

Valéria Cassano

**Taxonomia e filogenia do complexo *Laurencia*
(Ceramiales, Rhodophyta), com ênfase no
estado do Rio de Janeiro, Brasil**



Tese apresentada ao Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de DOUTOR em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração de Plantas Avasculares e Fungos em Análises Ambientais.

**São Paulo
2009**

Valéria Cassano

**Taxonomia e Filogenia do complexo *Laurencia* (Ceramiales,
Rhodophyta), com ênfase no estado do
Rio de Janeiro, Brasil**

Tese apresentada ao Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de DOUTOR em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração de Plantas Avasculares e Fungos em Análises Ambientais

Orientadora: Dra. Mutue Toyota Fujii

Co-orientadora: Dra. Mariana Cabral de Oliveira

Ficha catalográfica elaborada pela Seção de Biblioteca do Instituto de Botânica

Cassano, Valéria

C343t Taxonomia e filogenia do complexo *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta),
com ênfase no estado do Rio de Janeiro, Brasil / Valéria Cassano -- São Paulo, 2009.
328 p. il.

Tese (Doutorado) -- Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente,
2009

Bibliografia.

1. Algas. 2. Taxonomia. 3. Filogenia molecular. I. Título

CDU 582.26

Agradecimentos

À Mutue Toyota Fujii e à Mariana Cabral de Oliveira minha mais profunda gratidão pela acolhida carinhosa, orientação, amizade, apoio e paciência, e por esses quatro anos de tão boa e produtiva convivência.

À Silvia Guimarães pelas valiosas contribuições, ajuda sempre incondicional, amizade e carinho que foram tão importantes para mim em todos os momentos.

Ao meu grande amigo Joel Campos De-Paula minha imensa gratidão pela colaboração inestimável nas coletas, pedido de material a herbários estrangeiros e sugestões relevantes e, sobretudo, por todos esses anos da mais rara e sincera amizade.

À Diógina Barata meu sincero agradecimento pela ajuda em diferentes etapas desta tese, pela companhia cotidiana nos laboratórios do IBt e da USP e pela amizade que se firmou nesses anos de convivência.

Ao Abel Senties Granados e à Maria Candelaria Gil-Rodríguez pela amizade, colaboração e oportunidade que me deram de conhecer as `Laurencias` dos dois lados do Atlântico.

À Jhoana Díaz-Larrea pela disponibilidade em ajudar sempre que precisei, pela troca de informações e colaboração nas análises filogenéticas.

Ao José Teixeira Moreira pelas palavras valiosas de incentivo e apoio nos momentos mais difíceis.

À Maria Teresa M. de Széchy pela amizade, colaboração em muitas coletas realizadas no litoral de Angra dos Reis e pelas parcerias firmadas.

À Maria Beatriz de Barros-Barreto pelo auxílio nas coletas no norte do Rio de Janeiro e pelo apoio e amizade de sempre.

Ao Renato Rocha Jorge e Sandra Chiracava pela amizade e ajuda em diversos momentos.

À Aline Oliveira, Ana Paula Veloso, André B. Ramos, Bárbara Ignácio, Daniela Sudatti, Danuza Moysés, Érika Stein, Juliana Torres, Jhoana Díaz-Larrea, José B. de Carvalho, Lísia Gestinari e Paulo A. Horta meu agradecimento pelo auxílio nas coletas ou por cederam amostras para o estudo morfológico e molecular.

Ao K.W. Nam pela valiosa ajuda na interpretação das características reprodutivas.

Aos curadores dos herbários pela troca de informações e envio de coleções botânicas, incluindo material tipo e fotografias que auxiliaram em muitas decisões taxonômicas tomadas

neste estudo: Renata Reis, Jardim Botânico do Rio de Janeiro (RB), Eurico C. de Oliveira, Universidade de São Paulo (SPF), Michael J. Wynne, Universidade de Michigan, EUA (MICH), Carlos Frederico D. Gurgel, Herbário Estadual do Sul da Austrália, Adelaide (AD), Patrik Frödén, Museu Botânico de Lund, Suécia (LD), Giovanni Furnari, Universidade da Catania, Itália (CAT), Paul C. Silva, Universidade da Califórnia, Berkeley, EUA (UC), Bruno de Reviere, Museu Nacional de História Natural de Paris (PC) e Universidade de Caen, França (CN), Michio Masuda, Universidade de Hokkaido, Japão (SAP) e Ruth Nielson, Universidade de Copenhague, Dinamarca (C).

Aos amigos da Seção de Ficologia do Instituto de Botânica, Dielá Pupo, Nair Yokoya, Silvia Guimarães, Célia Sant'Anna, Andréa Tucci, Luciana Retz, Silvia Melcher, Renato Jorge, Sandra Chiracava, Érika Stein, Aline Paternostro, Aline Oliveira, Carolina Coto, Fernanda Ramlov, Daniela Sudatti, Ingrid Balesteros, Júlio Avanzo, Elizete Mitsugui, José Domingos, Neide Pozo, Manuel Gomes e Neuzete Oliveira por terem me auxiliado das mais diferentes maneiras.

Aos amigos do Laboratório de Algas Marinhas da Universidade de São Paulo, Amandinha, Ana, Bia, Fernanda, Guilherme, Henrique, José, Lagosta, Leila, Lígia, Luciana e Mônica pela ajuda, companheirismo e pelos momentos de descontração. Meu sincero agradecimento a Daniela Milstein, Amanda Medeiros, Fungyi Chow Ho e Rosário Petti pela enorme ajuda dada durante o desenvolvimento de parte desta tese na USP.

