro de espécies, a maioria não identificada. Além disso, foi colocado que *G. coarctatum* não existe para o litoral brasileiro e

espécies identificadas com esse nome são, na verdade, uma espécie nova, chamada neste trabalho como *Gelidium* sp. 5, que ainda será descrita. *G. coarctatum* deve ser colocado com sinonímia com *G. capense*.

6. Bibliografia

- Afonso-Carrillo, J., Sansón, M., Sangil, C. & Tania, D.-V. (2007). New records of benthic marine algae from the Canary Islands (eastern Atlantic Ocean): morphology, taxonomy and distribution. *Bot Mar* 50, 119.
- **Agardh, J. G. (1822).** Species algarum rite cognitae, cum synonymis, differentiis specificis et descriptionibus succinctis. Volumen primum pars posterior. Lundae [Lund]: ex officina Berlingiana.
- **Agardh, J. G. (1851).** Species genera et ordines algarum, seu descriptiones succinctae specierum, generum et ordinum, quibus algarum regnum constituitur. In *Vol secundum algas florideas complectens*, Part 1., pp. i–xii. Lundae [Lund: C.W.K. Gleerup.
- **Agardh, J. G. (1852).** Species genera et ordines algarum, seu descriptiones succinctae specierum, generum et ordinum, quibus algarum regnum constituitur. In *Vol secundum algas florideas complectens*, Part 3, fa., pp. 701–786. Lundae [Lund]: C.W.K. Gleerup.
- **Agardh, J. G. (1876).** Species genera et ordines algarum, seu descriptiones succinctae specierum, generum et ordinum, quibus algarum regnum constituitur. In *Vol tertium Florideis curae posteriores*, pp. 1–724. Lipsiae [Leipzig]: C.W.K. Gleerup.
- **Akatsuka, I. (1986).** *Pterodadiastrum*, a New Genus Segregated from *Pterocladia* (Gelidiales, Rhodophyta). *Bot Mar* **XXIX**, 51–58.
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W. & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* 215, 403–10.
- **Ardissone, F. (1874).** Le Floridee italiche descritte ed illustrate. 5, Spyridieae, Dumontieae, Rhodymenieae. Milano: Tipografia editrice Lombarda.
- **Bailey, J. C. & Freshwater, D. W. (1997).** Molecular systematics of the Gelidiales: inferences from separate and combined analyses of plastid *rbc*L and nuclear SSU gene sequences. *Eur J Phycol* **32**, 343–352.
- Batters, E. A. L. (1902). A catalogue of the British marine algae. J Bot Br Foreign 40, 1–107.
- **Boo, G. H., Park, J. K. & Boo, S. M. (2013).** *Gelidiophycus* (Rhodophyta: Gelidiales): A new genus of marine algae from East Asia. *Taxon* **62**, 1105–1116.
- **Boo, G. & Kim, K. (2014).** Taxonomy and distribution of selected species of the agarophyte genus *Gelidium* (Gelidiales, Rhodophyta). *J Appl Phycol* **26**, 1243–1251.
- **Børgesen, F. (1925).** Marine Algae from the Canary Islands, especially from Teneriffe and Gran Canaria. I. Chlorophyceae. *K Danske Vidensk Selsk Biol Meddelelser* **5**, 1–123.
- **Børgesen, F. (1932).** A revision of Forsskål's algae mentioned in Flora Aegyptiaco-Arabica and found in his herbarium in the Botanical Museum of the University of Copenhagen. *Dansk Bot Ark* **8**, 1–14.
- Bornet, J. B. É. (1892). Les Algues de P.-K.-A. Schousboe. In *Mémoires la Société des Sci Nat Mathématiques Cherbg*, 28th edn., pp. 165–376.
- **Bornet**, **J. B. É. & Thuret**, **G. (1876).** *Notes algologiques recueil d'observations sur les algues. Fasc. 1.* Paris: G. Masson.
- Bouzon, Z. L., Ouriques, L. C. & Oliveira, E. C. (2005). Ultrastructure of tetraspore germination in the agar-producing seaweed *Gelidium floridanum* (Gelidiales, Rhodophyta). *Phycologia* 44, 409–415.
- Brasileiro, P. S., Yoneshigue-Valentin, Y., Bahia, R., Reis, R. P. & Amado-Filho, G. M. (2009). Algas marinhas bentónicas da região Cabo Frio e arredores: síntese do conhecimento. *Rodriguésia* **60**, 39–66
- 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.
- **Cordeiro-Marino, M. (1978).** Rodofíceas bentônicas marinhas do Estado de Santa Catarina. *Rickia* **7**, 1–243.
- **Costa, E. S. (2013).** Algas Gracilarióides (Gracilariaceae, Rhodophyta) na costa brasileira: Uma abordagem morfológica e molecular. Universidade de São Paulo.
- 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. *J Appl Phycol* 24, 1643–1653.
- Creed, M., Fujii, M. T., Barros-Barreto, M., Guimarães, S. M. P. B., Cassano, V., Barreto-Pereira, S. M., Oliveira-Carvalho, M. F. & Khader, S. (2010). Rhodophyceae. In *Catálogo plantas e fungos do Bras*, Volume 1., pp. 416–436. Edited by R. C. Forzza. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro.
- Dawson, E. Y. (1945). Notes on Pacific coast marine algae. III. Madroño 8, 93-97.
- **Dawson, E. Y. (1953).** *Marine Red Algae of Pacific Mexico. Univ South Calif Press*, Allan Hancock Foundation publications of the University of Southern California. University of Southern California Press.

- **Díaz Pulido, G. & Díaz Ruiz, M. (2003).** Diversity of benthic marine algae of the Colombian Atlantic. *Biota Colomb* **4**, 203–246.
- **Dixon, P. S. (1959).** The structure and development of the reprodutive organs and carposporophyte in two British species of *Gelidium*. *Ann Bot New Ser* **23**, 397–407.
- **Dixon, P. S. (1960).** Taxonomic and nomenclatural notes on the Florideae, II. Bot. *Bot Not* **113**, 295–319. Notiser.
- **Dixon, P. S. (1961).** On the Classification of the Florideae with Particular Reference to the Position of the Gelidiaceae. *Bot Mar* **3**.
- **Dixon, P. S. & Irvine, L. M. (1977).** Seaweeds of the British Isles: A Collaborative Project of the British Phycological Society and the British Museum (Natural History). Br Museum (Natural Hist, Part 1, Volume 1. The Museum.
- **Edgar, R. C. (2004).** MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Res* **32**, 1792–7.
- Fan, K. C. (1961). Morphological studies of the Gelidiales. University of California Press.
- Fan, K. C. & Papenfuss, G. F. (1959). Red algal parasites occurring on members of the Gelidiales. *Madroño* 15. 33–38.
- Feldmann, J. & Hamel, G. (1934). Observations sur quelques Gélidiacées. Rev Générale Bot 46, 528-549.
- Feldmann, J. & Hamel, G. (1936). Floridées de France. VII. Gélidiales. Rev Algol algol 9, 85–140.
- **Fernandes, S. & Guimarães, S. M. P. B. (1998).** Estudos taxonômicos de Gelidiales (Rhodophyta) do Estado do Espírito Santo, Brasil. In *An do IV Congr Latino-Americano, II Reun Ibero-Americana e VII Reun Bras Ficologia*, Vol. II., pp. 181–201. Caxambu, MG.
- Forsskål, P. (1775). Flora Aegyptiaca-Arabica sive descriptiones plantarum, quas per Aegyptum inferiorem et Arabium delicem detexit illustravit Petrus Forskål. Prof. Haun. Post mortem auctoris edidit Carsten Niebuhr
- **Fredericq, S. & Hommersand, M. H. (1990).** Diagnoses and key to the genera of the Gracilariaceae (Gracilariales, Rhodophyta). *Hydrobiologia* **204-205**, 173–178. Kluwer Academic Publishers.
- **Freshwater, D. W. & Bailey, J. C. (1998).** A multigene phylogeny of the Gelidiales including nuclear large-subunit rRNA sequence data. *J Appl Phycol* **10**, 229–236.
- **Freshwater, D. W. & Rueness, J. (1994).** Phylogenetic relationships of some European *Gelidium* (Gelidiales, Rhodophyta) species, based on *rbc*L 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 *rbc*L. *Proc Natl Acad Sci U S A* **91**, 7281–7285
- Freshwater, D. W., Fredericq, S. & Hommersand, M. H. (1995). A molecular phylogeny of the Gelidiales (Rhodophyta) based on analysis of plastid *rbc*L nucleotide sequences. *J Phycol* 31, 616–632.
- Freshwater, D. W., Fredericq, S. & Bailey, J. C. (1999). Characteristics and utility of nuclear-encoded large-subunit ribosomal gene sequences in phylogenetic studies of red algae. *Phycol Res* 47, 33–38.
- Freshwater, D. W., Tudor, K., O'Shaughnessy, K. & Wysor, B. (2010). DNA barcoding in the red algal order Gelidiales: comparison of COI with *rbc*L and verification of the barcoding gap." *Cryptogam Algol* 31, 435–449.
- **Freuenfeld, G. (1854).** Aufzählung der Algen der dalmatischen Küste. *Verhandlungen des Zool Vereins Wein* **4**, 317–350.
- Furnari, G., Giaccone, G., Cormaci, M. & Alongi, G. (2010). Macrophytobenthos. *Biol Mar ...* 17, 801–828. Gaillon, B. (1828). Résumé méthodique des classifications des Thalassiophytes. *Dict des Sci Nat [Levrault]* 53, 350–406.
- **Le Gall, L. & Saunders, G. W. (2010).** Dna Barcoding Is a Powerful Tool To Uncover Algal Diversity: a Case Study of the Phyllophoraceae (Gigartinales, Rhodophyta) in the Canadian Flora. *J Phycol* **46**, 374–389.
- **Ganesan**, **E. K.** (1989). A Catalog of Benthic Marine Algae and Seagrasses of Venezuela. Caracas: Fondo Editorial Conicit.
- **Gardner, N. L. (1927).** New species of Gelidium on the Pacific coast of North America. Univ Calif Press. University of California Press.
- Gmelin, S. G. (1768). Historia fucorum. Petropoli [St. Petersburg]: Ex typographia Academiae scientiarum.
- **Goodenough, S. & Woodward, T. J. (1797).** Observations on the British Fuci, with particular descriptions of each species. *Trans Linn Soc London* **3**, 84–235.
- **Greville, R. K. (1830).** Algae britannicae, or descriptions of the marine and other inarticulated plants of the British islands, belonging to the order Algae; with plates illustrative of the genera. Edinburgh & London: McLachlan & Stewart; Baldwin & Cradock.
- **Guimarães, S. M. P. B. (2006).** A revised checklist of benthic marine Rhodophyta from the State of Espírito Santo, Brazil. *Bol do Inst Botânica* **17**, 143–194.
- **Guimarães, S. M. P. B. (2014).** *Gelidium* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. *Jard Botânico do Rio Janeiro*.
- **Guindon, S. & Gascuel, O. (2003).** A Simple, Fast, and Accurate Algorithm to Estimate Large Phylogenies by Maximum Likelihood. *Syst Biol* **52**, 696–704.

- Guiry, M. D. & Guiry, G. M. (2014). Algaebase. Natl Univ Irel.
- **Guiry, M. D. & Womersley, H. B. S. (1993).** *Capreolia implexa* gen. et sp. nov. (Gelidiales, Rhodophyta) in Australia and New Zealand; an intertidal mat-forming alga with unusual life history. *Phycologia* **32**, 266–277.
- **Hall, T. A. (1999).** BioEdit: a user-friendly biological alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl Acids Symp* **41**, 95–98.
- **Harper, J. T. & Saunders, G. W. (2001).** Molecular systematics of the florideophyceae (Rhodophyta) using nuclear large and small subunit rDNA sequence data. *J Phycol* **37**, 1073–1082.
- **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. In *Smithson Contrib to Knowl*, Part II. R., pp. 1–258.
- Hatta, A. M. & Prud'homme van Reine, W. F. (1991). A taxonomic revision of Indonesian Gelidiales (Rhodophyta). *Blumea* **35**, 347–380.
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L. & deWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proc Biol Sci* 270, 313–21.
- **Hommersand, M. H. & Fredericq, S. (1988).** An investigation of cystocarp development in *Gelidium pteridifolium* with a revised description of the Gelidiales (Rhodophyta). *Phycologia* **27**, 254–272.
- Horta, P. A. (2000). Macroalgas do infralotoral do sul e sudeste do Brasil: taxonomia e biogeografia. Universidade de São Paulo.
- **Hudson, W. (1762).** Gulielmi Hudsoni, Regiae Societatis Socii et Pharmacopaei Londinensis, Flora anglica: exhibens plantas per regnum angliae sponte crescentes, distributas secundum systema sexuale: cum differentiis specierum, synonymis autorum, nominibus incolarum, solo lo. Impensis auctoris.
- **Hudson, W. (1798).** Gulielmi Hudsoni Flora anglica: exhibens plantas per regnum Britanniæ sponte crescentes, distributas secundum systema sexuale: cum differentiis specierum, synonymis auctorum, nominibus incolarum, solo locorum, tempore florendi, officinalibus pharmacopæor. R. Faulder [and 9 others].
- Huisman, J. M., Phillips, J. C. & Freshwater, D. W. (2009). Rediscovery of *Gelidiella ramellosa* (Kützing) Feldmann et Hamel (Gelidiales, Rhodophyta) from near the type locality in western Australia. *Cryptogam Algol* 30, 3–16.
- **Joly, A. B. (1957).** Contribuição ao conhecimento da flora ficológica marinha da baía de Santos e arredores. *Bol da Fac Filos Ciências e Let Univ São Paulo, série Botânica* **14**, 1–196.
- **Joly, A. B. (1965).** Flora marinha do litoral norte do Estado de São Paulo e regiões circunvizinhas. *Bol da Fac Filos Ciências e Let Univ São Paulo, série Botânicaetim da Fac Filos Ciências e Let Univ São Paulo, série Botânica* **21**, 21–294.
- **Kim, K. M. & Boo, S. M. (2012).** Phylogenetic relationships and distribution of *Gelidium crinale* and *G. pusillum* (Gelidiales, Rhodophyta) using *cox*1 and *rbc*L sequences. *Algae* **27**, 83–94.
- Kim, K. M., Gerung, G. S. & Boo, S.-M. (2011a). Two-gene sequences and morphology of *Gelidium zollingeri* (Kutzing) comb. nov. (Gelidiales, Rhodophyta). *Algae* 26, 33–40.
- Kim, K. M., Gerung, G. S. & Boo, S. M. (2011b). Corrigendum: Two-gene sequences and morphology of *Gelidium zollingeri* (Kutzing) comb. nov. (Gelidiales, Rhodophyta). *Algae* 26, 209–209.
- Kim, K. M., Hwang, I. K., Park, J. K. & Boo, S. M. (2011c). A New Agarophyte Species, *Gelidium* eucorneum sp. nov. (Gelidiales, Rhodophyta), Based on Molecular and Morphological Data. *J Phycol* 47, 904–910.
- Kim, K. M., Hoarau, G. G. & Boo, S. M. (2012). Genetic structure and distribution of *Gelidium elegans* (Gelidiales, Rhodophyta) in Korea based on mitochondrial *cox*1 sequence data. *Aquat Bot* 98, 27–33. Elsevier B.V.
- **Kraft, G. T. & Abbott, I. A. (1998).** *Gelidiella womersleyana* (Gelidiales, Rhodophyta), a Diminutive New Species from the Hawaiian Islands. *Bot Mar* **41**, 51–61.
- Kumar, G. R., Reddy, C. R. K., Ganesan, M., Thiruppathi, S., Dipakkore, S., Eswaran, K., Subba Rao, P. V. & Jha, B. (2004). Tissue culture and regeneration of thallus from callus of *Gelidiella acerosa* (Gelidiaies, Rhodophyta). *Phycologia* 43, 596–602.
- **Kützing, F. T. (1843).** *Phycologia generalis oder Anatomie, Physiologie und Systemkunde der Tange*, xxxii. Lipsiae (Leipzig), Germany: Brockhaus.
- Kützing, F. T. (1849). Species algarum. Leipzig: FA Brockhaus.
- **Kützing, F. T. (1863).** Diagnosen und Bemerkungen zu drei und siebenzig neun Algenspecies. *Zu der öffentlichen Prüfung sämmtlicher Klassen der Realschule zu Nord* 1–19.
- **Kützing, F. T. (1868).** *Tabulae phycologicae; oder, Abbildungen der tange*, Bd. 18. Nordhausen: Gedruckt auf kosten des verfassers (in commission bei W. Köhne).
- **Kylin, H. (1923).** Studien Über Die Entwicklungsgeschichte Der Florideen. , Kongl Svenska Vetenskaps Akademiens Handlingar. Almqvist & Wiksells.
- **Kylin, H. (1928).** *Entwicklungsgeschichtliche Florideenstudien.*, Acta universitatis Lundensis. 2,24.1928,4. Lunds Univ. Arsskr. N.F. Avd.
- Kylin, H. (1956). Die Gattungen der Rhodophyceen. Lund: C.W.K. Gleerup.