À Valéria Gallo, do Departamento de Zoologia da UERJ, pelo auxílio na interpretação dos dados filogenéticos.

Ao Programa de Pós-Graduação do Instituto de Botânica de São Paulo, à UERJ pela concessão de afastamento PROCAD para doutoramento, à CAPES pela concessão de bolsa/Picdt e ao Ministério de Educação e Ciências, Espanha (CGL2007-60635/BOS). Aos meus colegas do Departamento de Biologia Vegetal da UERJ pelo apoio constante.

ÍNDICE

Lista de abreviaturas .

1. Introdução	1
1.1. Revisão Histórica do complexo <i>Laurencia</i> J.V. Lamouroux	2
1.1.1 Estudo do complexo <i>Laurencia</i> J.V. Lamouroux no Brasil	15
1.2 Filogenia Molecular	17
2. Material e Métodos	23
2.1. Estudo morfológico	23
2.2. Estudo molecular	28
3. Resultados e Discussão	39
3.1. Estudo Morfológico	39
3.1.1. Sinopse dos táxons estudados	39
3.1.2. Chave artificial dicotômica para a identificação dos táxons estudados	40
3.1.3. Descrições dos táxons estudados	41
3.1.3.1. <i>Laurencia aldingensis</i>	41
3.1.3.2. <i>Laurencia caduciramulosa</i>	61
3.1.3.3. <i>Laurencia catarinensis</i>	85
3.1.3.4. <i>Laurencia dendroidea</i>	114
3.1.3.5. <i>Laurencia oliveirana</i>	165
3.1.3.6. <i>Laurencia translucida</i>	181
3.1.3.7. <i>Laurencia</i> sp.1	197
3.1.3.8. <i>Palisada flagellifera</i>	210
3.1.3.9. <i>Palisada perforata</i>	223
3.1.4. Comparação das principais características morfológicas das espécies estudadas	241
3.2. Filogenia molecular	243
3.2.1. Análises filogenéticas	243
3.2.1.1. Análises do <i>rbcL</i>	243
3.2.1.2. Análises do <i>cox1</i> , <i>rbcL/rbcL-S</i> e combinada entre os marcadores	245
3.2.2. Divergência entre as sequências dos marcadores estudados	258
4. Discussão Geral	291
5. Conclusões	298
6. Literatura Citada	301
7. Resumo	324
8. Abstract	326
9. Trabalhos publicados	328

Lista de abreviaturas

a - célula axial

au - célula auxiliar

bt - célula basal do tricoblasto

c - célula central do segmento que origina o procarpo

cg - carpogônio

Cox1 - gene que codifica a subunidade I da enzima citocromo c oxidase

Indel - inserção/deleção

ITS - 'Internal Transcribed Spacer' ou espaçador transcrito interno

Kb - kilo base (1 Kb = 1000 nucleotídeos)

ML - Máxima verossimilhança

MP - Máxima parcimônia

NJ - Neighbor-joining

npd - células corticais não arranjadas em paliçada

nt - nucleotídeos

p - célula pericentral

pb - pares de bases

PCR - 'Polymerase Chain Reaction' ou reação em cadeia de polimerase

pd - células corticais em paliçada

pe - células pericentral estéril

pf - Célula pericentral fértil

po - célula pós-esporangial de cobertura

PP - Probabilidade posterior

pr - célula pré-esporangial de cobertura

rbcL - gene que codifica para o a subunidade grande da Rubisco

rbcS - gene que codifica para o a subunidade pequena da Rubisco

rbcL-S - região espaçadora entre o *rbcL* e o *rbcS*

SSU rDNA - gene que codifica para o RNA da subunidade pequena do ribossomo

rc - ramo carpogonial

re - ramo espermatangial estéril

rel - ramo espermatangial fértil produzido a partir de somente um ramo lateral do tricoblasto

rep - ramo espermatangial fértil

Rubisco - Ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase

rRNA - RNA ribossômico

sbt - célula suprabasal do tricoblasto

su - célula suporte

te - tetrasporângio

tr - tricogine

1. Introdução

O complexo *Laurencia* agrupa atualmente quatro gêneros relacionados: *Laurencia sensu stricto*, *Chondrophyucus* (Tokida *et* Saito) Garbary *et* J.T. Harper, *Palisada* K.W. Nam e *Osmundea* Stackhouse. Os gêneros pertencem à família Rhodomelaceae J. E. Areschoug, caracterizada por apresentar crescimento uniaxial, estrutura polissifônica, na qual as células pericentraes são produzidas por divisões longitudinais tangenciais a partir das células do filamento axial, ramo carpogonial com quatro células, cistocarpos com distinto pericarpo e espermatângios, na maioria, associados com tricoblastos (Stegenga *et al.* 1997). A família é alocada na ordem Ceramiales Oltmanns pela formação de célula auxiliar após a fecundação e difere de outras Ceramiales pela formação específica das células pericentraes que se dividem em uma seqüência alterna (Scagel 1953, Hommersand 1963, Maggs & Hommersand 1993, Stegenga *et al.* 1997, Womersley 2003).

O complexo compreende cerca de 150 espécies, amplamente distribuídas em mares tropicais, subtropicais e temperados (McDermid 1988, Guiry & Guiry 2005), e é facilmente reconhecido dentro de Rhodomelaceae pela presença de célula apical sempre imersa em uma depressão nos ápices de eixos e ramos, rodeada por tricoblastos ramificados, segmento axial reconhecível somente próximo ao ápice e presença de corticação ao longo do talo (Falkenberg 1901, Kylin 1923, 1956). Embora os gêneros do complexo sejam de fácil reconhecimento, a maioria das espécies é de difícil identificação, reflexo da grande plasticidade fenotípica que apresentam (Saito 1969a, Fujii 1990, 1998, Senties & Fujii 2002, Fujii & Senties 2005). A dificuldade na identificação das espécies desse complexo é patente em diversas partes do mundo (Masuda & Abe 1993) e vários autores atribuem o mesmo epíteto específico a diferentes entidades taxonômicas. A grande variação morfológica encontrada, a falta de descrições completas e uniformes e a dificuldade na observação de alguns caracteres para uma identificação segura dos táxons têm contribuído para aumentar a confusão em torno da classificação, identificação, sinonímia e nomenclatura desse complexo (Senties & Fujii 2002). Consequentemente, a taxonomia do grupo tem sofrido mudanças substanciais, principalmente nas duas últimas décadas, sendo que várias tentativas de classificação foram propostas à medida que novos caracteres foram empregados. A utilização de caracteres anatômicos vegetativos e a maior importância dada às estruturas reprodutivas têm norteado a separação de gêneros, subgêneros e seções.

1.1. Revisão Histórica do complexo *Laurencia*

Lamouroux em 1813, em sua obra “*Essai sur les genres de la famille des thallassiophytes non articulées*”, foi o primeiro autor a agrupar as macroalgas em ordens baseado, em parte, na cor dos talos (Papenfuss 1955). Lamouroux (1813) agrupou 11 gêneros de algas vermelhas na ordem criada e denominada por ele de “Floridées”, entre eles, o novo gênero *Laurencia*. As “Floridées” foram caracterizadas por algas vermelho-púrpura, de organização corolóide (em forma de corola) e a separação dos gêneros foi baseada no tipo de fronde (achatada ou cilíndrica) e no tipo de “frutificação”. A descrição original do gênero *Laurencia* é extremamente sucinta e incluía espécies que apresentavam fronde cilíndrica pouco gelatinosa e cistocarpos globosos situados nas extremidades de ramos e râmulos. O gênero foi criado para acomodar oito espécies, sete delas transferidas do gênero *Fucus* Linnaeus: *L. obtusa* (Hudson) J.V. Lamouroux, espécie-tipo do gênero (Schmitz 1889), *L. pinnatifida* (Hudson) J.V. Lamouroux, *L. gelatinosa* J. V. Lamouroux [tratada como *nomen novum*, uma vez que o basônimo *F. gelatinosus* Desfontaines, 1799 é ilegítimo por ser um homônimo posterior de *F. gelatinosus* Hudson, 1762], *L. cyanosperma* Delile ex J.V. Lamouroux, *L. lutea* Boldoni ex J.V. Lamouroux, *L. caespitosa* Weber et Mohr ex J.V. Lamouroux, *L. versicolor* J.V. Lamouroux [tratada como *nomen novum*, uma vez que o basônimo *F. versicolor* Vahl, 1802 é ilegítimo por ser um homônimo posterior de *F. versicolor* S.M. Gmelin, 1768] e *L. intricata* J.V. Lamouroux, a única espécie nova de *Laurencia* ilustrada por Lamouroux nesta obra (Silva *et al.* 1996, Furnari *et al.* 2001).

Stackhouse (1809, 1816), contemporâneo de Lamouroux, propôs dois gêneros superficialmente semelhantes à *Laurencia*: *Osmundea* Stackhouse (1809) e *Pinnatifida* Stackhouse (1816). Entretanto, os dois gêneros foram rejeitados por Papenfuss (1947). O primeiro como um sinônimo de *Laurencia* e o segundo como um sinônimo de *Osmundea* (Nam *et al.* 1994). Papenfuss (1947) propôs o nome *Laurencia* como *nomen conservandum* sobre *Osmundea*.

J. Agardh (1863) incluiu o gênero na ordem Chondriales e separou as espécies de *Laurencia* em seis grupos, baseado no tipo de fronde (cilíndrica ou achatada) e no padrão de ramificação dos talos. Mais tarde, em 1876, J. Agardh redefiniu seu sistema de classificação e propôs a subdivisão do gênero em quatro seções: *Filiformes*, *Papillosae*, *Obtusae* e *Pinnatifidae* baseado ainda na morfologia da fronde e no padrão de ramificação.

No início do século XX, as características das estruturas reprodutivas de algumas espécies foram detalhadas por Falkenberg (1901) e Kylin (1923). No entanto, segundo Furnari

et al. (2001), a importância dessas características foi subestimada na taxonomia do gênero por muitos autores subsequentes. Yamada (1931) salientou a dificuldade na determinação das espécies de *Laurencia* devido à grande variação no hábito da fronde e nos râmulos férteis, dependendo das condições onde elas cresciam, e propôs um sistema de classificação baseado na anatomia vegetativa dos talos, sem dar valor diagnóstico às características reprodutivas. Nesta nova classificação, Yamada (1931) reconheceu quatro seções dentro do gênero *Laurencia* com as seguintes características:

Gênero *Laurencia*

Seção *Palisadae* (talo cilíndrico, células corticais em paliçada, espessamentos lenticulares ausentes) (Figs 1, 5).

Seção *Forsterianae* (talo cilíndrico ou ligeiramente achatado, sem células corticais em paliçada, espessamentos lenticulares abundantes) (Figs 2, 6).

Seção *Cartilagineae* (talo cilíndrico ou ligeiramente achatado, sem células corticais em paliçada, espessamentos lenticulares ausentes ou muito escassos).

Seção *Pinnatifidae* J. Agardh (talos achatados, sem células corticais em paliçada).