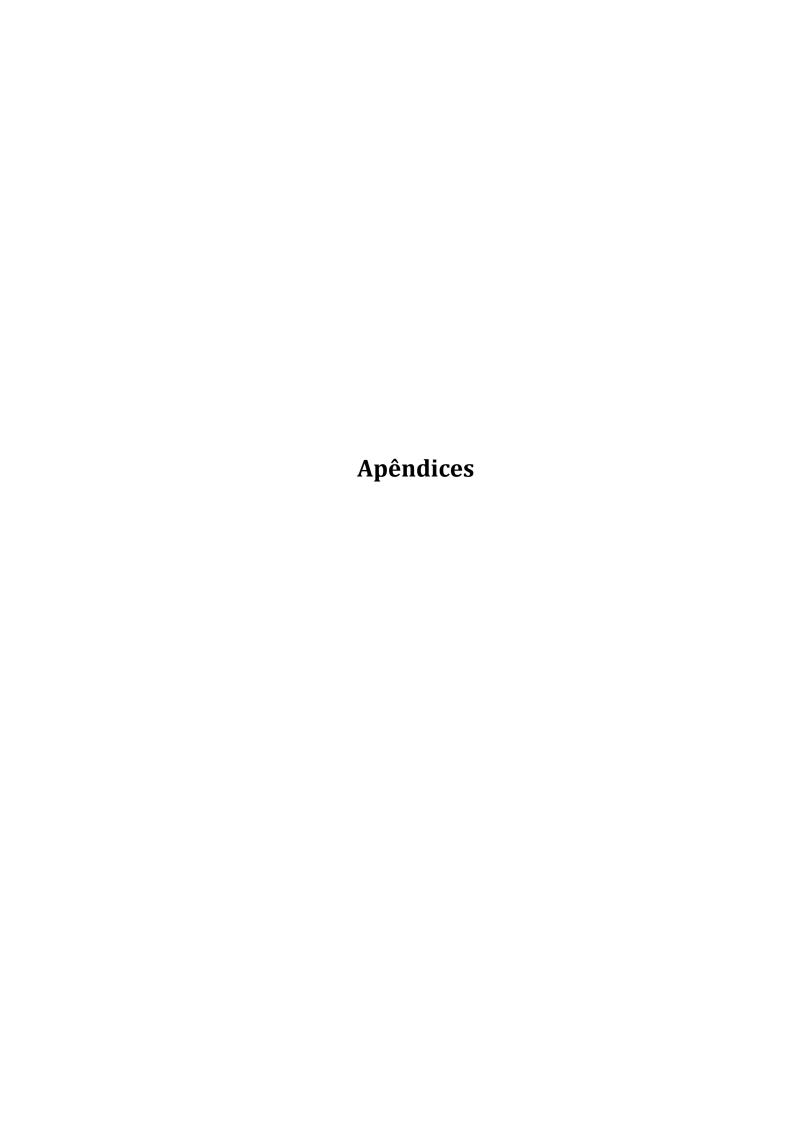
- Lamouroux, J. V. . (1805). Dissertations sur plusieurs espèces de Fucus, peu connues ou nouvelles; avec leur description en latin et en français. Agen & Paris: de l'Imprimerie de Raymond Nouvel & Chez Treuttel et Würtz.
- **Lamouroux**, **J. V. . (1813).** Essai sur les genres de la famille des thalassiophytes non articulées. *Ann du Muséum d'Histoire Nat Paris* **20**, 21–47.
- Larkin, M. A., Blackshields, G., Brown, N. P., Chenna, R., McGettigan, P. A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I. M., Wilm, A. & other authors. (2007). Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 23, 2947–8.
- **Lin, S.-M. & Freshwater, D. W. (2008).** The red algal genus *Gelidiella* (Gelidiales, Rhodophyta) from Taiwan, including *Gelidiella fanii* sp. Nov. *Phycologia* **47**, 168–176.
- **Lindstrom, S. C. & Fredericq, S. (2003).** *rbc*L gene sequences reveal relationships among north-east Pacific species of *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) and a new species, *P. aestivalis. Phycol Res* **51**, 211–224.
- **Lipkin, Y. & Silva, P. C. (2002).** Marine algae and seagrasses of the Dahlak Archipelago, southern Red Sea. *Nov Hedwigia* **75**, 1–90.
- **Loomis, N. H. (1949).** New species of *Gelidium* and *Pterocladia* with notes on the structure of the thalli in these genera. *Occas Pap Allan Hancock Found* **4**, 1–29.
- **Martens, G. von. (1870).** Conspectus algarum Brasiliae hactenus detectarum. *Meddr dansk naturh* **Foren 2**, 297–314.
- Martius, K. F. P. von, Eschweiler, F. G. & Tully, N. S. (1833). Flora Brasiliensis: seu Enumeratio plantarum in Brasilia tam sua sponte quam accedente cultura provenientium, quas in itinere auspiciis Maximiliani Josephi I. Bavariae regis annis 1817-1820 peracto collegit, partim descripsit; alias a Maximiliano seren. p., Flora Brasiliensis: seu Enumeratio plantarum in Brasilia tam sua sponte quam accedente cultura provenientium. Sumptibus J. G Cottae.
- Meier, R., Zhang, G. & Ali, F. (2008). The use of mean instead of smallest interspecific distances exaggerates the size of the "barcoding gap" and leads to misidentification. Syst Biol 57, 809–13.
- **Melo, R.** (1998). *Gelidium* commercial exploitation: natural resources and cultivation. *J Appl Phycol* 10, 303–314.
- Millar, A. J. K. & Freshwater, D. W. (2005). Morphology and molecular phylogeny of the marine algal order Gelidiales (Rhodophyta) from New South Wales, including Lord Howe and Norfolk Islands. *Aust Syst Bot* 18, 215–263.
- Milne, I., Wright, F., Rowe, G., Marshall, D. F., Husmeier, D. & McGuire, G. (2004). TOPALi: software for automatic identification of recombinant sequences within DNA multiple alignments. *Bioinformatics* 20, 1806–7
- **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. (2011). Will a DNA barcoding approach be useful to identify *Porphyra* species (Bangiales, Rhodophyta)? *J Appl Phycol* 24, 837–845.
- Montagne, C. (1846). Flore d'Algérie. Ordo I. Phyceae Fries. In *Explor Sci l'Algérie pendant les années* 1840, 1841, 1842. Sciences Phys Bot Cryptogam, Vol. 1., pp. 1–197. Edited by M. C. Durieu De Maisonneuve. Paris: Imprimerie Royale, publiée par ordre du Gouvernement et avec le concours d'une Commission Académique.
- **Nelson, W. a., Farr, T. J. & Broom, J. E. S. (2006).** Phylogenetic Diversity of New Zealand Gelidiales as Revealed by *rbc*L Sequence Data. *J Appl Phycol* **18**, 653–661.
- Newton, L. (1931). A handbook of the British seaweeds. Br Museum (Natural Hist. London.
- **Norris, R. E. (1992).** A proposed phylogenetic scheme for the Gelidiales. *Taxon Econ seaweeds* **3**, 151–172.
- **Nunes, J. M. C. & Guimarães, S. M. P. B. (2008).** Novas referências de rodofíceas marinhas bentônicas para o litoral brasileiro. *Biota Neotrópica* **8**, 89–100.
- **Nylander, J. A. A. (2004).** MrModeltest v2. Program distributed by the author. *Evol Biol Centre, Uppsala Univ* **2**.
- Okamura, K. (1934). On Gelidium and Pterocladia of Japan. Imp Fish Inst 29, 47-67. Tokyo.
- Oliveira, E. C. (1977). Algas marinhas bentônicas do Brasil. Universidade de São Paulo.
- Oliveira, E. C., Horta, P. A., Amância, C. E. & Sant'anna, C. L. (2002). Algas e angiospermas marinhas bênticas do litoral brasileiro: diversidade, explotação e conservação. In *Avaliação e ações prioritárias para a Conservação da biodiversidade das zonas costeiras e marinhas*, p. CD–ROM. Brasília: Ministério do Meio Ambiente.
- Oliveira Filho, E. C. & Ugadim, Y. (1976). A survey of the marine algae of Atol das Rocas (Brazil). *Phycologia* 15, 41–44.
- Oltmanns, F. (1904). Morphologie und Biologie der Algen, Erster Ban. Jena: Verlag von Gustav Fischer.
- **Oltmanns, F. (1922).** *Morphologie und biologie der algen. Zweite, umgearbeitete Auflage*, Zweiter Ba. Jena: Gustav Fischer.
- **Papenfuss, G. F. (1950).** Review of the genera of algae described by Stackhouse. *Hydrobiologia* **2**, 181–208.

- **Papenfuss, G. F. (1966).** A Review of the Present System of Classification of the Florideophycidae. *Phycologia* **5**, 247–255.
- Patwary, M. U., Sensen, C. W., Ron, M. M. & van der Meer, J. P. (1998). Nucleotide sequences of small subunit and internal transcribed spacer regions of nuclear rRNA genes support the autonomy of some genera of the Gelidiales (Rhodophyta). *J Phycol* 305, 299–305.
- Pereira, S. M. B., Oliveira-Carvalho, M. F., Angeiras, J. A. P., Bandeira-Pedrosa, M. E., Oliveira, N. M. B., Torres, J., Gestinari, L. M. S., Cocentino, A. L. M., Santos, M. D. & other authors. (2002).
 Marinhas Bentônicas do Estado de Pernambuco. In *Diagnóstico da Biodoversidade Pernambuco*, Vol. 1., pp. 97–124. Edited by M. Tabarelli & J. M. C. Silva. Recife: Secretaria de Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente.
- **Perrone, C., Felicini, G. P. & Bottalico, A. (2006).** The prostrate system of the Gelidiales: diagnostic and taxonomic importance. *Bot Mar* **49**, 23–33.
- Piccone, A. (1884). Contribuzioni all'algologia Eritrea. Nuovo G Bot Ital 16, 281–332.
- **Piccone, A. (1886).** Alghe del viaggio di circumnavigazione della Vettor Pisani. Genova: Tip. del R. Istituto sordo-muti.
- **Piccone, A. (1889).** *Nuove alghe del viaggio di circumnavigazione della "Vettor Pisani": memoria*. Roma: Reale Accademia dei Lincei.
- **Presting, G. G. (2006).** Identification of conserved regions in the plastid genome: implications for DNA barcoding and biological function. *Can J Bot* **84**, 1434–1443.
- **Pueschel, C. & Cole, K. (1982).** Rhodophycean pit plugs: an ultrastructural survey with taxonomic implications. *Am J Bot* **69**, 703–720.
- Ragan, M. a, Bird, C. J., Rice, E. L., Gutell, R. R., Murphy, C. a & Singh, R. K. (1994). A molecular phylogeny of the marine red algae (Rhodophyta) based on the nuclear small-subunit rRNA gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91, 7276–80.
- Rajakrishna Kumar, G., Reddy, C. R. K., Ganesan, M., Thiruppathi, S., Dipakkore, S., Eswaran, K., Rao, P. V. S. & Jha, B. (2004). Tissue culture and regeneration of thallus from callus of *Gelidiella acerosa* (Gelidiaies, Rhodophyta). *Phycologia* 43, 596–602.
- Rico, J. M., Freshwater, D. W., Norwood, K. G. & Guiry, M. D. (2002). Morphology and systematics of *Gelidiella tenuissima* (Gelidiales, Rhodophyta) from Gran Canaria (Canary Islands, Spain). *Phycologia* 41, 463–469.
- Rodriguez, D. & Santelices, B. (1988). Separation of *Gelidium* and *Pterocladia* on vegetative characters. *Taxon Econ Seaweeds with Ref to ...* 2, 115–125.
- Ronquist, F. & Huelsenbeck, J. P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19, 1572–1574.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F. & Maniatis, T. (1989). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd editio. New York: Cold Spring Harbour Laboratories press.
- Sanger, F. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc.* ... 74, 5463–5467.
- **Santelices, B. (1976).** Taxonomic and nomenclatural notes on some Gelidiales (Rhodophyta). *Phycologia* **15**, 165–173.
- Santelices, B. (1977). A taxonomic review of Hawaiian Gelidiales (Rhodophyta). Pacif 31, 61–84.
- **Santelices, B. (1990).** New and old problems in the taxonomy of the Gelidiales (Rhodophyta). In *Thirteen Int Seaweed Symp SE 18*, Developments in Hydrobiology, pp. 125–135. Edited by S. Lindstrom & P. Gabrielson. Springer Netherlands.
- Santelices, B. (1997). The spermatangial sorus of *Gelidiella acerosa* (Gelidiellaceae, Gelidiales). *Taxon Econ seaweeds with Ref to some Pacific species* 6, 77–87. California Sea Grant College Program La Jolla, CA.
- **Santelices, B. (1998).** Taxonomic review of the species of *Pterocladia* (Gelidiales, Rhodophyta). *J Appl Phycol* **10**, 237–252.
- Santelices, B. (2004). Parviphycus, a new genus in the Gelidiellaceae. Cryptogam Algol 25, 313-326.
- **Santelices**, **B. (2007).** Testing the usefulness of attachment structures in the taxonomy of small-sized gelidioids. *Phycologia* **46**, 293–299.
- Santelices, B. & Flores, V. (2004). Additional observations on spermatangial sori in *Gelidiella acerosa* (Gelidiellaceae, Gelidiales). *Taxon Econ seaweeds with Ref to Pacific other Locat* 9, 109–117. Hawaii Sea Grant College Program Honolulu. HI.
- Santelices, B. & Hommersand, M. H. (1997). *Pterocladiella*, a new genus in the Gelidiaceae (Gelidiales, Rhodophyta). *Phycologia* **36**, 114–119.
- Santelices, B. & Rico, J. M. (2002). Nomenclature and typification of *Gelidiella tenuissima* (Gelidiales, Rhodophyta). *Phycologia* 41, 436–440.
- Santelices, B. & Stewart, J. G. (1985). Pacific species of *Gelidium* Lamouroux and other Gelidiales (Rhodophyta), with keys and descriptions to the common or economically important species. In *Taxon Econ seaweeds with Ref to some Pacific Carinnean species*, pp. 17–31. Edited by I. A. Abbott & J. N. Norris. La Jolla, CA: California Sea Grant College Program, University of California.
- **Saunders, G. W. (2005).** Applying DNA barcoding to red macroalgae: a preliminary appraisal holds promise for future applications. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **360**, 1879–1888.

- **Saunders, G. W. & Bailey, J. C. (1997).** Phylogenesis of pit-plug-associated features in the Rhodophyta: inferences from molecular systematic data. *Can J Bot* **75**, 1436–1447.
- **Saunders, G. W. & McDonald, B. (2010).** DNA barcoding reveals multiple overlooked Australian species of the red algal order Rhodymeniales (Florideophyceae), with resurrection of Halopeltis J. Agardh and description of *Pseudohalopeltis* gen. nov. *Botany* **88**, 639–667.
- Schmidt, O. C. (1924). Meeresalgen der Sammlung von Lützelburg aus Brasilien. Hedwigia 65, 85–100.
- Schmitz, F. (1883). Untersuchungen über die Befruchtung der Florideen.
- **Schmitz**, **F.** (1889). Systematische Übersicht der bisher bekannten Gattungen der Florideen. *Flora oder Allg Bot Zeitung* **72**, 435–456.
- Schmitz, F. & Hauptfleisch, P. (1897). Gelidiaceae. In *Die natürlichen Pflanzenfamilien nebst ihren Gattungen und wichtigeren Arten Insbes den Nutzpflanzen unter Mitwirkung zahlreicher hervorragender Fachgelehrten*, Teil 1., pp. 340–349. Edited by A. Engler & K. Prantl. Leipzig: verlag von Wilhelm Engelmann.
- Schneider, C. W. & Wynne, M. J. (2007). A synoptic review of the classification of red algal genera a half century after Kylin's "Die Gattungen der Rhodophyceen." *Bot Mar* **50**, 197–249.
- **Segi, T. (1963).** The type or authentic specimens of *Gelidium* in Europe. *Rep Fac Fish, Pref Univ Mie* **4**, 509–525.
- **Setchell, W. A. & Gardner, N. L. (1937).** The Templeton Crocker Expedition of the California Academy of Sciences, 1932. No. 31: A preliminary report on the algae. *Proc Calif Acad Sci* **22**, 65–98.
- **Sherwood, A. R. & Presting, G. G. (2007).** Universal primers amplify a 23S rDNA plastid marker in Eukaryotic algae and cyanobacteria. *J Phycol* **43**, 605–608.
- Sherwood, A. R., Vis, M. L., Entwisle, T. J., Necchi Jr, O. & Presting, G. G. (2008). Contrasting intra versus interspecies DNA sequence variation for representatives of the Batrachospermales (Rhodophyta): Insights from a DNA barcoding approach. *Phycol Res* **56**, 269–279.
- Sherwood, A. R., Kurihara, A., Conklin, K. Y., Sauvage, T. & Presting, G. G. (2010). The Hawaiian Rhodophyta Biodiversity Survey (2006-2010): a summary of principal findings. *BMC Plant Biol* 10, 258. BioMed Central Ltd.
- **Shimada, S. & Masuda, M. (1999).** First report of *Gelidiella ligulata* (Gelidiales, Rhodophyta) in Japan. *Phycol Res* **47**, 97–100.
- **Shimada, S. & Masuda, M. (2000).** New records of *Gelidiella pannosa*, *Pterocladiella caerulescens* and *Pterocladiella caloglossoides* (Rhodophyta, Gelidiales) from Japan. *Phycol Res* **48**, 95–102.
- **Shimada, S., Horiguchi, T. & Masuda, M. (1999).** Phylogenetic affinities of genera *Acanthopeltis* and *Yatabella* (Gelidiales, Rhodophyta) inferred from molecular analyses. *Phycologia* **38**, 528–540.
- **Shimada, S., Horiguchi, T. & Masuda, M. (2000).** Two new species of *Gelidium* (Rhodophyta, Gelidiales), *Gelidium tenuifolium* and *Gelidium koshikianum*, from Japan. *Phycol Res* **48**, 37–46.
- Silva, P. C., Basson, P. W. & Moe, R. L. (1996). Catalogue of the benthic marine algae of the Indian Ocean. Berkeley, USA: University of California Press.
- **Sohrabipour, J., Lim, P., Maggs, C. A. & Phang, S.-M. (2013).** Two new species and two new records of *Pterocladiella* (Gelidiales) from Malaysia based on analyses of *rbc*L and *cox*l gene sequences. *Phycologia* **52**, 517–537.
- Sreenivasa Rao, P. (1971). Systematics of Indian Gelidiales. *Phykos* 9, 63–78.
- **Stackhouse, J. (1816).** Nereis britannica Editio altera. Nova addita classificatione cryptogamiarum [sic] respectu generis Fuci. Oxonii [Oxford]: excudebat S. Collingwood.
- Széchy, M. T. M., Amado-Filho, G. M., Cassano, V., De-Paula, J. C., Barros-Barreto, M. B., Marins-Rosa, B. V. & Moreira, F. M. (2005). Levantamento florístico das macroalgas da baía de Sepetiba e adjacências, RJ: ponto de partida para o Programa GloBallast no Brasil. *Acta Bot Bras* 19, 587–596.
- 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. *Mol Biol Evol* 28, 2731–9.
- **Taylor, W. R. (1930).** Algae collected on the Hassler, Albatross and Schmidt Expeditions: I. Marine algae from Brazil. *Am J Bot* **16**, 621–630.
- Taylor, W. R. (1931). A synopsis of the marine algae of Brazil. Rev Algol 5, 279-313.
- Taylor, W. R. (1941). Notes on the marine algae of Texas. Michigan Acad Sci 26, 69-79.
- Taylor, W. R. (1943). Marine algae from Haiti collected by H. H. Bartlett in 1941. Michigan Acad Sci.
- **Taylor, W. R. (1945).** Pacific marine algae of the Allan Hancock Expeditions to the Galapagos Islands. *Univ South Calif Publ Allan Hancock Pacific Exped* **12**, 528.
- **Taylor, W. R. (1960).** *Marine algae of the eastern tropical and subtropical coasts of the Americas.*, University of Michigan studies: Scientific series, Vol. 21. University of Michigan Press.
- **Taylor, W. R. (1969).** Notes on the Distribution of West Indian Marine Algae Particularly in the Lesser Antilles: With a Bibliography of Recent Works on Eastern American Tropical Algae., Contributions from the University of Michigan Herbarium. Univ. Herbarium, University of Michigan.
- **Thomas, D. T. & Freshwater, D. W. (2001).** Studies of costa Rican Gelidiales (Rhodophyta): four Caribbean taxa including *Pterocladiella beachii* sp. nov. *Phycologia* **40**, 340–350.