A partir da década de 60, a taxonomia do complexo foi baseada nas combinações de características vegetativas e reprodutivas (Saito 1963, 1966, 1967, 1969a, 1969b, Saito & Womersley 1974). Uma mudança maior na classificação foi proposta por Saito (1967) com ênfase na morfologia comparada das espécies de *Laurencia* do Japão. Saito (1967) propôs a divisão do gênero *Laurencia* em dois subgêneros: *Laurencia* (espécie tipo *L. obtusa*) e *Chondrophycus* Tokida et Saito (espécie tipo *L. cartilaginea* Yamada) a partir da observação do arranjo dos tetrasporângios nos ramos (Saito 1963) (Figs 3 e 4) e de ligações secundárias entre células corticais adjacentes, em algumas espécies (Saito 1966) (Fig. 7). Saito (1967) subdividiu os subgêneros em seções propondo a seguinte classificação infragenérica:

Subgênero *Laurencia* (presença de ligações secundárias entre as células corticais adjacentes, tetrasporângios arranjados paralelamente em relação ao eixo longitudinal do ramo).

Seção *Laurencia* (ausência de espessamentos lenticulares).

Seção *Forsterianae* Yamada (presença de espessamentos lenticulares).

Seção *Pinnatifidae* J. Agardh (talos distintamente achatados).

Subgênero *Chondrophyucus* (ausência de ligações secundárias entre as células corticais adjacentes, tetrasporângios arranjados em ângulo reto em relação ao eixo longitudinal do ramo).

Seção *Chondrophyucus* (células corticais nunca arranjadas em paliçada).

Seção *Palisadae* Yamada (células corticais arranjadas em paliçada).

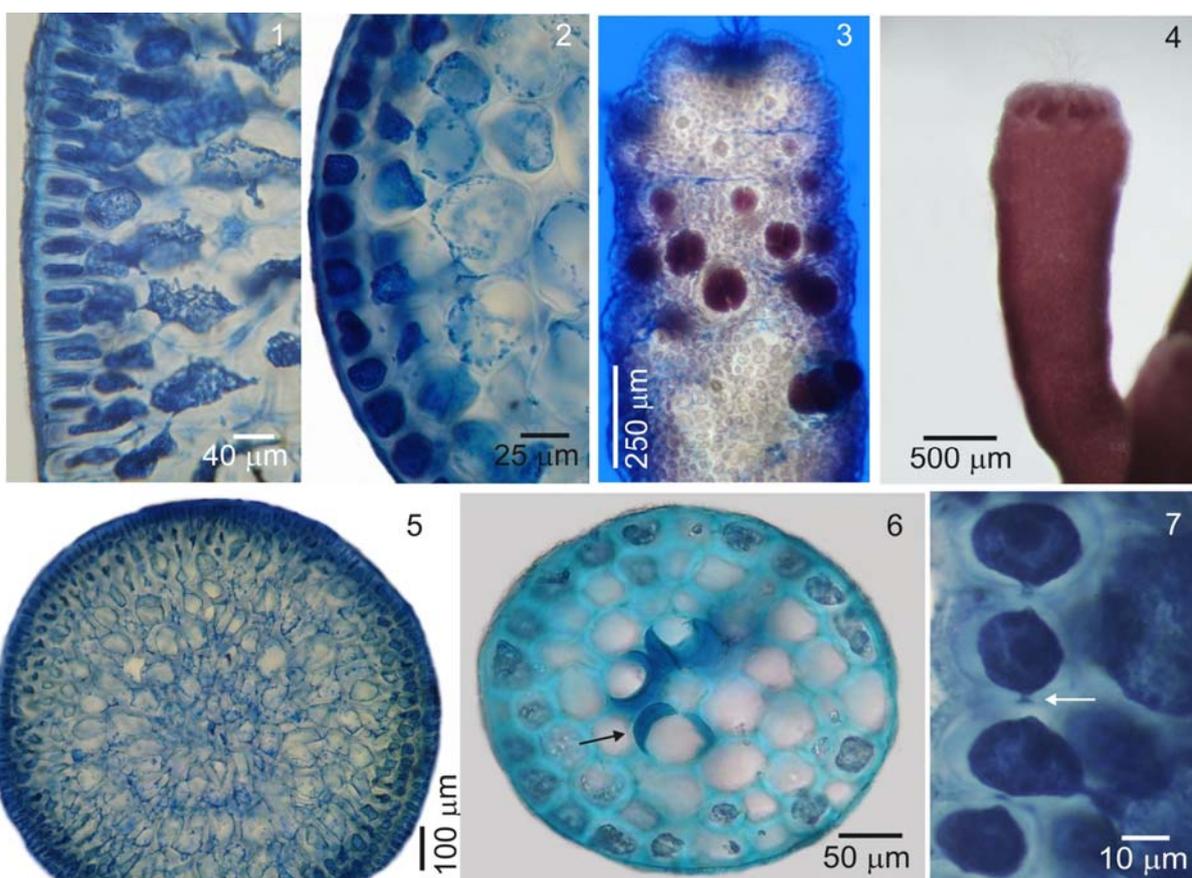
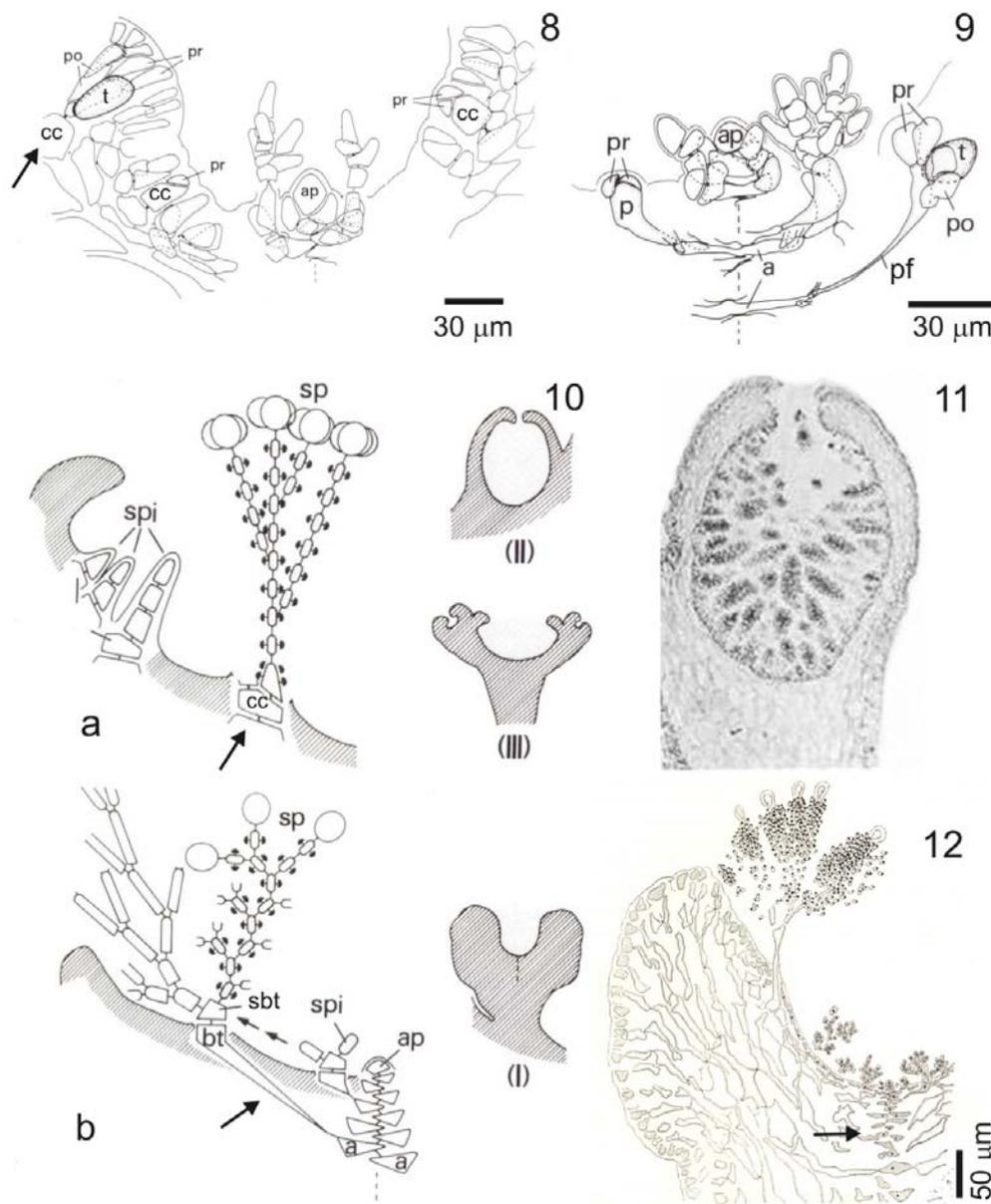