- **De Toni, G. B. (1897).** Sylloge algarum omnium hucusque cognitarum: Vol. 4, Florideae. Familiae I XI. Typis Seminarii.
- **De Toni, G. B. (1924).** Sylloge algarum omnium hucusque cognitarum: Sylloge florideae. Addimenta. , Sylloge algarum omnium hucusque cognitarum. sumptibus auctoris.
- **Trevisan, V. B. A. (1845).** Nomenclator algarum, ou collection des noms imposées aux plantes de la famille des algues. Padoue [Padua]: Imprimerie du Seminaire.
- **Tronchin, E. M. & Freshwater, D. W. (2007).** Four Gelidiales (Rhodophyta) new to southern Africa, *Aphanta pachyrrhiza* gen. et sp. nov., *Gelidium profundum* sp. nov., *Pterocladiella caerulescens* and *P. psammophila* sp. nov. *Phycologia* **46**, 325–348.
- Tronchin, E. M., Freshwater, D. W., Bolton, J. J. & Anderson, R. J. (2002). A Reassessment and Reclassification of Species in the Genera *Onikusa* Akatsuka and *Suhria* J. Agardh ex Endlicher (Gelidiales, Rhodophyta) Based on Molecular and Morphological Data. *Bot Mar* 45, 548–558.
- **Tronchin, E. M., Freshwater, D. W. & Bolton, J. J. (2003).** A re-evaluation of the genera *Beckerella* and *Ptilophora* (Gelidiales, Rhodophyta) based on molecular and morphological data. *Phycologia* **42**, 80–89.
- **Turner, D. (1811).** Fuci sive plantarum fucorum generi a botanicis ascriptarum icones descriptiones et historia. Fuci, or colored figures and descriptions of the plants referrred by botanists to the genus Fucus, Vol. 3.
- **Turner, D. (1815).** Fuci sive plantarum fucorum generi a botanicis ascriptarum icones descriptiones et historia. Fuci, or coloured figures and descriptions of the plants referrred by botanists to the genus Fucus, Vol. 4. Londini [London]: Typis J. M'Creery, impensis J. et A. Arch.
- **Ugadim, Y. (1970).** Algas Marinhas Bentônicas do Litoral Sul do Estado de São Paulo e do Litoral do estado do Paraná. São Paulo. Universidade de São Paulo.
- **Ugadim, Y. (1974).** Algas Marinhas Bentônicas do Litoral Sul do Estado de São Paulo e do Litoral do estado do Paraná. III Divisão Rhodophyta (1) Goniotricales, Bangiales, Nemaniolales e Gelidiales. *Bol Botânica, Univ São Paulo* **2**, 93–137.
- **Ugadim, Y. (1985).** Estudos taxonômicos de Gelidium e Pterocladia (Gelidiaeae-Nemaliales-Rhodophyta) do Brasil. Universidade de São Paulo.
- **Ugadim, Y. (1987).** Distribuição das espécies de *Gelidium* e *Pterocladia* (Gelidiaceae-Rhodophyta) no litoral brasileiro. *Nerítica* **2**, 65–74.
- **Ugadim, Y. (1988).** Estudo comparado de *Gelidium coarctatum* Küetzing e *Pterocladia capillacea* (Gmelin) Bornet et Thuret (Rhodophyta-Gelidiaceae) no litoral brasileiro. *Gayana Botânica* **45**, 203–223.
- **Umamaheswara Rao, M. (1974).** Observations on Fruiting Cycle, Spore Output and Germination of Tetraspores of *Gelidiella acerosa* in the Gulf of Mannar. *Bot Mar* **17**, 204.
- **Vahl, M. (1802).** Endeel kryptogamiske Planter fra St.-Croix. *Skr af Naturhistorie-Selskabet, Kiøbenhavn* **5**, 29–47.
- Villaça, R., Fonseca, A. C., Jensen, V. K. & Knoppers, B. (2010). Species composition and distribution of macroalgae on Atol das Rocas, Brazil, SW Atlantic. *Bot Mar* 53, 113–122.
- **Weber van Bosse, A. (1904).** Note sur deux algues de l'Archipel Malaisien. *Recl des Trav Bot Néerlandais* **1**, 96–105.
- Weber van Bosse, A. (1921). Liste des algues du Siboga II: Rhodophyceae; Première partie, Protoflorideae, Nemalionales, Cryptonemiales. Siboga-Exprditie, Algae B. Leide: Brill.
- Williams, L. G. & Blomquist, H. L. (1947). A Collection of Marine Algae from Brazil. *Bull Torrey Bot Club* 74, 383–397.
- Wiriyadamrikul, J., Park, J. K., Lewmanomont, K. & Boo, S. M. (2010). Additional records of *Gelidiella fanii* (Gelidiales, Rhodophyta) from the western Pacific based on morphology, *rbc*L and *cox*1 analyses. *Bot Mar* 53, 343–350.
- Womersley, H. B. S. & Bailey, A. (1970). Marine algae of the Solomon Islands. *Philos Trans R Soc ...* 259, 257–352.
- **Wynne, M. J. (2001).** New records of benthic marine algae from the Sultanate of Oman, northern Arabian Sea. II. *Nov Hedwigia* **72**, 347–374.
- **Wynne, M. J. (2010).** The transfer of *Gelidiella trinitatensis* W.R.Taylor (Gelidiales, Rhodophyta) to Parviphycus. *Feddes Repert* **121**, 156–162.
- **Wynne, M. J. (2011).** A checklist of benthic marine algae of the tropical and subtropical Western Atlantic: third revision. Germany: Nova Hedwigia.
- Wynne, M. J. & Freshwater, D. W. (2004). *Gelidium omanense* sp. nov. (Gelidiaceae, Rhodophyta) from the Sultanate of Oman. *Bot Mar* 47, 64–72.
- Wynne, M. J. & Kraft, G. T. (1981). Appendix: Classification summary. In *Biol Seaweeds*, Vol. 17., pp. 743–750. Edited by C. S. Lobban & M. J. Wynne. University of California Press.
- **Yatabe, R. (1892).** Iconographia florae japonicae; or, descriptions with figures of plants indigenous to Japan. Tokyo: Z.P. Maruya & Co.
- Yoneshigue-Braga, Y. (1971). Flora narinha bentônica da Baía de Guanabara e cercanias. III. Rhodophyta. 1. Goniotrichales, Bangiales, Compsopogonales, Nemalionales e Gelidiales. Inst Pesqui da Mar, Flora

marinha bentônica da Baía de Guanabara e Cercanias: Rhodophyta. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas da Marinha.

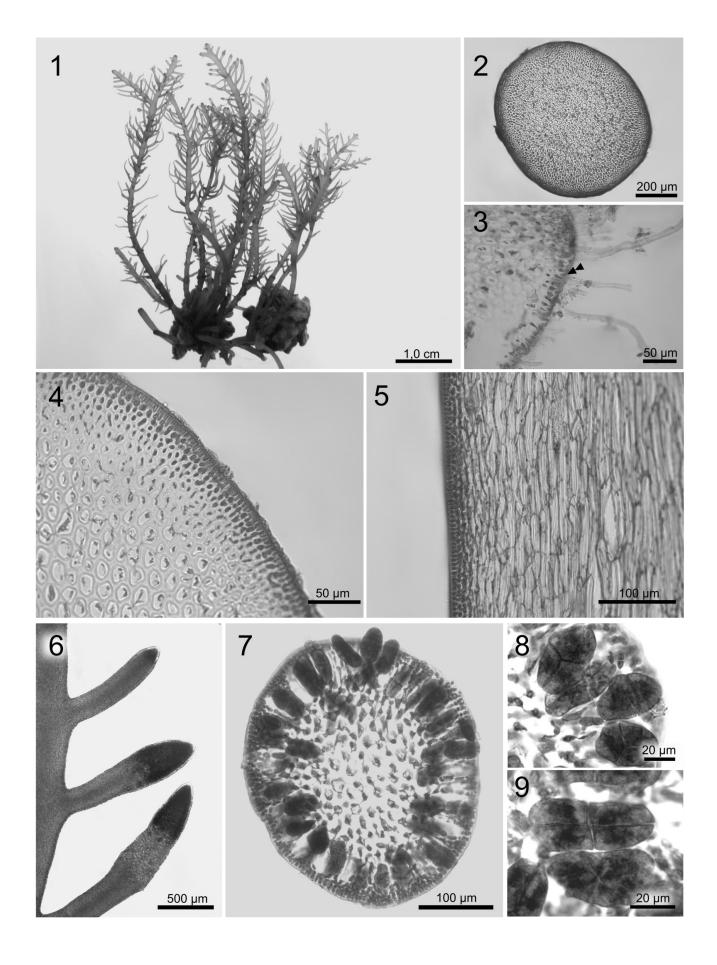


1. Apêndice I - Pranchas

Prancha I

Figs. 1 – 9 - Gelidiella acerosa (Forsskål) Feldmann & Hamel

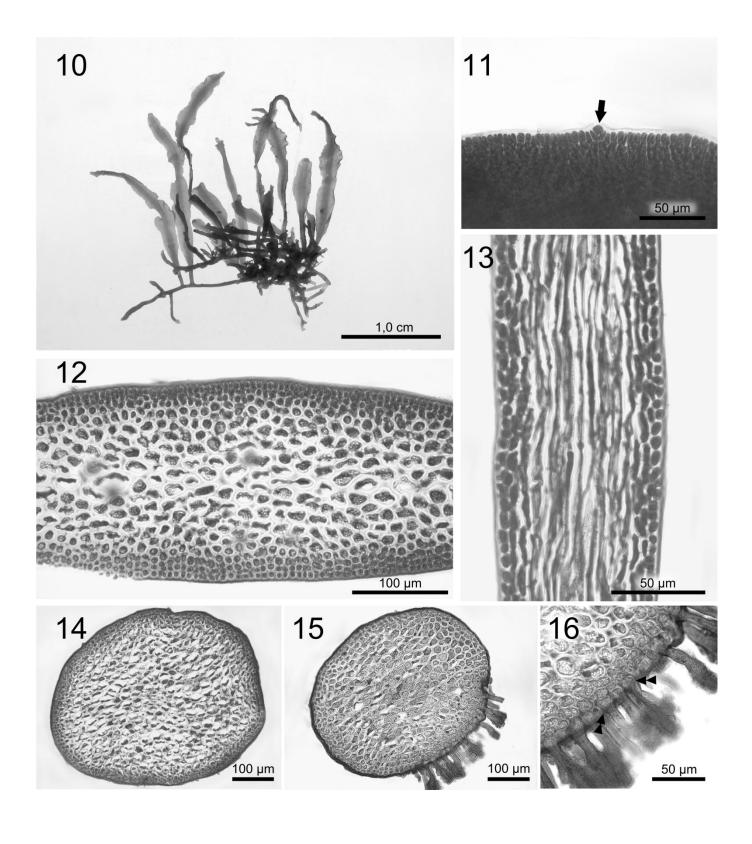
- 1. Hábito do talo (IBC0549).
- 2. Corte transversal do estolão.
- 3. Corte transversal do estolão mostrando o filamento rizoidal originado da célula cortical externa (dupla ponta de seta).
- 4. Corte transversal da região mediana de um ramo ereto.
- 5. Corte longitudinal de um ramo ereto.
- 6. Aspecto geral dos râmulos com soros de tetrasporângio.
- 7. Corte transversal de um ramo tetraspórico mostrando a disposição dos tetrasporângios no soro.
- 8. Corte transversal de um ramo tetraspórico mostrando um tetrasporângio tetraédrico.
- 9. Corte transversal de um ramo tetraspórico mostrando um tetrasporângio cruciado.



Prancha II

Figs. 10 – 16 - Gelidiella ligulata Dawson

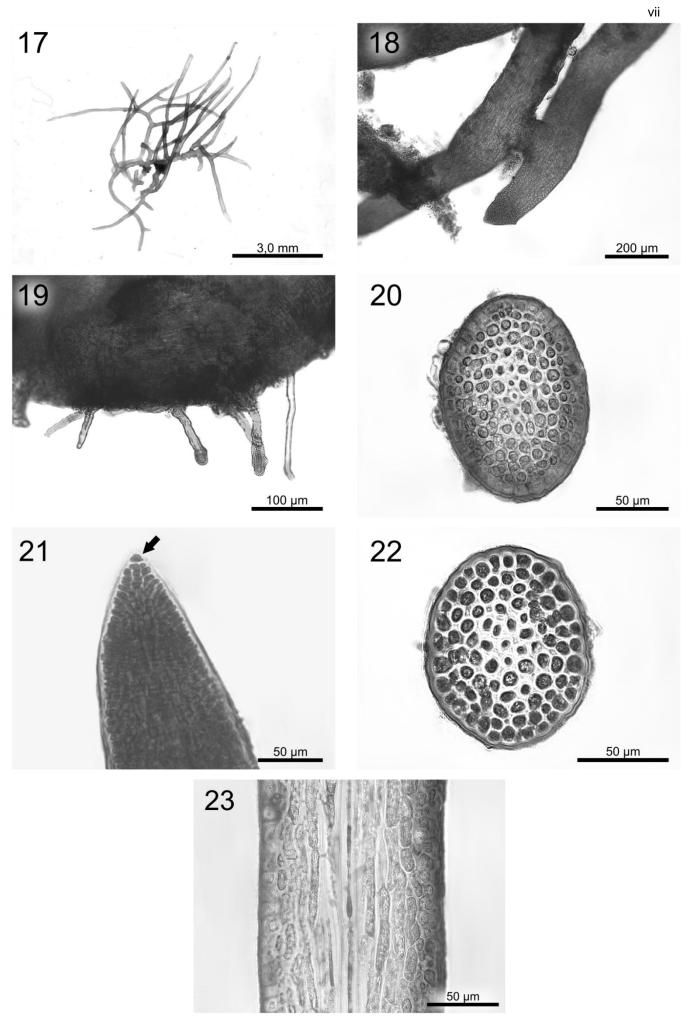
- 10. Hábito do talo (IBC0278).
- 11. Detalhe do ramo mostrando célula apical (seta).
- 12. Corte transversal da região mediana de um ramo ereto.
- 13. Corte longitudinal de um ramo ereto.
- 14. Corte transversal da região basal de um ramo ereto.
- 15. Corte transversal do estolão.
- 16. Detalhe do corte transversal do estolão mostrando filamentos rizoidais originados das células corticais externas (dupla ponta de seta).



Prancha III

Figs. 17 – 23 – Gelidiella sp.

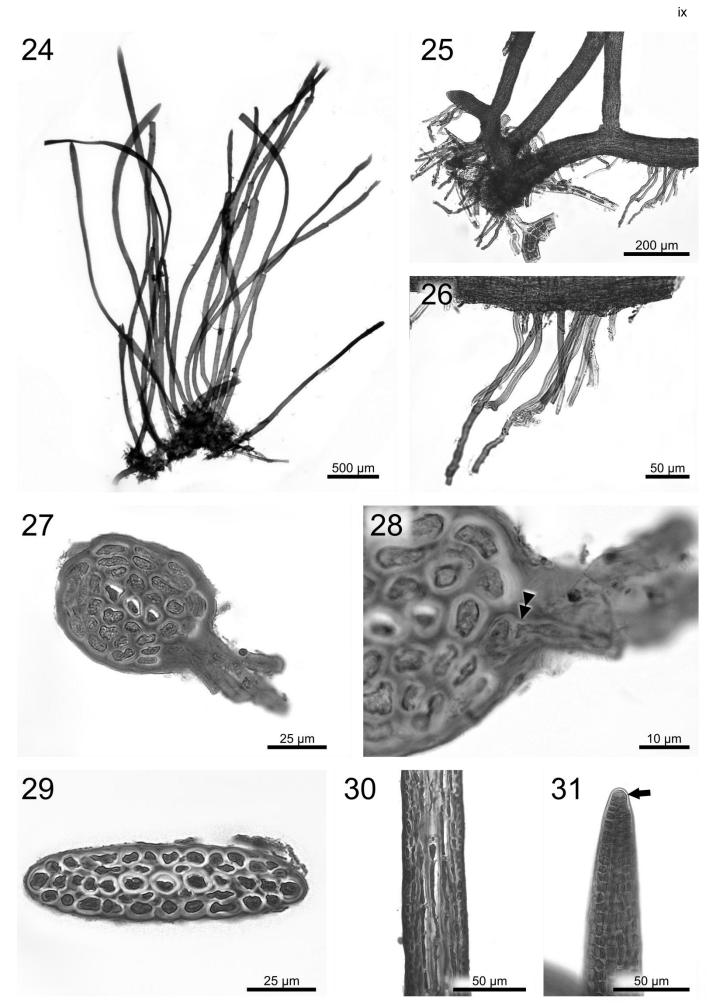
- 17. Hábito do talo (IBC0518).
- 18. Detalhe dos ramos eretos com uma anastomose.
- 19. Detalhe do estolão mostrando filamentos rizoidais.
- 20. Corte transversal do estolão.
- 21. Detalhe de um ramo mostrando célula apical (seta).
- 22. Corte transversal da região mediana de um ramo ereto.
- 23. Corte longitudinal de um ramo ereto.



Prancha IV

Figs. 24 – 31 – Parviphycus sp.

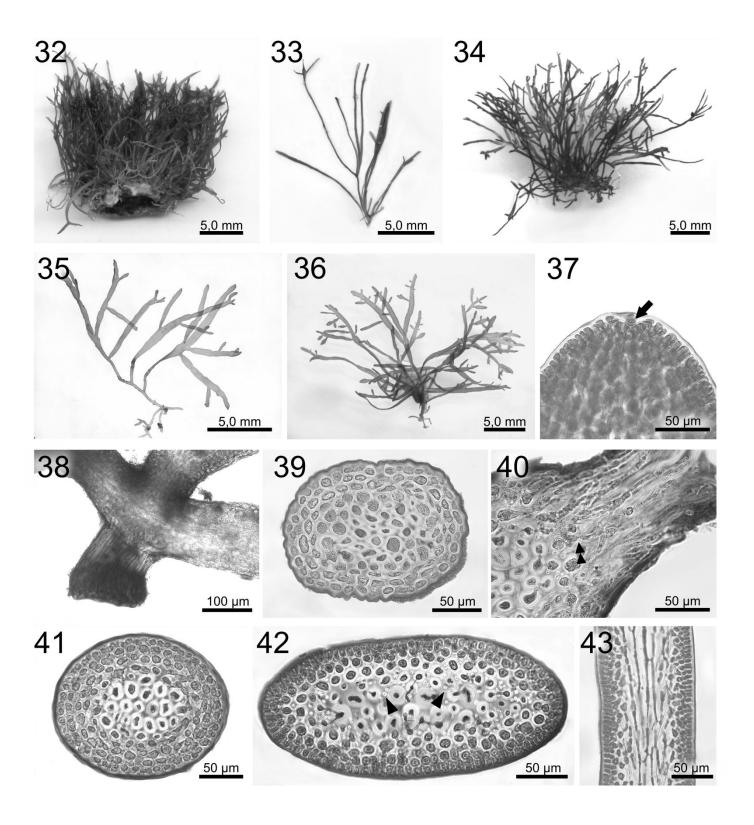
- 24. Hábito do talo (IBT0060).
- 25. Aspecto geral do estolão mostrando filamentos rizoidais.
- 26. Detalhe do estolão mostrando filamentos rizoidais.
- 27. Corte transversal do estolão, mostrando filamentos rizoidais.
- 28. Detalhe do estolão mostrando filamento rizoidal originado da célula cortical externa (dupla ponta de seta).
- 29. Corte transversal da região mediana de um ramo ereto.
- 30. Corte longitudinal de um ramo ereto.
- 31. Detalhe de um ramo mostrando célula apical (seta).



Prancha V

Figs 32-43 – Gelidium crinale (Hare ex Turner) Gaillon. Estruturas vegetativas.

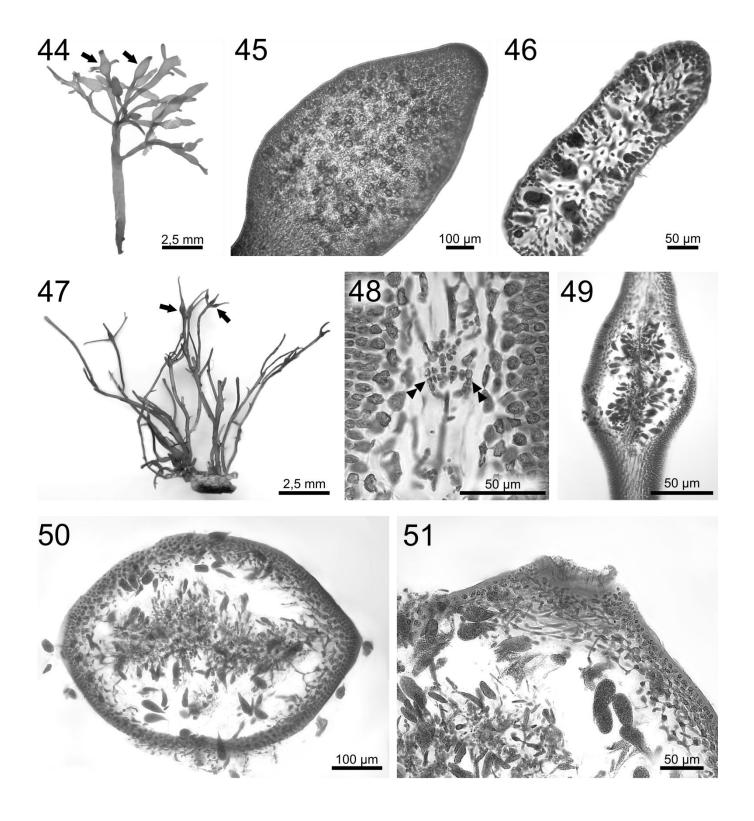
- 32. Hábito do talo formando tufo(IBC0559).
- 33. Detalhe de ramos cilíndricos isolados do tufo (IBC0559).
- 34. Aspecto geral do talo (IBT0250).
- 35. Planta com ramos achatados distalmente (IBT0272).
- 36. Planta com ramificação oposta distalmente (IBT0373).
- 37. Detalhe de um ramo mostrando célula apical (seta).
- 38. Detalhe do estolão mostrando um apressório.
- 39. Corte transversal do estolão.
- 40. Corte transversal do estolão e longitudinal do apressório mostrando filamento rizoidal originado da célula cortical interna (dupla ponta de seta).
- 41. Corte transversal da região basal de um ramo ereto.
- 42. Corte transversal da região mediana de um ramo ereto mostrando os rizines (ponta de seta).
- 43. Corte longitudinal de um ramo ereto, mostrando as células medulares alongadas longitudinalmente.



Prancha VI

Figs 44-51 – Gelidium crinale (Hare ex Turner) Gaillon. Estruturas reprodutivas.

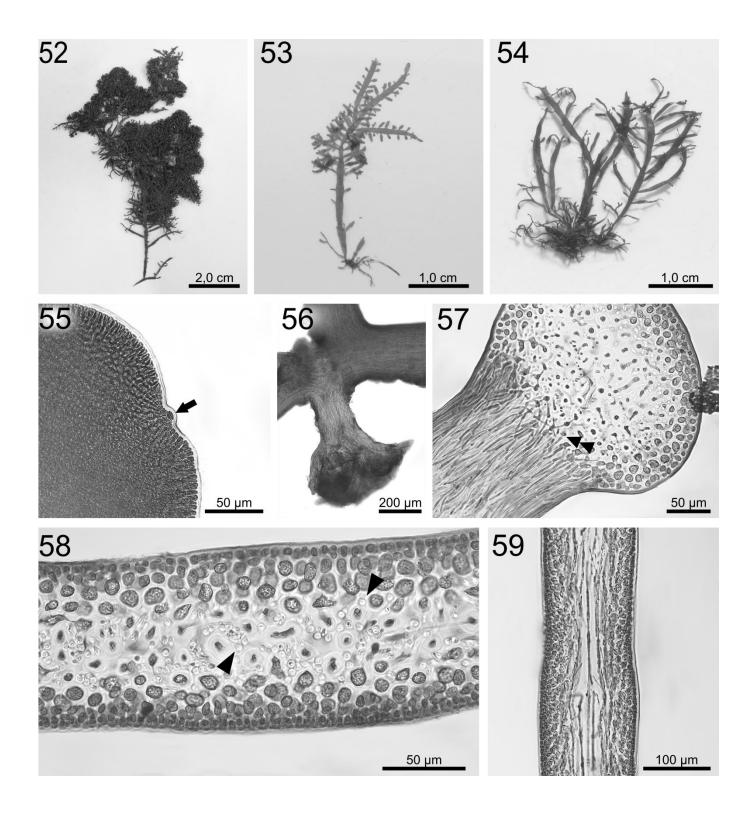
- 44. Ramos com soros de tetrasporângios (setas) (IBT0273).
- 45. Detalhe de um ramo com soro de tetrasporângios.
- 46. Corte transversal de um ramo na região do soro de tetrasporângios.
- 47. Planta feminina com cistocarpos (setas) (IBC0560).
- 48. Corte longitudinal de um ramo feminino jovem mostrando os filamentos nutritivos se desenvolvendo em direção à fileira central de células de segunda ordem (dupla ponta de seta).
- 49. Corte longitudinal do cistocarpo.
- 50. Corte transversal do cistocarpo com dois lóculos.
- 51. Corte transversal do cistocarpo na região do ostíolo.



Prancha VII

Figs.52-59 - Gelidium floridanum Taylor. Estruturas vegetativas.

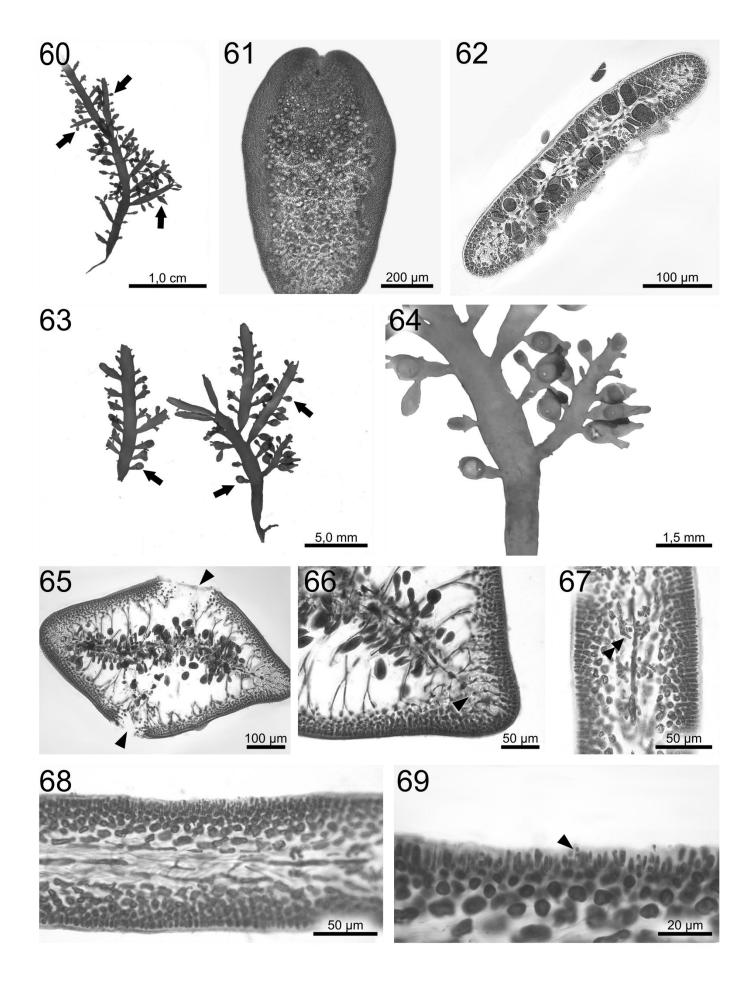
- 52. Hábito do talo formando cachos (IBC0523).
- 53. Detalhe do ramo com ramificação pinada (IBC0271).
- 54. Hábito do talo (IBC0271).
- 55. Detalhe de um ramo mostrando célula apical entre dois lobos (seta).
- 56. Detalhe de um apressório.
- 57. Corte transversal do estolão e longitudinal do apressório mostrando filamento rizoidal originado da célula cortical interna (dupla ponta de seta).
- 58. Corte transversal da região mediana de um ramo ereto mostrando rizines (ponta de seta).
- 59. Corte longitudinal de um ramo ereto. Note as células medulares alongadas longitudinalmente.



Prancha VIII

Figs. 60-69 - Gelidium floridanum Taylor. Estruturas reprodutivas.

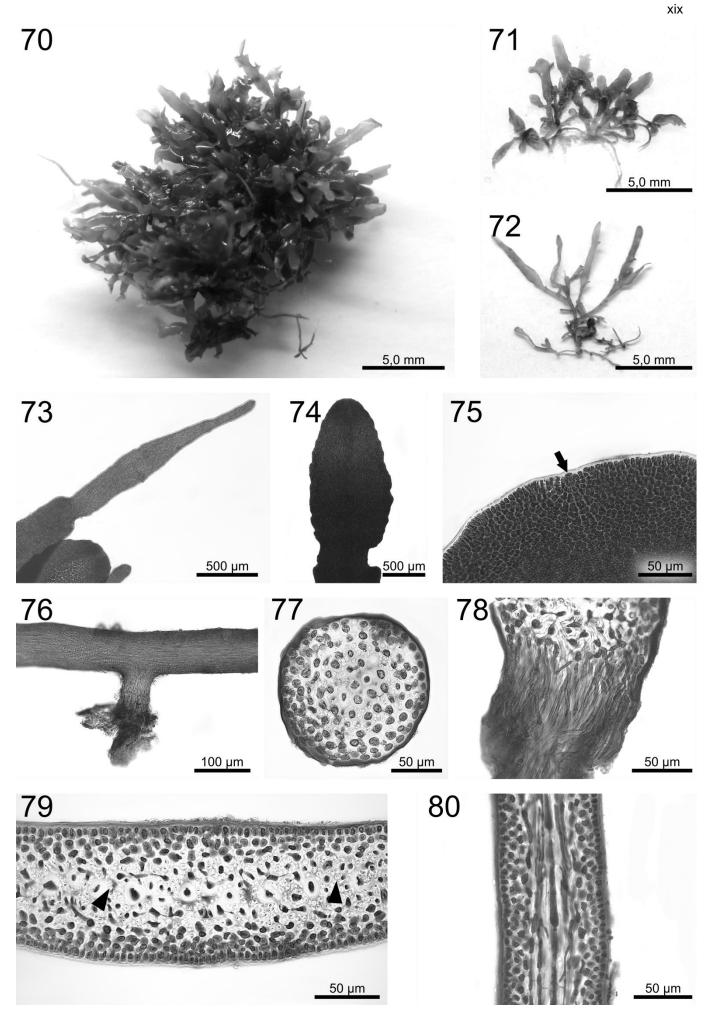
- 60. Ramos com soros de tetrasporângios (setas) (IBC0570).
- 61. Detalhe de um ramo com soro de tetrasporângios.
- 62. Corte transversal de um ramo com tetrasporângios.
- 63. Planta feminina com cistocarpos (setas) (IBC0570).
- 64. Detalhe do ramo com cistocarpos.
- 65. Corte transversal do cistocarpo com dois lóculos. Note a presença de um ostíolo (pontas de seta) em cada lado da fronde.
- 66. Detalhe do corte transversal do cistocarpo mostrando a ala formada pela lâmina com rizines (ponta de seta).
- 67. Corte longitudinal de um ramo jovem mostrando os filamentos nutritivos se desenvolvendo em direção à fileira central de células de segunda ordem (dupla ponta de seta).
- 68. Corte longitudinal de um ramo mostrando espermatângios se desenvolvendo na margem do talo.
- 69. Detalhe mostrando espermatângio dividindo se transversalmente (ponta de seta).



Prancha IX

Figs.70-80 - Gelidium microdonticum Taylor. Estruturas vegetativas.

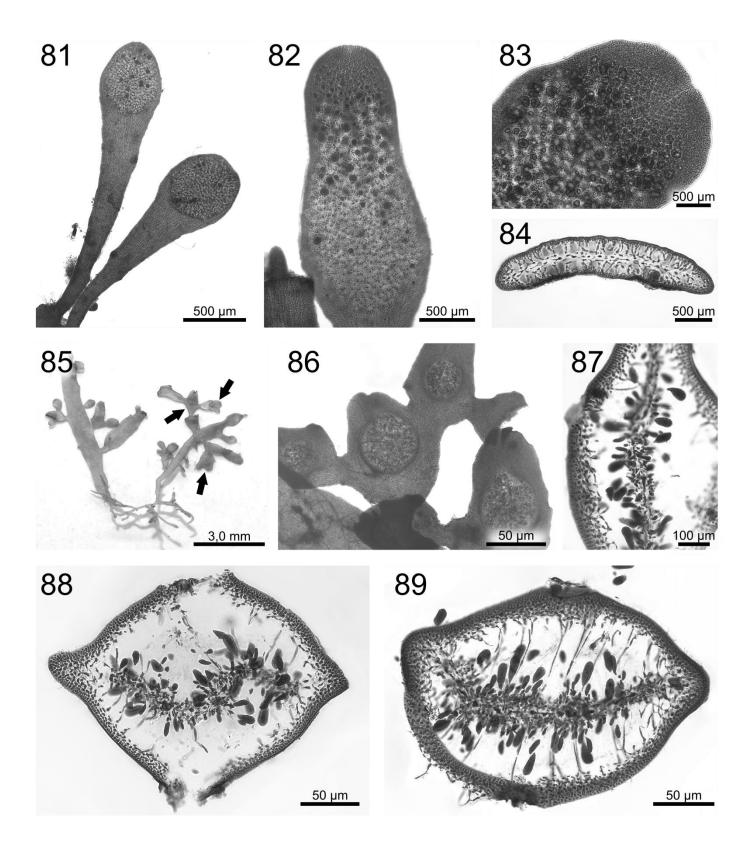
- 70. Hábito do talo formando tufo(BC0573).
- 71. Hábito do ramo (IBC0573).
- 72. Hábito do ramo (IBC0553).
- 73. Detalhe de um ramo mostrando projeção afilada da porção apical.
- 74. Ramo mostrando margens serradas.
- 75. Detalhe de um ramo mostrando célula apical (seta).
- 76. Detalhe do apressório.
- 77. Corte transversal do estolão.
- 78. Corte transversal do estolão e longitudinal do apressório, mostrando a organização dos filamentos rizoidais oriundos das células corticais internas.
- 79. Corte transversal da região mediana de um ramo ereto, apresentando rizines espalhados pela medula (pontas de seta).
- 80. Corte longitudinal de um ramo ereto, mostrando células medulares alongadas.



Prancha X

Figs.81-89 - *Gelidium microdonticum* Taylor. Estruturas reprodutivas.

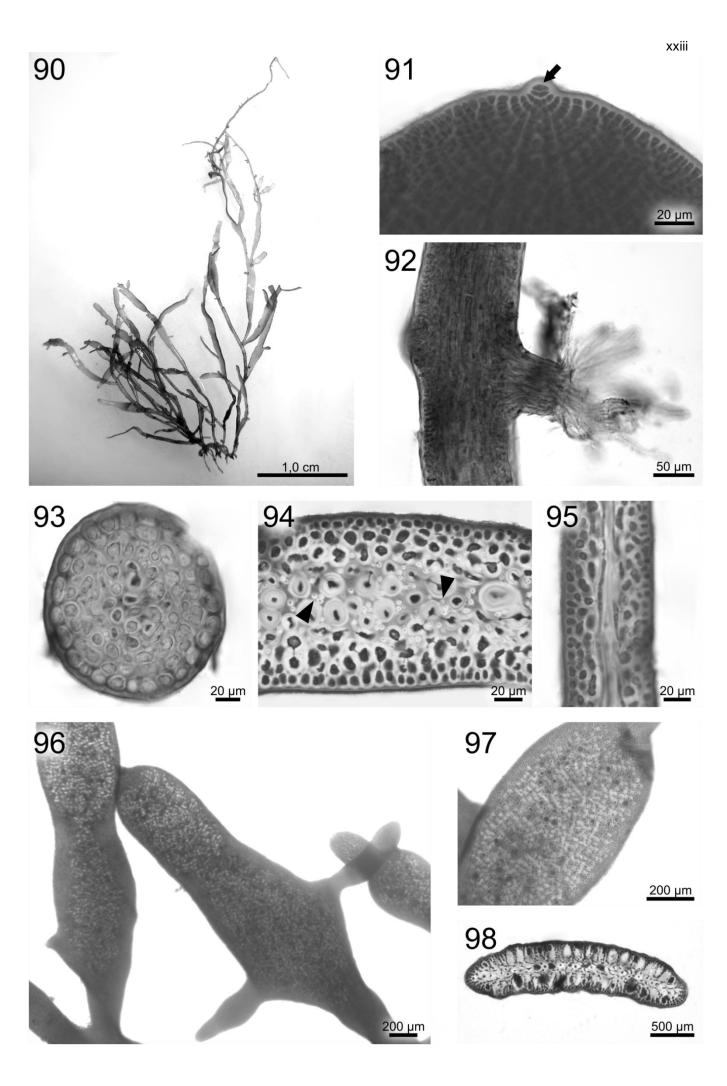
- 81. Ramos com soros de tetrasporângios.
- 82. Ramo com soro de tetrasporângios.
- 83. Detalho do ramo com soro de tetrasporângios.
- 84. Corte transversal do ramo com soros de tetrasporângios. Note que tetrásporos já foram liberados.
- 85. Planta feminina com cistocarpos (seta).
- 86. Detalhe do ramo feminino com cistocarpos.
- 87. Corte longitudinal do cistocarpo.
- 88. Corte tranversal do cistocarpo mostrando dois ostíolos opostos.
- 89. Corte transversal do cistocarpo mostrando filamentos que ligam a placenta ao córtex. Esses filamentos são formados por alongamentos das células corticais internas e células da placenta.



Prancha XI

Figs. 90 - 98 - *Gelidium* sp. 1

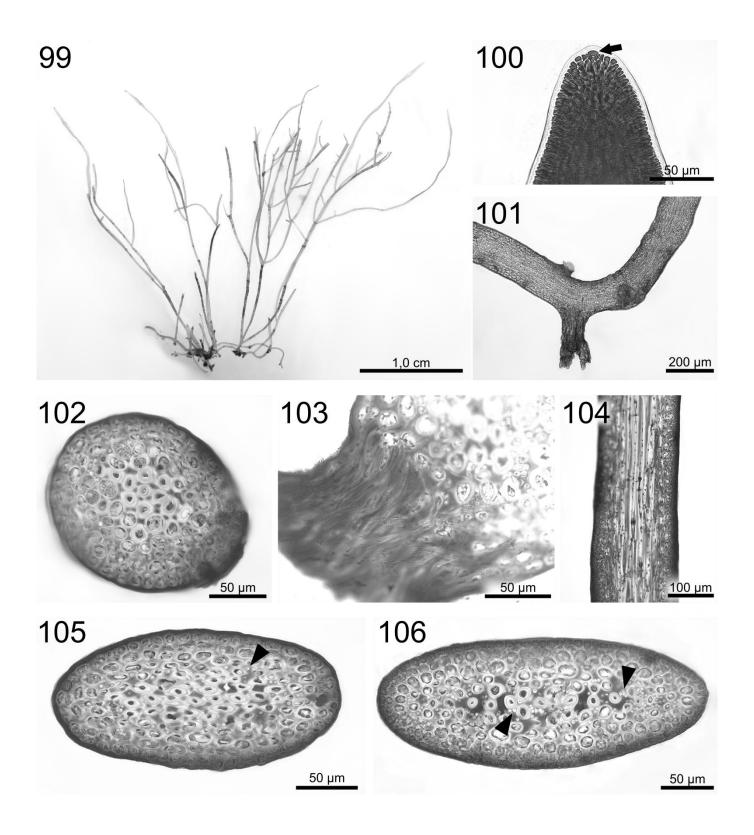
- 90. Hábito do talo (IBT0277).
- 91. Detalhe do ramo mostrando célula apical (seta).
- 92. Detalhe do apressório.
- 93. Corte transversal do estolão.
- 94. Corte transversal da região mediana de um ramo ereto mostrando rizines (ponta de seta).
- 95. Corte longitudinal de um ramo ereto
- 96. Ramos com soros de tetrasporângio.
- 97. Detalhe do ramo com soro de tetrasporângios.
- 98. Corte transversal do ramo tetraspórico.