Fig. 1. Corte transversal do talo mostrando células corticais alongadas com arranjo em paliçada. **Fig. 2.** Corte transversal do talo mostrando células corticais quadráticas sem arranjo em paliçada. **Fig. 3.** Râmulo tetrasporangial com tetrasporângios dispostos em arranjo paralelo em relação ao eixo longitudinal do râmulo. **Fig. 4.** Râmulo tetrasporangial com tetrasporângios dispostos em ângulo reto em relação ao eixo longitudinal do râmulo. **Fig. 5.** Corte transversal do talo mostrando células medulares sem espessamentos lenticulares. **Fig. 6.** Corte transversal do talo mostrando células medulares com espessamentos lenticulares (seta). **Fig. 7.** Detalhe das células corticais em corte longitudinal do talo com ligações secundárias entre as células adjacentes (seta).

Em continuidade ao seu estudo de *Laurencia* do Oceano Pacífico, Saito (1969a) investigou as espécies do Havaí, Filipinas e áreas adjacentes e Saito (1969b) as espécies da Califórnia, costa oeste dos EUA. As espécies identificadas por Saito (1969a) puderam ser acomodadas em um dos dois subgêneros estabelecidos por ele (Saito 1967). Entretanto, as espécies provenientes da Califórnia: *L. crisper* Hollenberg, *L. blinksi* Hollenberg et Abbott, *L. spectabilis* Post et Ruprecht, *L. splendens* Hollenberg e, segundo Nam et al. (1994), provavelmente também *L. sinicola* Setchell et Gardner (= *L. scrippsensis* Dawson), *L. multibulba* Dawson, Neushul et Wildman e *L. spectabilis* var. *diegoensis* Dawson, compartilhavam simultaneamente características dos dois subgêneros (arranjo dos tetrasporângios do tipo paralelo, característica do subgênero *Laurencia*, e ausência de ligações secundárias entre as células corticais, característica do subgênero *Chondrophyucus*). Em vista disso, essas espécies não puderam ser incluídas em nenhum dos subgêneros do sistema de Saito (1967). Saito (1969b) salientou ainda que no “grupo *Spectabilis*” os tetrasporângios eram cortados adaxialmente (Fig. 8), ao contrário das demais espécies, cujos tetrasporângios eram cortados abaxialmente a partir da célula pericentral (Fig. 9), e que os receptáculos espermatangiais eram em forma de bolso (Figs 10a, 11) e não apresentavam uma fileira de células axiais reconhecíveis na depressão espermatangial (Fig. 11). Saito (1969b) caracterizou esse tipo de arranjo espermatangial como indeterminado, em contraste ao tipo determinado presente nas espécies do Japão, cujos receptáculos espermatangiais eram em forma de taça (Figs 10b, 12), com ramos espermatangiais produzidos a partir dos tricoblastos (Fig. 10b), exibindo uma fileira de células axiais na depressão espermatangial (Fig. 12). Embora Saito (1969b) tenha sugerido que as espécies da Califórnia pudessem ter um *status* subgenérico, o autor preferiu manter o sistema de classificação proposto por ele em 1967 e incluiu essas espécies no chamado “grupo *Spectabilis*” sem uma categoria taxonômica definida.