Prancha XII

Figs. 99 – 106 – *Gelidium* sp. 2

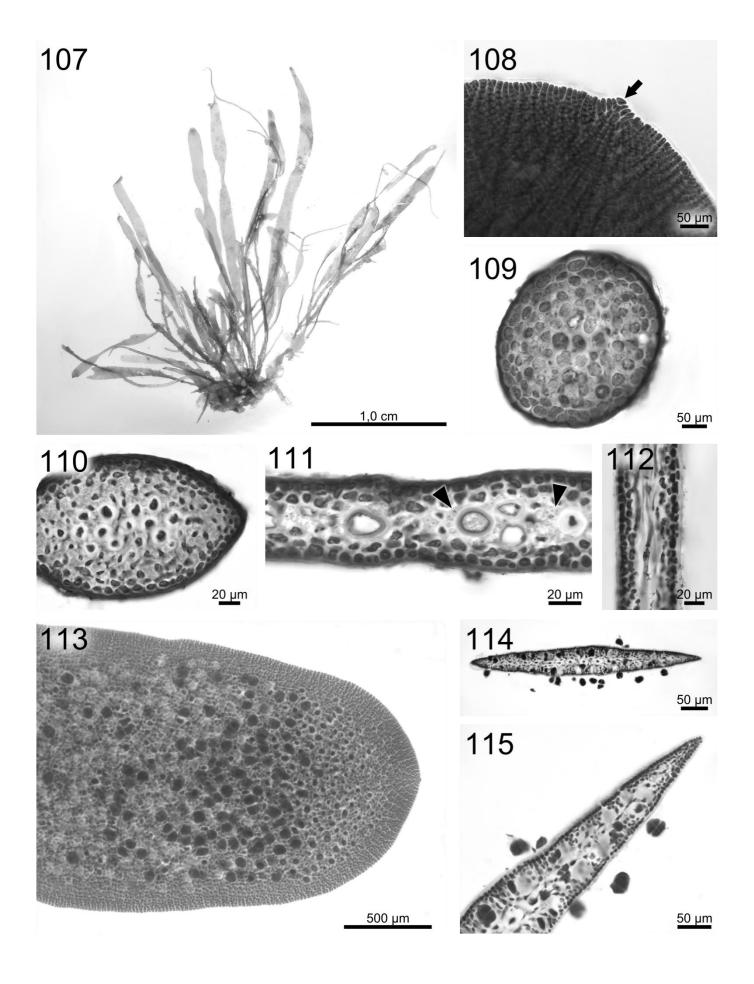
- 99. Hábito do talo (IBT0318).
- 100. Detalhe do ramo mostrando célula apical (seta).
- 101. Detalhe do estolão mostrando apressório.
- 102. Corte transversal do estolão.
- 103. Corte transversal do estolão e longitudinal do apressório, mostrando a organização dos filamentos rizoidais oriundos das células corticais internas.
- 104. Corte longitudinal de um ramo ereto.
- 105. Corte transversal da região basal de um ramo ereto (ponta de seta).
- 106. Corte transversal da região mediana de um ramo ereto, mostrando rizines (pontas de seta).



Prancha XIII

Figs. 107 - 115 - Gelidium sp. 3

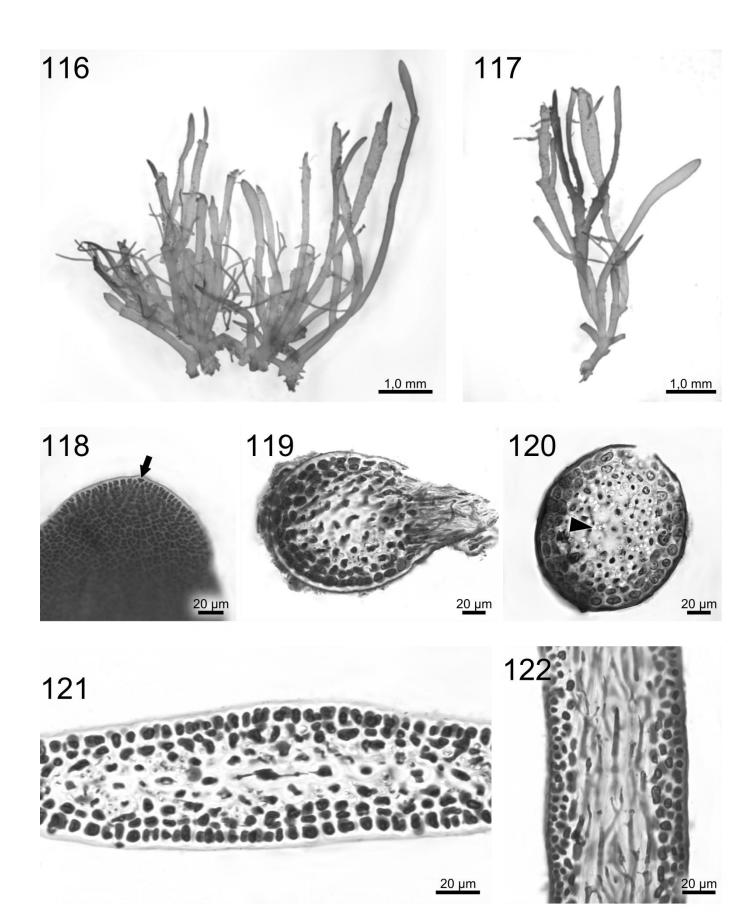
- 107. Hábito do talo (IBC0256).
- 108. Detalhe do ramo mostrando célula apical (seta).
- 109. Corte transversal do estolão.
- 110. Corte transversal da região basal de um ramo ereto.
- 111. Corte transversal da região mediana de um ramo ereto mostrando rizines (pontas de seta).
- 112. Corte longitudinal de um ramo ereto
- 113. Detalhe de um ramo com soro de tetrasporângio.
- 114. Corte transversal de um ramo com soro de tetrasporângios.
- 115. Detalhe do corte transversal do ramo com soro de tetrasporângios mostrando margem estéril afilada.



Prancha XIV

Figs. 116 - 122 - Gelidium sp. 4

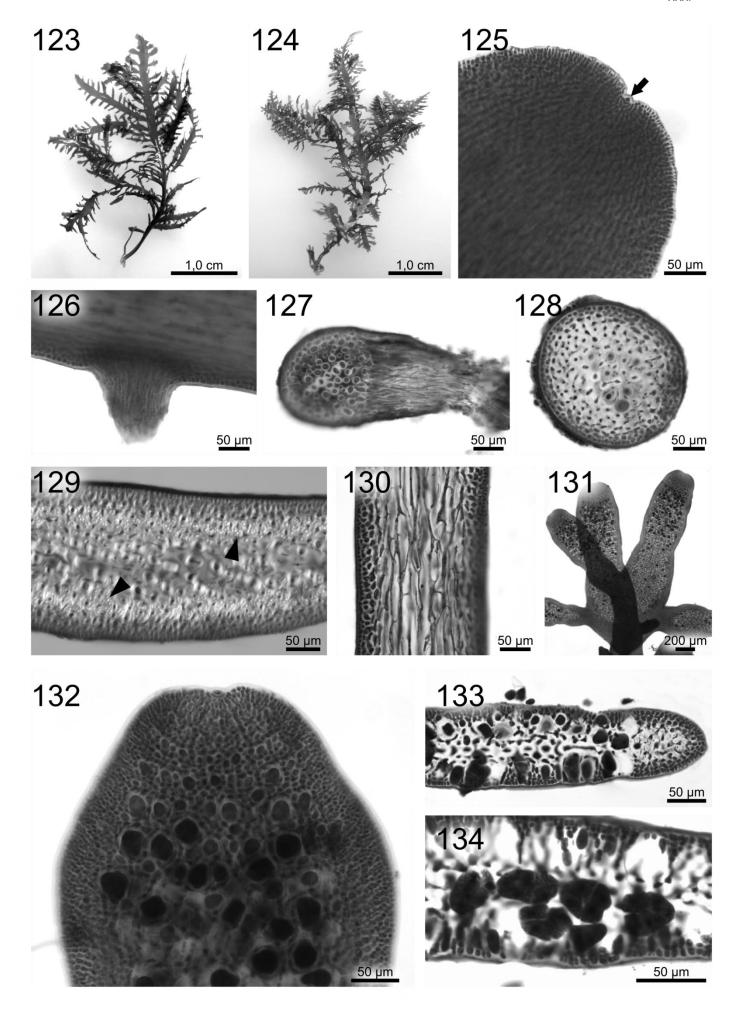
- 116. Hábito do talo (IBT0320).
- 117. Detalhe de um ramo (IBT0320).
- 118. Detalhe de um ramo mostrando célula apical (seta).
- 119. Corte transversal do estolão e longitudinal do apressório, mostrando a organização dos filamentos rizoidais oriundos das células corticais internas.
- 120. Corte transversal da região basal de um ramo ereto mostrando rizines (ponta de seta).
- 121. Corte transversal da região mediana de um ramo ereto.
- 122. Corte longitudinal de um ramo ereto.



Prancha XV

Figs. 123 – 134 – *Gelidium* sp. 5

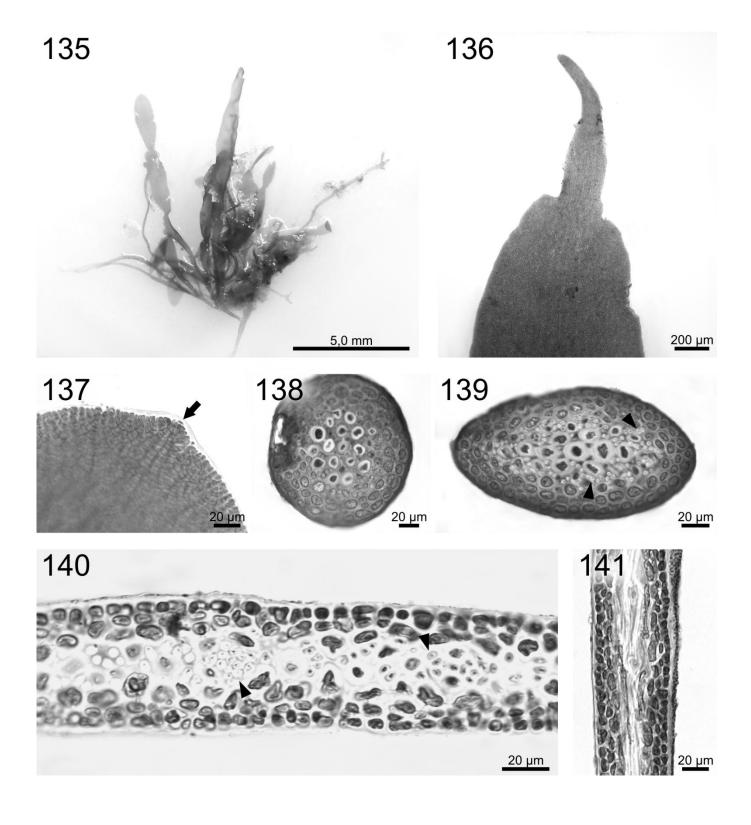
- 123. Hábito do talo (IBC0557).
- 124. Hábito do talo (IBC058).
- 125. Detalhe de um ramo mostrando célula apical entre dois lobos (seta).
- 126. Detalhe do estolão mostrando um apressório jovem.
- 127. Corte transversal do estolão e longitudinal do apressório, mostrando a organização dos filamentos rizoidais oriundos das células corticais internas.
- 128. Corte transversal do estolão.
- 129. Corte transversal da região basal de um ramo ereto mostrando rizines (pontas de seta).
- 130. Corte longitudinal de um ramo ereto.
- 131. Ramos com soros de tetrasporângios.
- 132. Detalhe da região apical do ramo tetraspórico fértil, mostrando a disposição dos tetrasporângios no ramo.
- 133. Corte transversal de um ramo com soro de tetrasporângios.
- 134. Detalhe do corte transversal de um ramo com soro de tetrasporângios mostrando os tetrasporângios.



Prancha XVI

Figs. 135 - 141 - Gelidium sp. 6

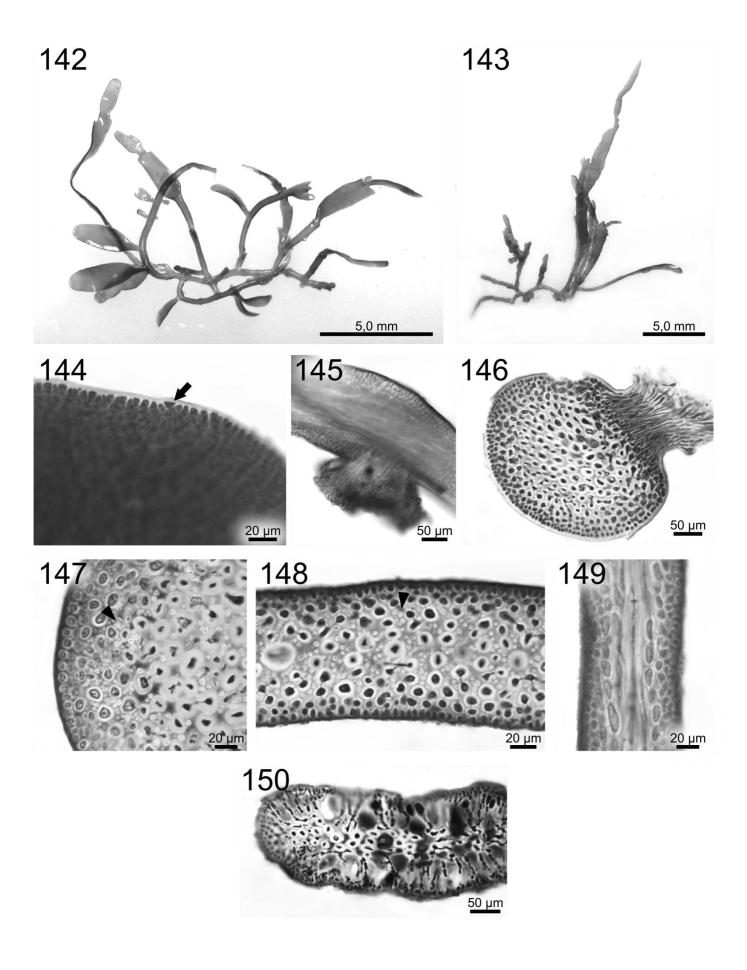
- 135. Hábito do talo (IBC0520).
- 136. Detalhe de um ramo mostrando projeção afilada da porção apical.
- 137. Detalhe de um ramo mostrando célula apical (seta).
- 138. Corte transversal do estolão.
- 139. Corte transversal da região basal de um ramo ereto mostrando rizines (pontas de seta).
- 140. Corte transversal da região mediana de um ramo ereto mostrando rizines (pontas de seta).
- 141. Corte longitudinal de um ramo ereto.



Prancha XVII

Figs. 142 - 150 - Gelidium sp. 7

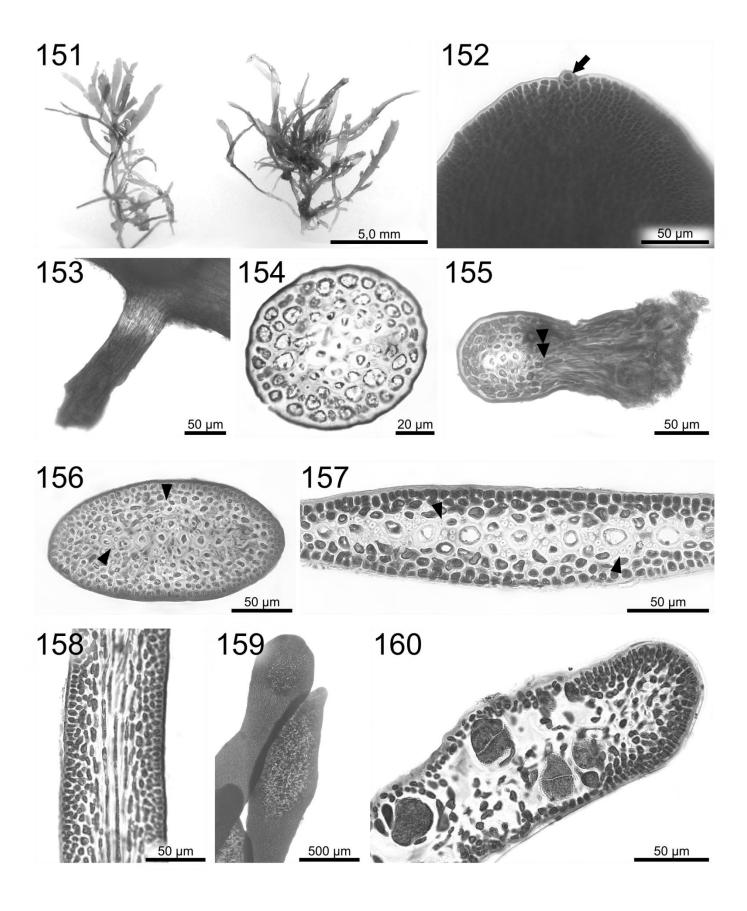
- 142. Hábito do talo (IBC0502).
- 143. Hábito do talo (IBC0534).
- 144. Detalhe de um ramo mostrando célula apical (seta).
- 145. Detalhe do estolão mostrando apressório.
- 146. Corte transversal do estolão e longitudinal do apressório, mostrando a organização dos filamentos rizoidais oriundos das células corticais internas.
- 147. Corte transversal da região basal de um ramo ereto mostrando rizines (ponta de seta).
- 148. Corte transversal da região mediana de um ramo ereto mostrando rizines (ponta de seta).
- 149. Corte longitudinal de um ramo ereto.
- 150. Corte transversal de um ramo com soro de tetrasporângios.



Prancha XVIII

Figs. 151 - 160 - Gelidium sp. 8

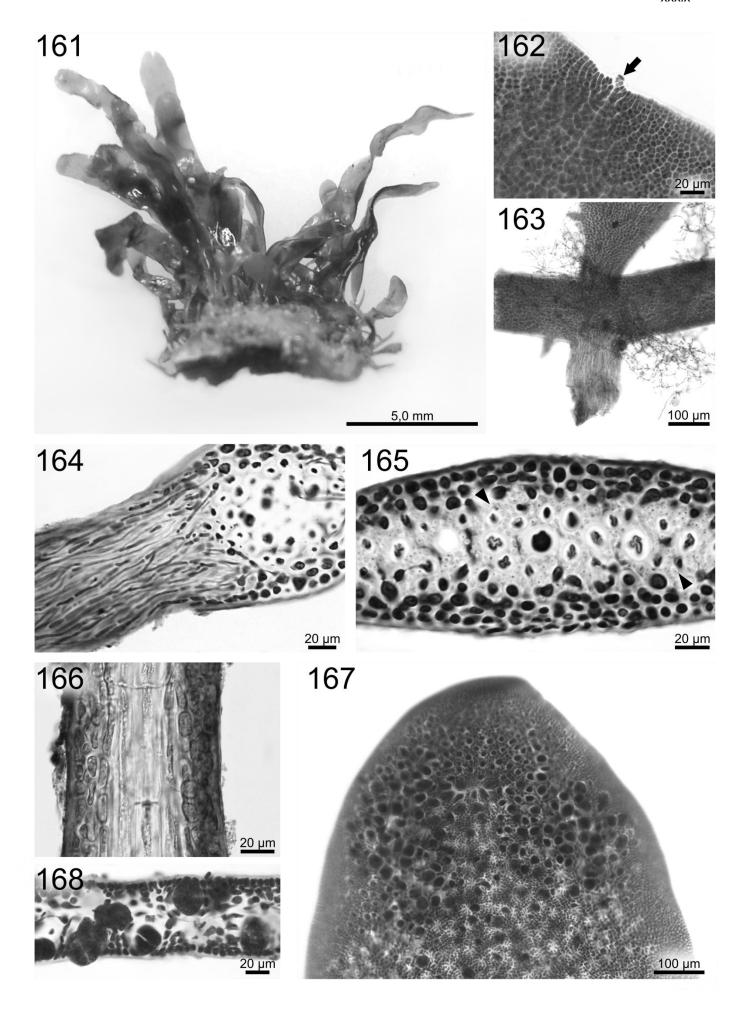
- 151. Hábito do talo (IBC0521).
- 152. Detalhe do ramo mostrando célula apical (seta).
- 153. Detalhe do estolão mostrando apressório.
- 154. Corte transversal do estolão.
- 155. Corte transversal do estolão e longitudinal do apressório, mostrando a organização dos filamentos rizoidais oriundos das células corticais internas (dupla ponta de seta).
- 156. Corte transversal da região basal de um ramo ereto, mostrando rizines (pontas de seta).
- 157. Corte transversal da região mediana de um ramo ereto, mostrando rizines (pontas de seta).
- 158. Corte longitudinal de um ramo ereto.
- 159. Ramos com soros de tetrasporângios.
- 160. Corte transversal de um ramo com soro de tetrasporângio.



Prancha XIX

Figs. 161 – 168 – *Gelidium* sp. 9

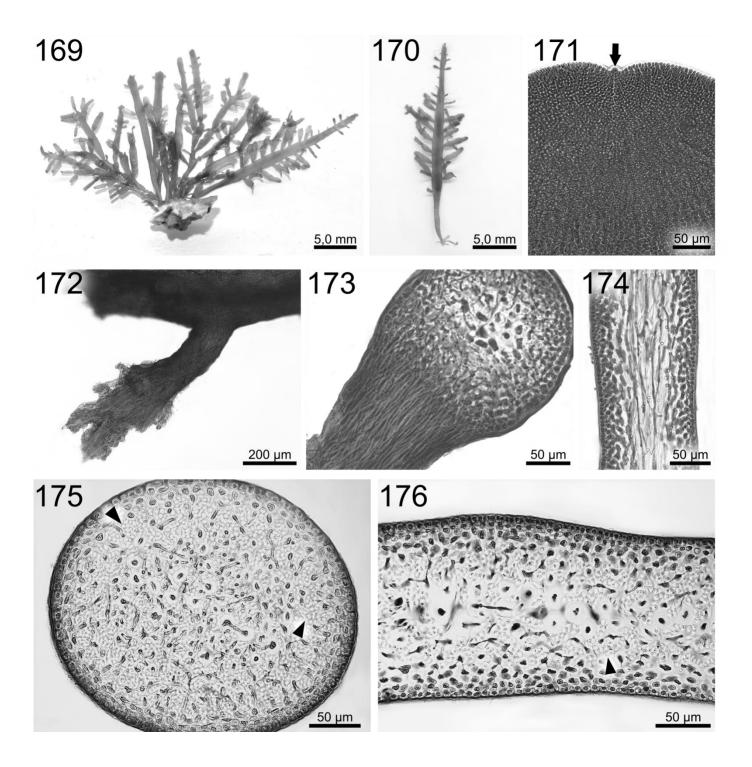
- 161. Hábito do talo (IBC0514).
- 162. Porção apical de um ramo mostrando célula apical (seta).
- 163. Detalhe do estolão mostrando apressório jovem.
- 164. Corte transversal do estolão e longitudinal do apressório, mostrando a organização dos filamentos rizoidais oriundos das células corticais internas.
- 165. Corte transversal da região basal de um ramo ereto mostrando rizines (pontas de seta).
- 166. Corte longitudinal de um ramo ereto.
- 167. Detalhe de um ramo com soro de tetrasporângios.
- 168. Corte transversal de um ramo com soro de tetrasporângios.



Prancha XX

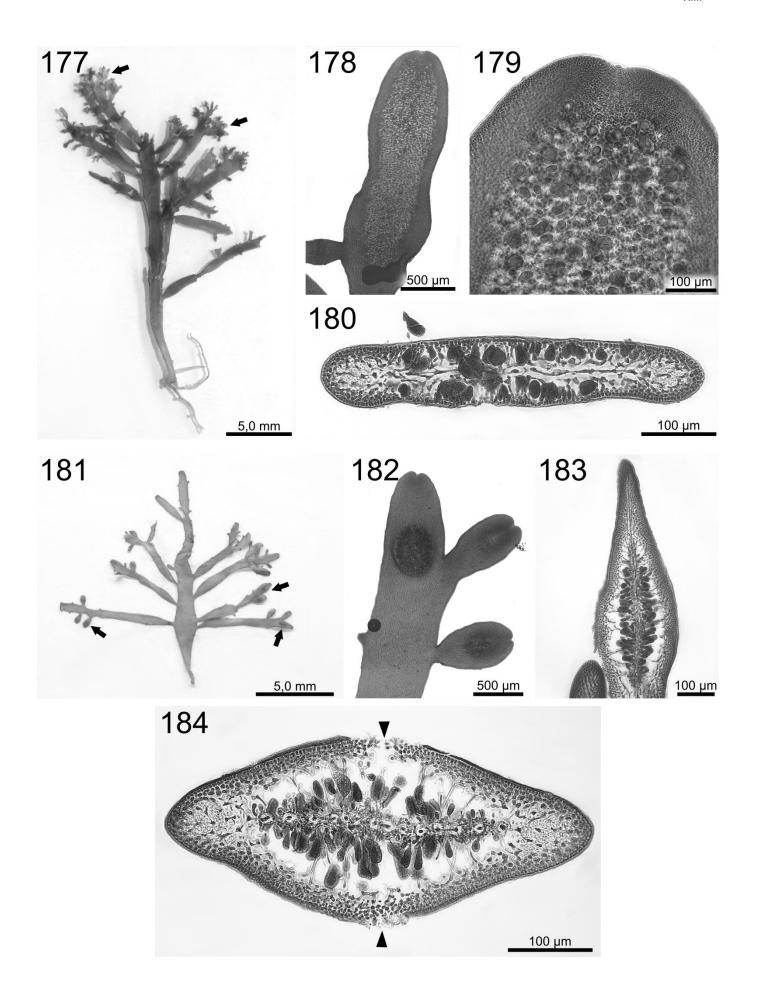
Figs. 169 – 176 – *Gelidium* sp. 10 – Estruturas vegetativas

- 169. Hábito do talo (IBC0569).
- 170. Detalhe de um ramo (IBC0569).
- 171. Detalhe de um ramo mostrando célula apical (seta) entre dois lobos.
- 172. Detalhe do estolão mostrando apressório.
- 173. Corte transversal do estolão e longitudinal do apressório, mostrando a organização dos filamentos rizoidais oriundos das células corticais internas.
- 174. Corte longitudinal de um ramo ereto.
- 175. Corte transversal da região basal de um ramo ereto, mostrando rizines (pontas de seta).
- 176. Corte transversal da região mediana de um ramo ereto, mostrando rizines (ponta de seta).



Prancha XXI

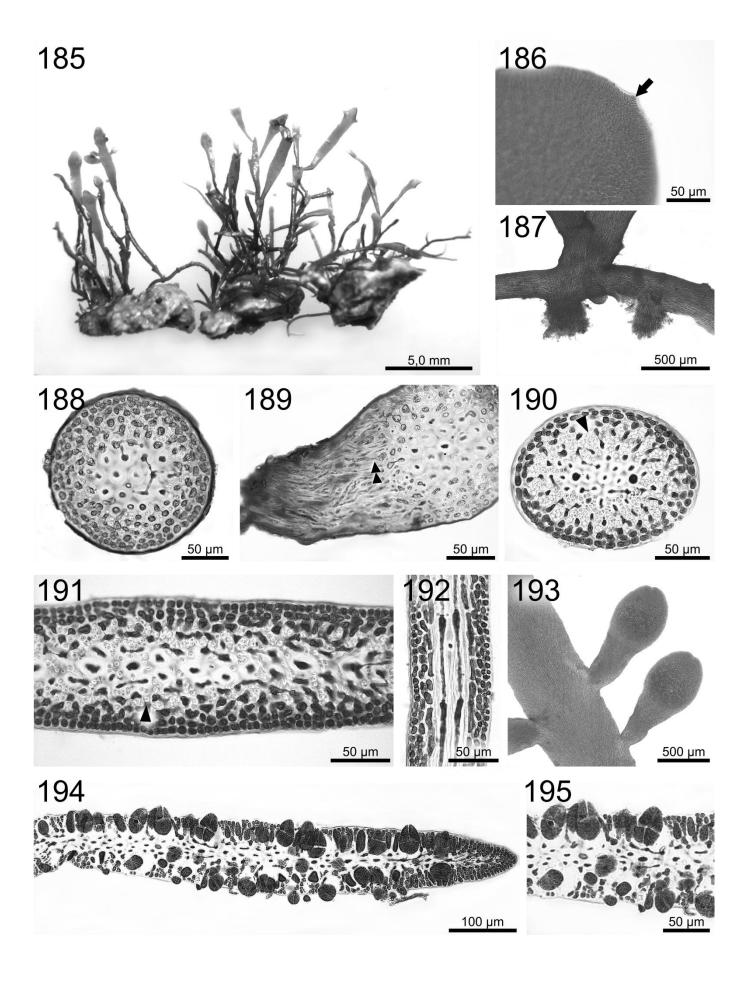
- Figs. 177 184 *Gelidium* sp. 10 Estruturas reprodutivas
 - 177. Ramos com soros de tetrasporângios (setas).
 - 178. Ramo com soro de tetrasporângios.
 - 179. Detalhe de um ramo com soro de tetrasporângios.
 - 180. Corte transversal de um ramo na região do soro de tetrasporângios.
 - 181. Planta feminina com cistocarpos (setas).
 - 182. Detalhe do ramo com cistocarpos.
 - 183. Corte longitudinal de um cistocarpo.
 - 184. Corte transversal de um cistocarpo com dois lóculos, mostrando a região dos ostíolos, sendo um em cada lado da fronde (pontas de seta).



Prancha XXII

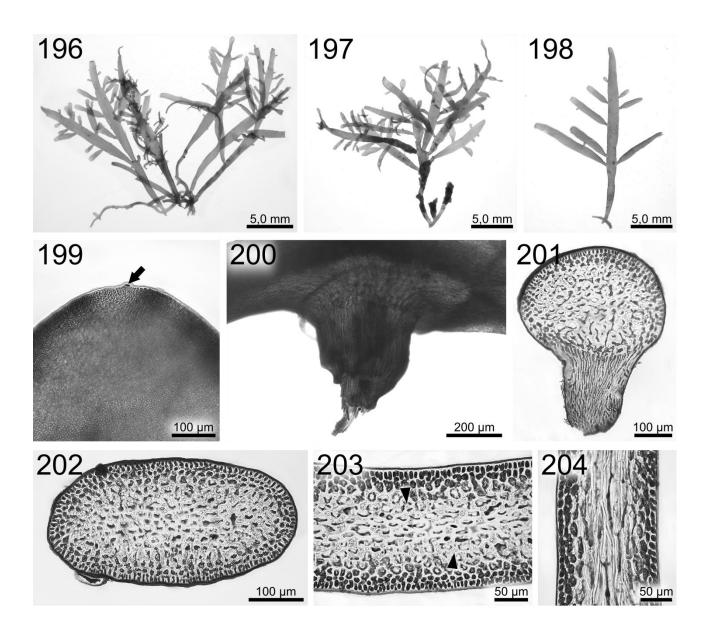
Figs. 185 - 195 - Gelidium sp. 11

- 185. Hábito do talo (IBC0578).
- 186. Detalhe de um ramo mostrando célula apical (seta).
- 187. Detalhe do estolão mostrando apressórios.
- 188. Corte transversal do estolão.
- 189. Corte transversal do estolão e longitudinal do apressório, mostrando a organização dos filamentos rizoidais oriundos das células corticais internas (dupla ponta de seta).
- 190. Corte transversal da região basal de um ramo ereto, mostrando rizines (ponta de seta).
- Corte transversal da região mediana de um ramo ereto, mostrando rizines (ponta de seta)
- 192. Corte longitudinal de um ramo ereto.
- 193. Ramos com soros de tetrasporângios na porção distal.
- 194. Corte transversal do ramo com soro de tetrasporângios.
- 195. Detalhe do corte transversal de um ramo fértil mostrando tetrasporângios tetraédricos.



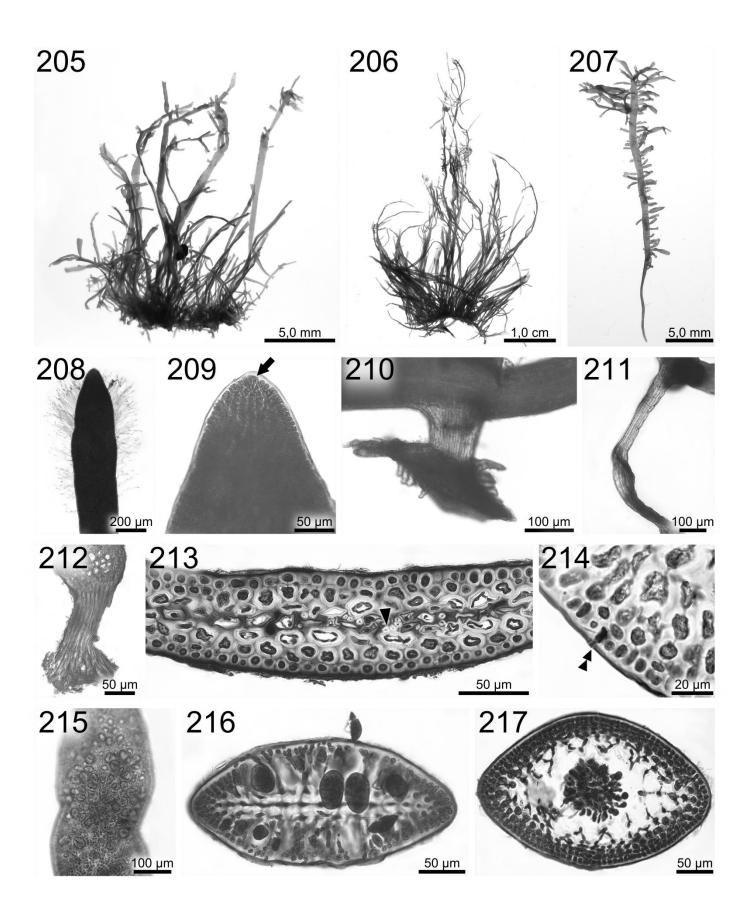
Prancha XXIII

- Figs. 196 204 Pterocladiella australafricanensis Tronchin & Freshwater
 - 196. Hábito do talo (IBC0584).
 - 197. Hábito do talo (IBC0585).
 - 198. Detalhe de um ramo.
 - 199. Porção apical de um ramo mostrando célula apical (seta).
 - 200. Detalhe do estolão, mostrando o apressório.
 - 201. Corte transversal do estolão e longitudinal do apressório, mostrando a organização dos filamentos rizoidais oriundos das células corticais internas.
 - 202. Corte transversal da região basal de um talo ereto, mostrando rizines.
 - 203. Corte transversal da região mediana de um talo ereto, mostrando rizines (ponta de seta).
 - 204. Corte longitudinal de um ramo ereto.



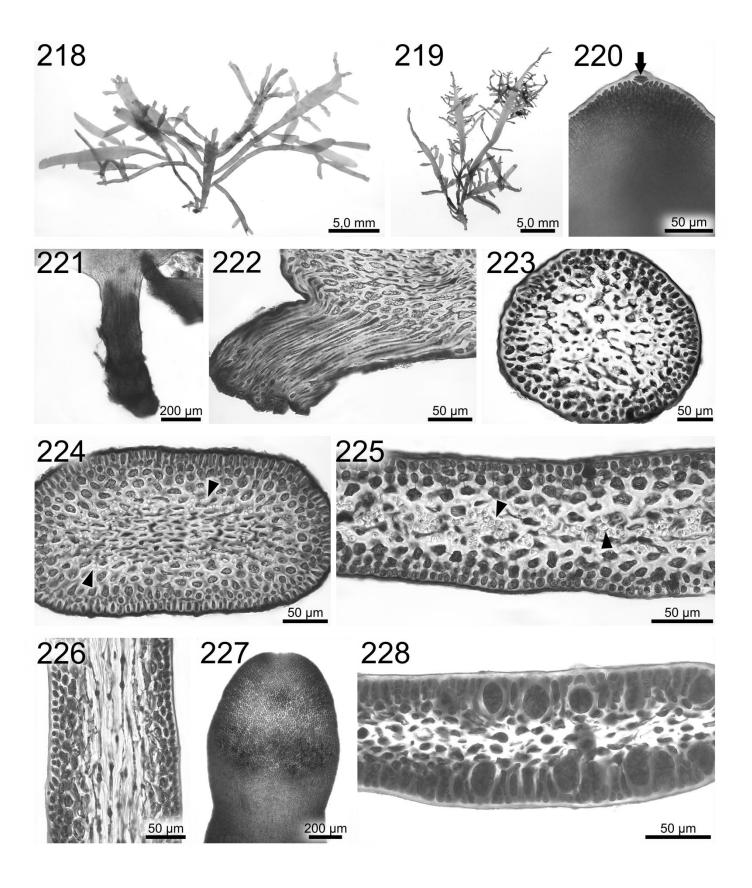
Prancha XXIV

- Figs. 205 217 Pterocladiella bartlettii (W. R. Taylor) Santelices
 - 205. Hábito do talo (IBC0272).
 - 206. Hábito do talo (IBC0533)
 - 207. Detalhe de um ramo mostrando intensa ramificação.
 - 208. Detalhe de um ramo mostrando pelos hialinos.
 - 209. Porção apical de um ramo mostrando célula apical (seta).
 - 210. Detalhe do estolão mostrando apressório que estava fixo ao substrato.
 - 211. Detalhe do estolão mostrando apressório que não se fixou ao substrato.
 - 212. Corte transversal do estolão e longitudinal do apressório, mostrando a organização dos filamentos rizoidais oriundos das células corticais internas.
 - 213. Corte transversal da região mediana de um talo ereto, mostrando rizines (ponta de seta).
 - 214. Corte transversal da região apical de um talo mostrando o ponto da célula cortical externa onde existia um pelo hialino.
 - 215. Ramo com soro de tetrasporângio.
 - 216. Corte transversal de um ramo com soro de tetrasporângios.
 - 217. Corte transversal de um cistocarpo.



Prancha XXV

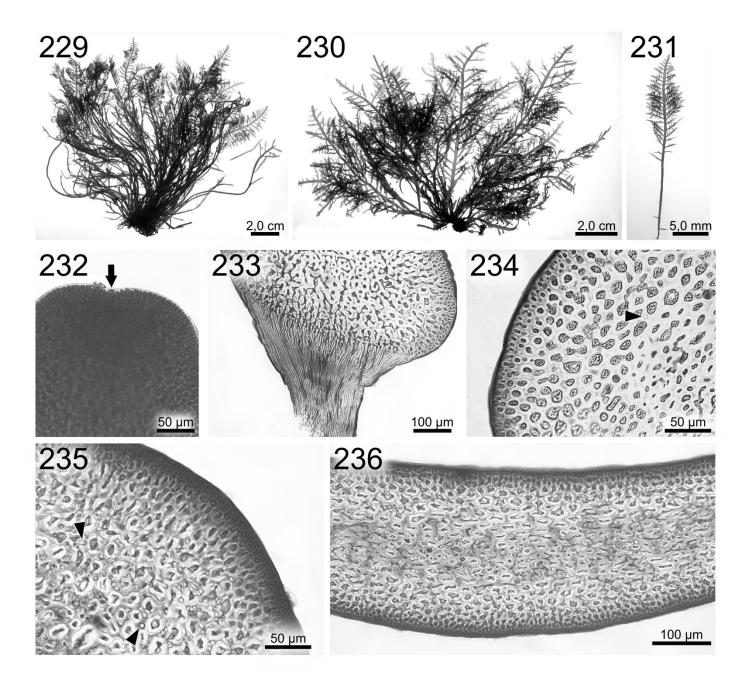
- Figs. 218 228 Pterocladiella beachiae Freshwater
 - 218. Hábito do talo (IBC0556).
 - 219. Hábito do talo (IBC0554).
 - 220. Porção apical de um ramo mostrando célula apical (seta).
 - 221. Detalhe do estolão, mostrando o apressório.
 - 222. Corte transversal do estolão e longitudinal do apressório, mostrando a organização dos filamentos rizoidais oriundos das células corticais internas.
 - 223. Corte transversal do estolão.
 - 224. Corte transversal da região basal de um talo ereto, mostrando rizines (ponta de seta).
 - 225. Corte transversal da região mediana de um talo ereto, mostrando rizines (ponta de seta).
 - 226. Corte longitudinal de um ramo ereto.
 - 227. Ramo com soro de tetrasporângios.
 - 228. Corte transversal do ramo com soro de tetrasporângio.