Saito & Womersley (1974) estudaram as espécies de *Laurencia* do sul da Austrália adotando a subdivisão infragenérica de Saito (1967). Entretanto, estabeleceram uma nova seção, *Planae*, dentro do subgênero *Laurencia*, para incluir espécies que compartilhavam as características da seção *Pinnatifidae* (talos achatados), mas distinguiam-se destas pela produção de tetrasporângios abaxiais, já que em *L. pinnatifida*, espécie tipo da seção *Pinnatifidae*, a produção dos tetrasporângios é em posição adaxial. Mais tarde, Saito (1982) redefiniu a seção *Pinnatifidae* incluindo as espécies que apresentavam a combinação das características: tetrasporângios cortados adaxialmente e receptáculo espermatangial determinado, interpretado equivocadamente como determinado para *L. pinnatifida*, segundo Furnari & Serio (1993).

Dentro do subgênero *Chondrophyucus*, Zhang & Xia (1985) propuseram a nova seção *Articulatae*, baseada em *L. articulata* C. K. Tseng, para acomodar as espécies que apresentavam espessamentos lenticulares nas paredes das células medulares e ausência de arranjo em paliçada nas células corticais.



Figs 8 e 9. Origem dos tetrasporângios. **Fig. 8.** Tetrasporângios (t) originados adaxialmente a partir das células corticais (cc) (seta). **Fig. 9.** Tetrasporângios originados abaxialmente a partir das células pericentrais férteis (pf). **Fig. 10a, b.** Representação esquemática da origem dos ramos espermatangiais. **a.** Ramo espermatangial (sp) do tipo filamento (indeterminado) originado das células corticais (cc, seta). Receptáculo espermatangial em forma de bolso (II) ou taça (III); **b.** Ramo espermatangial (sp) do tipo tricoblasto (determinado), originado da célula basal do tricoblasto (bt, seta). Receptáculo espermatangial em forma de taça (I). **Fig. 11.** Detalhe do receptáculo em forma de bolso sem fileira de células axiais na depressão espermatangial. **Fig. 12.** Detalhe do receptáculo em forma de taça com fileira de células axiais na depressão espermatangial (seta). Célula axial (a), célula apical (ap), célula pericentral (p), célula pré-esporangial de cobertura (pr), célula pós-esporangial de cobertura (po), célula suprabasal do tricoblasto (sbt), filamento espermatangial inicial (spi). Figs 8-10. Modificadas de Nam *et al.* (1994). Figs 11 e 12. Retiradas de Saito (1969b) e Saito (1967), respectivamente.

A partir da década de 90, a taxonomia do complexo *Laurencia* recebeu grande impulso com os trabalhos realizados por Nam & Saito (1990, 1991a, b, 1994, 1995), Nam & Sohn (1994), Nam *et al.* (1991), Nam (1999, 2006, 2007) e Garbary & Harper (1998) pela utilização de novas características vegetativas e reprodutivas que levaram ao restabelecimento do gênero *Osmundea* Stackhouse (Nam *et al.* 1994), a elevação do subgênero *Chondrophyucus* em nível genérico (Garbary & Harper 1998) e à proposição do gênero *Palisada* baseada na seção *Palisadae* de Yamada (1931) (Nam 2006, 2007).

Dois tipos fundamentais de estruturas vegetativas foram definidos em trabalhos realizados por Nam & Saito (1990, 1991a, 1991b) e Nam *et al.* (1991), nos quais duas (Fig. 13) ou quatro (Fig. 14) células pericentrais são produzidas por cada segmento axial vegetativo, respectivamente nos subgêneros *Chondrophyucus* e *Laurencia*.