Prancha XXVI

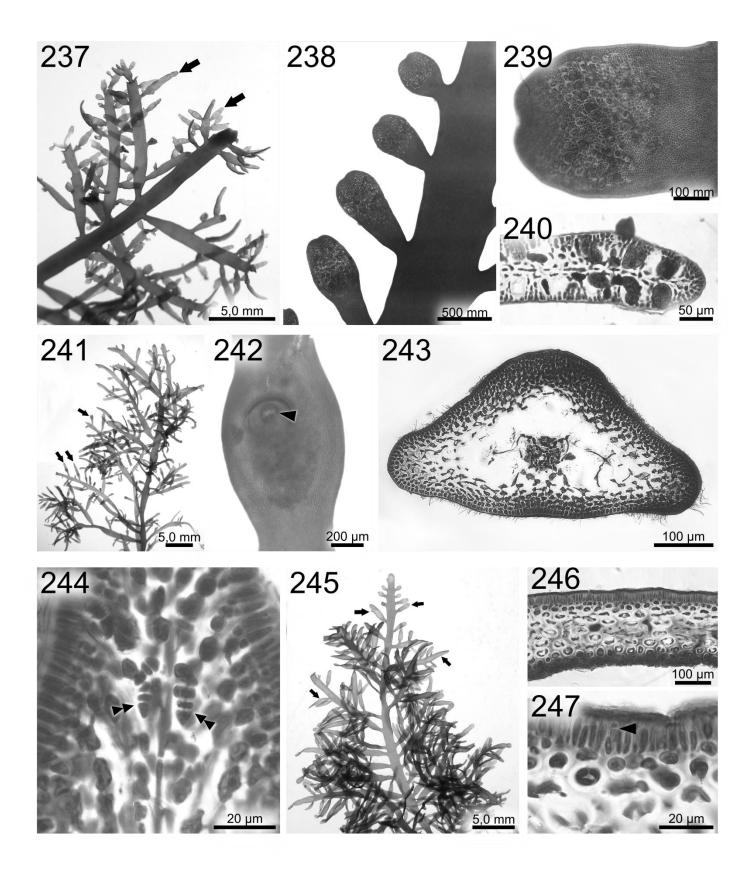
Figs. 229 – 236 – *Pterocladiella capillacea* (S. G. Gmelin) Santelices & Hommersand. Estruturas vegetativas.

- 229. Hábito do talo (IBC0266).
- 230. Hábito do talo (IBC0516).
- 231. Detalhe de um ramo isolado do tufo (IBC0266).
- 232. Porção apical de um ramo mostrando célula apical entre dois lobos (seta).
- 233. Corte transversal do estolão e longitudinal do apressório mostrando a origem dos filamentos rizoidais a partir das células corticais internas.
- 234. Corte transversal do estolão, mostrando rizine (ponta de seta).
- 235. Corte transversal da região basal de um ramo ereto, mostrando rizines (pontas de seta).
- 236. Corte transversal da região mediana de um ramo ereto.



Prancha XXVII

- Figs. 237 247 *Pterocladiella capillacea* (S. G. Gmelin) Santelices & Hommersand. Estruturas reprodutivas.
 - 237. Planta com soros de tetrasporângios (setas) (IBC0563).
 - 238. Ramos com soro de tetrasporângios e sua porção distal.
 - 239. Detalhe de um ramo com soro de tetrasporângios.
 - 240. Corte transversal de um ramo na região do soro de tetrasporângios
 - 241. Planta feminina com cistocarpos (setas) (IBC0562).
 - 242. Detalhe do ramo com cistocarpo. Note um ostíolo.
 - 243. Corte transversal do cistocarpo com um único lóculo.
 - 244. Corte longitudinal de um ramo feminino jovem mostrando os filamentos nutritivos desenvolvendo-se tangencialmente à fileira central de células de segunda ordem (dupla ponta de seta).
 - 245. Planta masculina com espermatângios (setas) (IBC0562).
 - 246. Corte transversal da região com espermatângios.
 - 247. Detalhe do corte transversal da região com espermatângios, mostrando um espermatângio dividindo-se transversalmente (ponta de seta).



Prancha XXVIII

- Figs. 248 261 Pterocladiella sp.
 - 248. Hábito do talo (IBT0260).
 - 249. Hábito do talo (IBC0274).
 - 250. Ápice de um ramo mostrando célula apical (seta).
 - 251. Detalhe do estolão com apressório.
 - 252. Corte transversal do estolão e longitudinal do apressório, mostrando filamentos rizoidais originados da célula cortical interna (dupla cabeça de seta).
 - 253. Corte transversal do estolão.
 - 254. Corte transversal da região basal de um ramo ereto.
 - 255. Corte transversal da região mediana de um ramo ereto.
 - 256. Corte longitudinal de um ramo ereto.
 - 257. Ramo com soro de tetrasporângios.
 - 258. Corte transversal de um ramo com soro de tetrasporângios.
 - 259. Detalhe de um ramo com cistocarpo, mostrando dois ostíolos no mesmo lado da fronde (pontas de seta).
 - 260. Corte longitudinal de um ramo feminino jovem mostrando os filamentos nutritivos desenvolvendo-se tangencialmente à fileira central de células de segunda ordem, formando um "V" (dupla ponta de seta).
 - 261. Corte transversal do cistocarpo.

2. Apêndice II – Tabela de amostras

Tabela 22 - Listagem detalhada das amostras coletadas neste trabalho e indicação dos marcadores moleculares sequenciados por amostra.

Espécie	Voucher de coleta	Voucher herbário	Local, Município, Estado. Coletores. Data	Coordenadas geográficas	UPA	COI-5P	rbcL
Gelidiella acerosa	IBC0549	SPF57705	Praia dos Castelhanos, Ancheita, ES. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 05.V.2012	20°50'04.18"S/40°37'21.57"O	х	х	х
Gelidiella acerosa	IBC0581	SPF57706	Enseada Azul, Meaípe, ES. C. Iha/B. Torrano- Silva/F. Nauer/M. Oliveira. 09.V.2012	20°43'47.63"S/40°31'25.61"O	х	х	х
Gelidiella ligulata	IBC0116	-	Praia do Costa , Ubatuba, SP. E. Oliveira/M. Oliveira. 16.X.2008	23°31'0.37"S/45°09'54.74"O	х	-	-
Gelidiella ligulata	IBC0278	SPF57707	Praia do Éden, Guarujá, SP. C. Iha. 12.IX.2011	23°59'05.10"S/46°11'11.64"O	х	-	-
Gelidiella ligulata	IBC0507	SPF57708	Praia João Fernandinho, Armação de Búzios, RJ. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 26.IX.2011	22°44'20.59"S/41°52'26.27"O	х	-	-
Gelidiella ligulata	IBC0517	SPF57709	Praia do Farol - Ilha do Cabo Frio, Arraial do Cabo, RJ. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 28.IX.2011	23°00'05.63"S/42°00'16.38"O	х	-	-
Gelidiella ligulata	IBC0568	SPF57710	Praia da Cruz, Mataraízes, ES. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer/M. Oliveira. 07.V.2012	21°02'01.68"S/40°48'45.51"O	х	х	-
Gelidiella ligulata	IBT0178	SP428184	Ilha Rapada, Ubatuba, SP. S. Guimarães. 07.V.2009	23°25'34.07"S/44°54'12.83"O	х	х	х
Gelidiella ligulata	IBT0193	SP428187	Ilhota das Couves, Ubatuba, SP. S. Guimarães. 07.V.2009	23°25'09.54"S/44°51'08.39"O	х	х	-
Gelidiella ligulata	IBT0266	SP428211	Praia do Éden, Guarujá, SP. S. Guimarães. 02.XII.2009	23°59'12"S/46° 11' 15"O	х	х	-
Gelidiella sp.	IBC0518	SPF57711	Praia do Farol - Ilha do Cabo Frio, Arraial do Cabo, RJ. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 28.IX.2011	23°00'05.63"S/42°00'16.38"O	х	x	x
Gelidium crinale	IBC0559	SPF57712	Praia Parati, Anchieta, ES. C. Iha/B. Torrano- Silva/F. Nauer. 05.V.2012	20 ⁰ 48'22.34"S/40 ⁰ 36'28.73"O	х	х	-
Gelidium crinale	IBC0560	SPF57713	Praia Parati, Anchieta, ES. C. Iha/B. Torrano- Silva/F. Nauer. 05.V.2012	20°48'22.34"S/40°36'28.73"O	x	х	-
Gelidium crinale Gelidium crinale			Silva/F. Nauer. 05.V.2012 Praia Parati, Anchieta, ES. C. Iha/B. Torrano-				

Tabela 22 –continuação...

Espécie	Voucher de coleta	Voucher herbário	Local, Município, Estado. Coletores. Data	Coordenadas geográficas	UPA	COI-5P	rbcL
Gelidium crinale	IBC0586	SPF57714	Enseada Azul, Meaípe, ES. C. Iha/B. Torrano- Silva/F. Nauer/M. Oliveira. 09.V.2012	20°43'47.63"S/40°31'25.61"O	х	х	-
Gelidium crinale	IBT0109	SP428182	Saco da Ribeira, Ubatuba, SP. M. Fujii/D. Pupo. 09.IV.2009	23°30'02.28"S /45°07'14.44"O	х	х	х
Gelidium crinale	IBT0114	-	Saco da Ribeira, Ubatuba, SP. M. Fujii. 09.IV.2009	23°30'02.28"S/45°07'14.44"O	x	x	-
Gelidium crinale	IBT0194	SP428188	Praia Brava, Ubatuba, SP. S. Guimarães. 08.V.2009	23°22'10.00"S/44°47'50.91"O	х	х	-
Gelidium crinale	IBT0204	SP428189	Praia Brava, Ubatuba, SP. S. Guimarães. 08.V.2009	23°22'10.00"S/44°47'50.91"O	х	х	-
Gelidium crinale	IBT0207	SP428192	Praia Brava, Ubatuba, SP. S. Guimarães. 08.V.2009	23°22'10.00"S/44°47'50.91"O	х	х	-
Gelidium crinale	IBT0233	SP428198	Praia Domingas Dias, Ubatuba, SP. M. Fujii. 04.IX.2009	23°29'45.35"S/45°08'46.83"O	х	х	-
Gelidium crinale	IBT0250	SP428201	Praia do Éden, Guarujá, SP. S. Guimarães. 01.XI.2009	23°59'12"S/46°11'15"O	х	х	-
Gelidium crinale	IBT0251	SP428202	Praia do Éden, Guarujá, SP. S. Guimarães. 01.XI.2009	23°59'12"S/46°11'15"O	х	х	х
Gelidium crinale	IBT0272	SP428213	Praia do Sonho, Itanhaém, SP. N. Yokoya. 20.X.2009	24°11'45.58"S/46°48'04.12"O	х	х	-
Gelidium crinale	IBT0273	SP428214	Praia Cibratel, Itanhaém, SP. N. Yokoya. 20.X.2009	24°13'18.72"S/46°51'05.11"O	х	х	-
Gelidium crinale	IBT0276	-	Praia Rio do fogo, Rio do Fogo, RN. C. Azevedo. 20.VIII.2009	05°16'07.34"S/35°22'57.71"O	х	х	-
Gelidium crinale	IBT0324	-	Picinguaba, Ubatuba, SP. S. Guimarães. 17.III.2010	23°22'44.12"S/44°50'18.42"O	-	х	-
Gelidium crinale	IBT0362	SP428217	Praia Cibratel, Itanhaém, SP. S. Guimarães. 14.V.2010	24°13'18.72"S/46°51'05.11"O	х	х	-
Gelidium crinale	IBT0373	SP428220	Praia Cambriú, Ilha do Cardoso, SP. S. Guimarães. 30.VI.2010	25°09'23.17"S/47°55'0.85"O	х	х	-
Gelidium crinale	IBT0674	SP428226	Manguinhos, Manguinhos, ES. S. Guimarães. 05.X.2010	20°11' 20.78"S/40°11'24.59"O	х	х	-

Tabela 22 –continuação...

Espécie	Voucher de coleta	Voucher herbário	Local, Município, Estado. Coletores. Data	Coordenadas geográficas	UPA	COI-5P	rbcL
Gelidium crinale	IBT0903	-	Praia Pai Vitório, Armação de Búzios, RJ. S. Guimarães. 24.X.2011	-	х	х	-
Gelidium floridanum	IBC0271	SPF57715	Praia Branca, Guarujá, SP. C. Iha. 09.XI.2011	23°52'17.77"S/46°08'13.05"O	Х	Х	-
Gelidium floridanum	IBC0504	SPF57716	Praia do Forno, Armação de Búzios, RJ. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 25.IX.2011	22°45'42.56"S/41°52'29.11"O	x	х	-
Gelidium floridanum	IBC0523	SPF57717	Praia Moçambique, Florianópolis, SC. M. Oliveira/E. Oliveira. 11.X.2011	27°28'51.54"S/48°22'52.80"O	х	-	-
Gelidium floridanum	IBC0570	SPF57718	Praia da Cruz, Mataraízes, ES. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer/M. Oliveira. 07.V.2012	21°02'01.68"S/40°48'45.51"O	x	х	-
Gelidium floridanum	IBT0043	-	Praia Brava, Ubatuba, SP. M. Fujii. 16.VI.2007	23°22'10.00"S/44°47'50.91"O	х	х	х
Gelidium floridanum	IBT0265	SP428210	Praia do Éden, Guarujá, SP. S. Guimarães. 02.XII.2009	23°59'12"S/46°11'15"O	х	х	-
Gelidium floridanum	IBT0271	SP428212	Praia Cibratel, Itanhaém, SP. N. Yokoya. 20.X.2009	24°13'18.72"S/46°51'05.11"O	х	х	х
Gelidium floridanum	IBT0274	SP428215	Praia Cibratel, Itanhaém, SP. N. Yokoya. 20.X.2009	24°13'18.72"S/46°51'05.11"O	х	x	-
Gelidium floridanum	IBT0366	SP428219	Praia Cibratel, Itanhaém, SP. S. Guimarães. 14.V.2010	24°13'18.72"S/46°51'05.11"O	х	х	-
Gelidium floridanum	IBT0677	SP428233	Manguinhos, Manguinhos, ES. S. Guimarães. 05.X.2010	20°11' 20.78"S/40°11'24.59"O	х	х	-
Gelidium floridanum	IBT0678	SP428234	Manguinhos, Manguinhos, ES. S. Guimarães. 05.X.2010	20°11' 20.78"S/40°11'24.59"O	х	х	-
Gelidium microdonticum	IBC0268	SPF57719	Ilha das Cabras, Ubatuba, SP. R. Rocha-Jorge. 29.VIII.2011	23°31'01.41"S/45°02'29.36"O	-	х	-
Gelidium microdonticum	IBC0526	SPF57720	Ponta do Costa - Saco do Mamanguá, Paraty, RJ. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 09.XII.2011	23°15'32.17"S/44°37'16.67"O	х	х	-
Gelidium microdonticum	IBC0530	SPF57721	Laje grande, Paraty, RJ. C. Iha/B. Torrano- Silva/F. Nauer. 09.XII.2011	-	х	x	-
Gelidium microdonticum	IBC0535	SPF57722	Praia Grande da Cajaíba - Pouso da Cajaíba, Paraty,RJ. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 10.XII.2011	23°15'49.31"S/44°35'04.43"O	x	x	-

Tabela 22 –continuação...

Espécie	Voucher de coleta	Voucher herbário	Local, Município, Estado. Coletores. Data	Coordenadas geográficas	UPA	COI-5P	rbcL
Gelidium microdonticum	IBC0553	SPF57723	Praia dos Castelhanos, Ancheita, ES. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 05.V.2012	20°50'04.18"S/40°37'21.57"O	х	х	-
Gelidium microdonticum	IBC0573	SPF57724	Praia de Setiba, Guarapari, ES. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer/M. Oliveira. 08.V.2012	20°38'06.83"S/40°26'13.25"O	х	х	-
Gelidium microdonticum	IBC0575	SPF57725	Praia de Setiba, Guarapari, ES. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer/M. Oliveira. 08.V.2012	20°38'06.83"S/40°26'13.25"O	х	х	-
Gelidium microdonticum	IBT0208	SP428193	Praia Brava, Ubatuba, SP. S. Guimarães. 08.V.2009	23°22'10.00"S/44°47'50.91"O	х	х	-
Gelidium microdonticum	IBT0230	SP428196	Domingas Dias, Ubatuba, SP. M. Fujii. 04.IX.2009	23°29'45.35"S/45°08'46.83"O	х	x	-
Gelidium microdonticum	IBT0239	-	Praia das Cigarras, São Sebastião, SP. M. Fujii. 05.IX.2009	23°43'45.99"S/45°24'12.51"O	x	х	х
Gelidium microdonticum	IBT0264	SP428209	Praia do Éden, Guarujá, SP. S. Guimarães. 02.XII.2009	23°59'12"S/46°11'15"O	х	х	х
Gelidium microdonticum	IBT0365	SP428218	Praia Cibratel, Itanhaém, SP. S. Guimarães. 14.V.2010	24°13'18.72"S/46°51'05.11"O	х	х	-
Gelidium microdonticum	IBT0670	SP428231	Manguinhos, Manguinhos, ES. S. Guimarães. 05.X.2010	20°11' 20.78"S/40°11'24.59"O	х	x	-
Gelidium microdonticum	IBT0675	SP428232	Manguinhos, Manguinhos, ES. S. Guimarães. 05.X.2010	20°11' 20.78"S/40°11'24.59"O	х	х	-
Gelidium microdonticum	IBT0725	-	Praia Geribá, Armação de Búzios, RJ. S. Guimarães. 23.X.2011	22°46'45.20"S/41°54'38.46"O	x	x	-
Gelidium sp. 1	IBT0277	-	Praia Rio do fogo, Rio do Fogo, RN. C. Azevedo. 20.VIII.2009	05°16'07.34"S/35°22'57.71"O	х	х	х
Gelidium sp. 1	IBT0730	-	Praia de Boa Viagem, Recife, PE. S. Guimarães. 25.II.2011	08°08'05.43"S/34°54'02.69"O	x	x	х
Gelidium sp. 2	IBT0318	-	Ilhota das Couves, Ubatuba, SP. S. Guimarães. 18.III.2010	23°25'09.54"S/44°51'08.39"O	х	х	-
Gelidium sp. 2	IBT0681	SP428227	Manguinhos, Manguinhos, ES. S. Guimarães. 05.X.2010	20°11' 20.78"S/40°11'24.59"O	х	x	х
Gelidium sp. 3	IBC0256	SPF57726	Ilha Queimada Grande, Itanhaém, SP. C. Iha. 19.IV.2010	23°59'12"S/46°11'15"O	х	х	х

Tabela 22 –continuação...