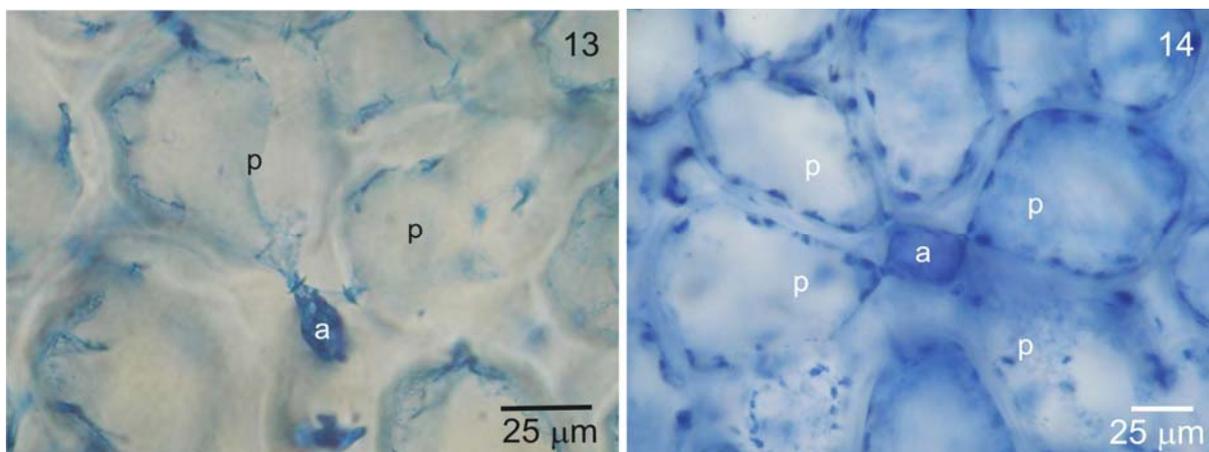


Fig. 13. Corte transversal do talo mostrando duas células pericentrais por segmento axial vegetativo. **Fig. 14.** Corte transversal do talo mostrando quatro células pericentrais por segmento axial vegetativo. Célula axial (a), célula pericentral (p).

Furnari & Serio (1993), estudando espécies do Mar Mediterrâneo, observaram que a origem dos ramos espermatangiais em *L. truncata* Kützing era cortical e não a partir dos tricoblastos como comumente reportado para as demais espécies do Mediterrâneo. Os autores argumentaram que o arranjo dos ramos espermatangiais de *L. truncata* do Mediterrâneo e *L. pinnatifida* e *L. hybrida* (De Candolle) Lenormand *ex* Duby das Ilhas Britânicas (Saito 1982), é indeterminado, assim como no “grupo *Spectabilis*”. Assim, Furnari & Serio (1993) propuseram o subgênero *Saitoa*, com uma única seção, *Pinnatifidae* J. Agardh *emend.* Furnari & Serio (caracterizada pelos tetrasporângios adaxiais) para acomodar o “grupo *Spectabilis*”, *L. pinnatifida* e *L. hybrida*. O subgênero foi caracterizado pela ausência de ligações secundárias entre as células corticais adjacentes e arranjo paralelo dos tetrasporângios. *Laurencia truncata*

foi acomodada no subgênero *Laurencia* seção *Planae* pela presença de ligações secundárias e pelos tetrasporângios abaxiais.

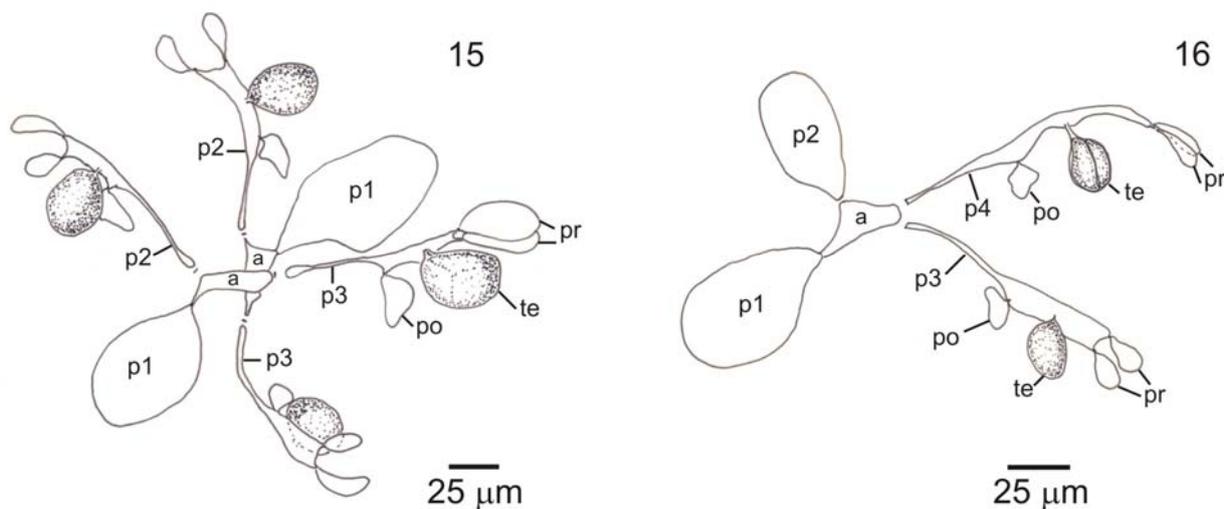
Nam *et al.* (1994) enfatizaram que o esquema de classificação de *Laurencia* em três subgêneros (*Laurencia*, *Chondrophycus* e *Saitoa*) ainda não era prático devido à presença de espécies que compartilhavam caracteres dos diferentes subgêneros, tais como: *L. botryoides* (Turner) Gaillon, *L. parvipapillata* C. K. Tseng, *L. iridescens* Wynne *et* Ballantine, *L. similis* K.W. Nam *et* Saito, *L. crustiformans* McDermid, *L. kangjaewonii* K.W. Nam *et* Sohn, e as espécies brasileiras, *L. furcata* Cordeiro-Marino *et* Fujji e *L. translucida* Fujji *et* Cordeiro-Marino. Essa constatação levou Nam & Saito (1995) a sugerir uma revisão crítica do sistema de classificação de Saito (1967) e a propor caracteres adicionais para a separação dos subgêneros:

- 1) número de células pericentrais por segmento axial vegetativo (duas em *Chondrophycus*, quatro em *Laurencia*);
- 2) presença ou ausência de células pericentrais férteis adicionais no segmento tetrasporangial (presente em *Chondrophycus*, ausente em *Laurencia*) (Figs 15 e 16);
- 3) posição das células pericentrais que originam os tetrasporângios (em espécies com duas células pericentrais, os tetrasporângios são produzidos pela segunda pericentral e por células pericentrais adicionais (Fig. 15), ou apenas pela segunda célula pericentral, enquanto que em espécies com quatro pericentrais os tetrasporângios podem ser produzidos a partir da segunda, terceira e quarta células pericentrais (Fig. 16), ocasionalmente somente da quarta);
- 4) número de células pericentrais que originam o procarpo (Figs 21 e 22).