Espécie	Voucher de coleta	Voucher herbário	Local, Município, Estado. Coletores. Data	Coordenadas geográficas	UPA	COI-5P	rbcL
Gelidium sp. 3	IBT0325	-	Picinguaba, Ubatuba, SP. S. Guimarães. 17.III.2010	23°22'44.12"S/44°50'18.42"O	х	х	х
Gelidium sp. 4	IBT0320	-	Picinguaba, Ubatuba, SP. S. Guimarães. 17.III.2010	23°22'44.12"S/44°50'18.42"O	х	x	х
Gelidium sp. 5	IBC0557	SPF57727	Praia dos Castelhanos, Ancheita, ES. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 05.V.2012	20°50'04.18"S/40°37'21.57"O	х	х	х
Gelidium sp. 5	IBC0580	SPF57728	Enseada Azul, Meaípe, ES. C. Iha/B. Torrano- Silva/F. Nauer/M. Oliveira. 09.V.2012	20°43'47.63"S/40°31'25.61"O	х	x	-
Gelidium sp. 5	IBC0583	SPF57729	Enseada Azul, Meaípe, ES. C. Iha/B. Torrano- Silva/F. Nauer/M. Oliveira. 09.V.2012	20°43'47.63"S/40°31'25.61"O	х	х	-
Gelidium sp. 5	IBT0275	SP428222	Praia Rio do fogo, Rio do Fogo, RN. C. Azevedo. 20.VIII.2009	05°16'07.34"S/35°22'57.71"O	х	x	х
Gelidium sp. 6	IBC0520	SPF57730	Praia do Forno, Arraial do Cabo, RJ. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 28.IX.2011	22°58'05.66"S/42°00'57.56"O	х	х	х
Gelidium sp. 7	IBC0502	-	Praia do Forno, Armação de Búzios, RJ. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 25.IX.2011	22°45'42.56"S/41°52'29.11"O	х	х	х
Gelidium sp. 7	IBC0515	SPF57731	Praia João Fernandes, Armação de Búzios, RJ. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 27.IX.2011	22°44'27.27"S/41°52'25.81"O	х	-	-
Gelidium sp. 7	IBC0522	SPF57732	Prainha, Arraial do Cabo, RJ. C. Iha/B. Torrano- Silva/F. Nauer. 29.IX.2011	22°57'22.06"S/42°01'36.30"O	х	x	-
Gelidium sp. 7	IBC0534	SPF57733	Praia Grande da Cajaíba - Pouso da Cajaíba, Paraty,RJ. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 10.XII.2011	23°15'49.31"S/44°35'04.43"O	x	х	х
Gelidium sp. 7	IBC0574	SPF57734	Praia de Setiba, Guarapari, ES. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer/M. Oliveira. 08.V.2012	20°38'06.83"S/40°26'13.25"O	х	x	-
Gelidium sp. 8	IBC0521	SPF57735	Praia do Forno, Arraial do Cabo, RJ. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 28.IX.2011	22°58'05.66"S/42°00'57.56"O	х	х	х
Gelidium sp. 9	IBC0514	SPF57736	Praia João Fernandes, Armação de Búzios, RJ. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 27.IX.2011	22°44'27.27"S/41°52'25.81"O	х	x	х
Gelidium sp. 10	IBC0552	SPF57737	Praia dos Castelhanos, Ancheita, ES. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 05.V.2012	20°50'04.18"S/40°37'21.57"O	x	х	х

Tabela 22 –continuação...

Espécie	Voucher de coleta	Voucher herbário	Local, Município, Estado. Coletores. Data	Coordenadas geográficas	UPA	COI-5P	rbcL
Gelidium sp. 10	IBC0555	SPF57738	Praia dos Castelhanos, Ancheita, ES. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 05.V.2012	20°50'04.18"S/40°37'21.57"O	х	х	х
Gelidium sp. 10	IBC0558	SPF57739	Praia Parati, Anchieta, ES. C. Iha/B. Torrano- Silva/F. Nauer. 05.V.2012	20°48'21.04"S/40°36'1.47"O	x	х	-
Gelidium sp. 10	IBC0561	SPF57740	Praia Parati, Anchieta, ES. C. Iha/B. Torrano- Silva/F. Nauer. 05.V.2012	20°48'21.04"S/40°36'1.47"O	х	х	-
Gelidium sp. 10	IBC0566	SPF57741	Praia da Cruz, Mataraízes, ES. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer/M. Oliveira. 07.V.2012	21°02'01.68"S/40°48'45.51"O	х	х	-
Gelidium sp. 10	IBC0567	SPF57742	Praia da Cruz, Mataraízes, ES. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer/M. Oliveira. 07.V.2012	21°02'01.68"S/40°48'45.51"O	x	х	-
Gelidium sp. 10	IBC0569	SPF57743	Praia da Cruz, Mataraízes, ES. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer/M. Oliveira. 07.V.2012	21°02'01.68"S/40°48'45.51"O	x	х	-
Gelidium sp. 10	IBC0576	SPF57744	Praia dos Namorados, Guarapari, ES. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer/M. Oliveira. 08.V.2012	20°40'19.65"S/40°29'47.22"O	x	х	-
Gelidium sp. 10	IBT0680	SP428229	Ubu Costão, Anchieta, ES. S. Guimarães. 06.X.2010	20°48'14.72"S/40°35'13.63"O	x	-	-
Gelidium sp. 11	IBC0551	SPF57745	Praia dos Castelhanos, Ancheita, ES. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 05.V.2012	20°50'04.18"S/40°37'21.57"O	x	х	х
Gelidium sp. 11	IBC0578	SPF57746	Enseada Azul, Meaípe, ES. C. Iha/B. Torrano- Silva/F. Nauer/M. Oliveira. 09.V.2012	20°43'47.63"S/40°31'25.61"O	x	х	-
Parviphycus sp.	IBT0060	SP428178	Ilha Buzios, Ilhabela, SP. M. Fujii. 20.V.2008	23°44'58.09"S/45°15'19.41"O	Х	-	х
Pterocladiella australafricanensis	IBC0584	SPF57771	Enseada Azul, Meaípe, ES. C. Iha/B. Torrano- Silva/F. Nauer/M. Oliveira. 09.V.2012	20°43'47.63"S/40°31'25.61"O	x	х	х
Pterocladiella australafricanensis	IBC0585	SPF57772	Enseada Azul, Meaípe, ES. C. Iha/B. Torrano- Silva/F. Nauer/M. Oliveira. 09.V.2012	20°43'47.63"S/40°31'25.61"O	x	x	-
Pterocladiella bartlettii	IBC0272	SPF57747	Praia Branca, Guarujá, SP. C. Iha. 09.XI.2011	23°52'17.77"S/46°08'13.05"O	х	-	-
Pterocladiella bartlettii	IBC0524	SPF57748	Praia do Carro - Saco do Mamanguá, Paraty, RJ. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 09.XII.2011	23°14'21.95"S/44°37'06.85"O	x	x	-
Pterocladiella bartlettii	IBC0525	SPF57749	Praia do Carro - Saco do Mamanguá, Paraty, RJ. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 09.XII.2011	23°14'21.95"S/44°37'06.85"O	x	х	-

Tabela 22 –continuação...

Espécie	Voucher de coleta	Voucher herbário	Local, Município, Estado. Coletores. Data	Coordenadas geográficas	UPA	COI-5P	rbcL
Pterocladiella bartlettii	IBC0533	SPF57750	Praia Grande da Cajaíba - Pouso da Cajaíba, Paraty,RJ. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 10.XII.2011	23°15'49.31"S/44°35'04.43"O	х	х	-
Pterocladiella bartlettii	IBC0542	SPF57751	Praia do Sambaqui, Florianópolis, SC. B. Torrano-Silva/F. Nauer/C. Azevedo. 25.II.2012	27°29'24.55"S/ 48°32'18.89"O	х	-	-
Pterocladiella bartlettii	IBC0564	SPF57752	Ponta das Arraias ("Praia da Morte"), Marataízes, ES. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer/M. Oliveira. 07.V.2012	21°01'57.43"S/40°48'44.43"O	-	x	-
Pterocladiella bartlettii	IBT0102	SP428180	Saco da Ribeira, Ubatuba, SP. M. Fujii/D. Pupo. 09.IV.2009	23°30'02.28"S/45°07'14.44"O	х	х	-
Pterocladiella bartlettii	IBT0108	SP428181	Saco da Ribeira, Ubatuba, SP. M. Fujii/D. Pupo. 09.IV.2009	23°30'02.28"S/45°07'14.44"O	x	x	-
Pterocladiella bartlettii	IBT0115	-	Saco da Ribeira, Ubatuba, SP. M. Fujii. 09.IV.2009	23°30'02.28"S/45°07'14.44"O	х	x	x
Pterocladiella bartlettii	IBT0192	SP428186	Praia Brava, Ubatuba, SP. S. Guimarães. 08.V.2009	23°22'10.00"S/44°47'50.91"O	х	х	-
Pterocladiella bartlettii	IBT0205	SP428190	Praia Brava, Ubatuba, SP. S. Guimarães. 08.V.2009	23°22'10.00"S/44°47'50.91"O	х	х	-
Pterocladiella bartlettii	IBT0206	SP428191	Praia Brava, Ubatuba, SP. S. Guimarães. 08.V.2009	23°22'10.00"S/44°47'50.91"O	х	х	-
Pterocladiella bartlettii	IBT0209	SP428194	Praia Brava, Ubatuba, SP. S. Guimarães. 08.V.2009	23°22'10.00"S/44°47'50.91"O	х	х	х
Pterocladiella bartlettii	IBT0229	SP428195	Domingas Dias, Ubatuba, SP. M. Fujii. 04.IX.2009	23°29'45.35"S/45°08'46.83"O	х	x	-
Pterocladiella bartlettii	IBT0240	SP428200	Domingas Dias, Ubatuba, SP. M. Fujii. 06.IX.2009	23°29'45.35"S/45°08'46.83"O	х	-	x
Pterocladiella bartlettii	IBT0270	-	Balneario da Praia Grande, São Sebastião, SP. S. Guimarães. 15.X.2009	23°49'23.08"S/45°25'0.07"O	х	-	-
Pterocladiella bartlettii	IBT0278	-	Praia Rio do fogo, Rio do Fogo, RN. C. Azevedo. 20.VIII.2009	05°16'07.34"S/35°22'57.71"O	х	х	-
Pterocladiella bartlettii	IBT0315	SP428216	Domingas Dias, Ubatuba, SP. S. Guimarães. 16.III.2010	23°29'45.35"S/45°08'46.83"O	x	x	-

Tabela 22 -continuação...

Espécie	Voucher de coleta	Voucher herbário	Local, Município, Estado. Coletores. Data	Coordenadas geográficas	UPA	COI-5P	rbcL
Pterocladiella bartlettii	IBT0669	SP428224	Manguinhos, Manguinhos, ES. S. Guimarães. 05.X.2010	20°11' 20.78"S/40°11'24.59"O	х	-	-
Pterocladiella bartlettii	IBT0671	SP428230	Manguinhos, Manguinhos, ES. S. Guimarães. 05.X.2010	20°11' 20.78"S/40°11'24.59"O	х	-	-
Pterocladiella bartlettii	IBT0673	SP428221	Manguinhos, Manguinhos, ES. S. Guimarães. 05.X.2010	20°11' 20.78"S/40°11'24.59"O	х	-	-
Pterocladiella bartlettii	IBT0698	-	Praia do Sonho, Itanhaém, SP. S. Guimarães. 05.XI.2010	24°11'45.58"S/46°48'04.12"O	х	х	-
Pterocladiella bartlettii	IBT0732	-	Praia de Boa Viagem, Recife, PE. S. Guimarães. 25.II.2011	08°08'05.43"S/34°54'02.69"O	х	x	-
Pterocladiella bartlettii	IBT0993	-	Praia da ponta da Baleia, Serra, ES. Levi. 18.I.2012	20°10'12.93"S/40°11'6.02"O	х	x	-
Pterocladiella beachiae	IBC0528	SPF57753	Ponta do Costa - Saco do Mamanguá, Paraty, RJ. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 09.XII.2011	23°15'32.17"S/44°37'16.67"O	х	х	х
Pterocladiella beachiae	IBC0554	SPF57754	Praia dos Castelhanos, Ancheita, ES. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 05.V.2012	20°50'04.18"S/40°37'21.57"O	х	х	-
Pterocladiella beachiae	IBC0556	SPF57755	Praia dos Castelhanos, Ancheita, ES. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 05.V.2012	20°50'04.18"S/40°37'21.57"O	х	х	-
Pterocladiella beachiae	IBT0185	SP428185	Ilha Rapada, Ubatuba, SP. S. Guimarães. 08.V.2009	23°25'34.07"S/44°54'12.83"O	х	х	х
Pterocladiella beachiae	IBT0321	SP428225	Picinguaba, Ubatuba, SP. S. Guimarães. 17.III.2010	23°22'44.12"S/44°50'18.42"O	х	х	-
Pterocladiella capillacea	IBC0006	-	Lage de Santos, Santos, SP. E. Oliveira. 18.VIII.2008	24°19'07.71"S/46°10'54.91"O	х	х	-
Pterocladiella capillacea	IBC0033	-	Praia Vermelha do Sul, Ubatuba, SP. E. Oliveira. 13.X.2008	23°30'44.55"S/45°10'19.24"O	x	х	-
Pterocladiella capillacea	IBC0120	-	Ilha Vitória, Ubatuba, SP. M. Oliveira. 30.X.2008	23°44'53.13"S/45°01'07.51"O	х	Х	-
Pterocladiella capillacea	IBC0147	-	Praia das Cigarras, São Sebastião, SP. M. Oliveira. 08.V.2009	23°43'55.53"S/45°23'54.30"O	х	х	-
Pterocladiella capillacea	IBC0266	SPF57756	Ilha de Palmas, Ubatuba, SP. C. Iha/B. Torrano- Silva/A. Medeiros. 29.VIII.2011	23°32'50.00"S/45°01'50.19"O	х	х	-
Pterocladiella capillacea	IBC0267	SPF57757	Ilha das Cabras, Ubatuba, SP. C. Iha/B. Torrano- Silva/A. Medeiros. 29.VIII.2011	23°31'01.41"S/45°02'29.36"O	x	х	-

Tabela 22 - continuação...

Espécie	Voucher de coleta	Voucher herbário	Local, Município, Estado. Coletores. Data	Coordenadas geográficas	UPA	COI-5P	rbcL
Pterocladiella capillacea	IBC0273	SPF57758	Praia do Éden, Guarujá, SP. C. Iha. 12.IX.2011	23°59'12"S/46°11'15"O	Х	Х	-
Pterocladiella capillacea	IBC0277	SPF57759	Praia do Éden, Guarujá, SP. C. Iha. 12.IX.2011	23°59'12"S/46°11'15"O	Х	Х	-
Pterocladiella capillacea	IBC0501	SPF57760	Praia do Forno, Armação de Búzios, RJ. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 25.IX.2011	22°45'42.56"S/41°52'29.11"O	х	х	-
Pterocladiella capillacea	IBC0503	SPF57761	Praia do Forno, Armação de Búzios, RJ. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 25.IX.2011	22°45'42.56"S/41°52'29.11"O	х	-	-
Pterocladiella capillacea	IBC0509	-	Praia Azeda, Armação de Búzios, RJ. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 26.IX.2011	22°44'28.94"S/41°52'55.38"O	х	x	-
Pterocladiella capillacea	IBC0512	SPF57762	Praia Brava, Armação de Búzios, RJ. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 27.IX.2011	22°45'14.35"S/41°52'24.45"O	х	х	-
Pterocladiella capillacea	IBC0516	SPF57763	Praia do Farol - Ilha do Cabo Frio, Arraial do Cabo, RJ. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 28.IX.2011	22°59'55.15"S/42°00'11.13"O	х	х	-
Pterocladiella capillacea	IBC0532	SPF57764	Praia de Itaoca - Pouso da Cajaíba, Paraty, RJ. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 10.XII.2011	23°16'11.50"S/44°34'29.07"O	x	-	-
Pterocladiella capillacea	IBC0536	SPF57765	Praia Grande da Cajaíba - Pouso da Cajaíba, Paraty,RJ. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer. 10.XII.2011	23°15'49.31"S/44°35'04.43"O	х	х	-
Pterocladiella capillacea	IBC0562	SPF57766	Praia do Aghá, Piúma, ES. C. Iha/B. Torrano- Silva/F. Nauer. 06.V.2012	20°52'39.09"S/40°45'35.88"O	х	х	-
Pterocladiella capillacea	IBC0563	SPF57767	Ponta das Arraias ("Praia da Morte"), Marataízes, ES. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer/M. Oliveira. 07.V.2012	21°01'57.43"S/40°48'44.43"O	х	х	-
Pterocladiella capillacea	IBC0571	SPF57768	Praia da Cruz, Mataraízes, ES. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer/M. Oliveira. 07.V.2012	21°02'01.68"S/40°48'45.51"O	х	х	-
Pterocladiella capillacea	IBC0577	SPF57769	Praia dos Namorados, Guarapari, ES. C. Iha/B. Torrano-Silva/F. Nauer/M. Oliveira. 08.V.2012	20°40'19.65"S/40°29'47.22"O	х	-	-
Pterocladiella capillacea	IBC0588	SPF57770	Enseada Azul, Meaípe, ES. C. Iha/B. Torrano- Silva/F. Nauer/M. Oliveira. 09.V.2012	20°43'47.63"S/40°31'25.61"O	х	х	-
Pterocladiella capillacea	IBT0117	SP428183	Bonetinho, Ubatuba, SP. M. Fujii. 02.III.2009	23°32'07.43"S/45°11'13.93"O	х	Х	х
Pterocladiella capillacea	IBT0252	SP428203	Praia do Éden, Guarujá, SP. S. Guimarães. 01.XII.2009	23°59'12"S/46°11'15"O	х	х	х

Tabela 22 –continuação...

Espécie	Voucher de coleta	Voucher herbário	Local, Município, Estado. Coletores. Data	Coordenadas geográficas	UPA	COI-5P	rbcL
Pterocladiella capillacea	IBT0668	SP428223	Praia Parati, Anchieta, ES. S. Guimarães. 07.X.2010	20°48'21.04"S/40°36'1.47"O	х	-	-
Pterocladiella capillacea	IBT0679	SP428228	Manguinhos, Manguinhos, ES. S. Guimarães. 05.X.2010	20°11' 20.78"S/40°11'24.59"O	х	-	-
Pterocladiella capillacea	IBT0723	-	Praia ao lado da Praia da Foca, Armação de Búzios, RJ. S. Guimarães. 23.X.2011	22°45'54.87"S/41°52'43.95"O	х	x	-
Pterocladiella sp.	IBC0274	SPF57773	Praia do Éden, Guarujá, SP. C. Iha. 12.IX.2011	23°59'12"S/46°11'15"O	Х	Χ	-
Pterocladiella sp.	IBC0275	SPF57774	Praia do Éden, Guarujá, SP. C. Iha. 12.IX.2011	23°59'12"S/46°11'15"O	Х	Х	-
Pterocladiella sp.	IBC0279	SPF57775	Praia do Éden, Guarujá, SP. C. Iha. 12.IX.2011	23°59'12"S/46°11'15"O	Х	Х	-
Pterocladiella sp.	IBT0097	SP428179	Bonetinho, Ubatuba, SP. M. Fujii. 02.III.2009	23°32'07.43"S/45°11'13.93"O	Х	Х	Х
Pterocladiella sp.	IBT0232	SP428197	Domingas Dias, Ubatuba, SP. M. Fujii. 04.IX.2009	23°29'45.35"S/45°08'46.83"O	х	Х	-
Pterocladiella sp.	IBT0236	SP428199	Domingas Dias, Ubatuba, SP. M. Fujii. 06.IX.2009	23°29'45.35"S/45°08'46.83"O	х	x	x
Pterocladiella sp.	IBT0257	SP428204	Praia do Éden, Guarujá, SP. S. Guimarães. 01.XII.2009	23°59'12"S/46°11'15"O	x	x	х
Pterocladiella sp.	IBT0258	SP428205	Praia do Éden, Guarujá, SP. S. Guimarães. 01.XII.2009	23°59'12"S/46°11'15"O	x	х	-
Pterocladiella sp.	IBT0259	SP428206	Praia do Éden, Guarujá, SP. S. Guimarães. 01.XII.2009	23°59'12"S/46°11'15"O	x	х	-
Pterocladiella sp.	IBT0260	SP428207	Praia do Éden, Guarujá, SP. S. Guimarães. 01.XII.2009	23°59'12"S/46°11'15"O	х	x	-
Pterocladiella sp.	IBT0261	SP428208	Praia do Éden, Guarujá, SP. S. Guimarães. 01.XII.2009	23°59'12"S/46°11'15"O	x	х	-