Na sequência, o gênero *Osmundea* [espécie-tipo *O. osmunda* (S.G. Gmelin) K.W. Nam *et* Maggs] foi restabelecido por Nam *et al.* (1994) para acomodar as espécies incluídas anteriormente no subgênero *Saitoa* (as espécies californianas do “grupo *Spectabilis*” e algumas espécies européias do complexo *Laurencia*). O gênero *Osmundea* foi caracterizado por:

- 1) ramos espermatangiais originados diretamente das células corticais na depressão apical dos râmulos, desenvolvidos em grupos de filamentos alternadamente ramificados, denominados “tipo filamento” (tipo indeterminado de Saito 1969b) (Fig. 10a);
- 2) receptáculo espermatangial em forma de bolso ou de taça sem uma fileira de células axiais reconhecíveis na depressão do râmulo (Figs 10a, 11);
- 3) produção de tetrasporângios, ao acaso, a partir das células corticais (Fig. 8);
- 4) tetrasporângios cortados lateralmente a partir de qualquer célula cortical e com as duas células pré-esporangiais de cobertura com arranjo do tipo paralelo em relação ao eixo do râmulo, em vista superficial.

Osmundea também possui duas células pericentrais por segmento axial e as ligações secundárias estão presentes ou não, dependendo da espécie.



Figs 15 e 16. Representação esquemática de segmentos tetrasporangiais. **Fig. 15.** Corte transversal próximo ao ápice de um râmulo mostrando segmentos axiais de um talo formado por duas células pericentrais vegetativas; a primeira célula pericentral permanece vegetativa (p1), a segunda torna-se fértil (p2) e uma adicional fértil (p3) é formada em posição oposta as duas pré-existentes. **Fig. 16.** Corte transversal próximo ao ápice de um râmulo mostrando segmento axial de um talo formado por quatro células pericentrais vegetativas; a primeira e a segunda células pericentrais permanecem vegetativas (p1 e p2), a terceira e a quarta tornam-se férteis (p3 e p4), sem formação de células pericentrais adicionais. Células pré-esporangiais de cobertura (pr), células pós-esporangiais de cobertura (po), tetrasporângios (te).

Em contraste, o gênero *Laurencia emend.* Nam *et al.* (1994), foi redefinido como segue:

1) ramos espermatangiais desenvolvidos a partir da célula suprabasal do tricoblasto, originado de uma célula axial próxima à célula apical, desenvolvidos em grupos dicotomicamente ramificados (Fig. 10b), denominados “tipo tricoblasto” (tipo determinado de Saito 1969b);

2) receptáculo espermatangial em forma de taça, apresentando uma fileira de células axiais reconhecíveis na depressão do râmulo (Fig. 12);

3) tetrasporângios formados a partir de uma determinada célula pericentral (Fig. 9). Neste caso, os tetrasporângios são formados abaxialmente e apresentam duas células pré-esporangiais de cobertura com arranjo do tipo transversal em relação ao eixo do râmulo, em vista superficial.

Com este novo delineamento genérico, apenas os subgêneros *Laurencia* e *Chondrophyucus* permaneceram no gênero *Laurencia*.

Garbary & Harper (1998) realizaram uma análise cladística de 29 espécies do complexo *Laurencia* usando 36 características morfológicas vegetativas e reprodutivas. Três clados monofiléticos correspondendo ao gênero *Osmundea*, ao subgênero *Laurencia* e ao subgênero

Chondrophyucus foram resolvidos, confirmando o status genérico de *Osmundea* e de *Laurencia*. Com base nesses resultados, os autores propuseram a elevação do subgênero *Chondrophyucus* ao nível genérico [espécie tipo *C. cartilagineus* ['*cartilaginea*'] (Yamada) Garbary et J.T. Harper], caracterizado pela presença de duas células pericentraes por segmento axial vegetativo, ausência de *corps en cerise* e de ligações secundárias entre as células corticais adjacentes (na maior parte das espécies), ramos espermatangiais do tipo tricoblasto, tetrasporângios formados a partir de uma célula pericentral particular com produção de células pericentraes adicionais férteis e tetrasporângios tipicamente arranjados em ângulo reto.

Nam (1999) reconheceu os três gêneros (*Laurencia*, *Osmundea* e *Chondrophyucus*) como categorias taxonômicas distintas, contudo, argumentou que alguns caracteres adotados por Garbary & Harper (1998) para a separação dos gêneros (presença ou ausência de ligações secundárias e de *corps en cerise*, arranjo dos tetrasporângios, formação ou não de células pericentraes adicionais no segmento tetrasporangial e padrão de ramificação dos talos) podem co-ocorrer em mais de um gênero. Nam (1999) redefiniu os três gêneros que foram circunscritos com base na combinação dos seguintes caracteres:

1) número de células pericentraes por segmento axial vegetativo:

Laurencia (4)

Chondrophyucus e *Osmundea* (2)

2) desenvolvimento dos espermatângios:

Laurencia e *Chondrophyucus* (tipo tricoblasto)

Osmundea (tipo filamento)

3) produção dos tetrasporângios:

Laurencia e *Chondrophyucus* (a partir de células pericentraes particulares)

Osmundea (ao acaso a partir das células corticais).

Nam (1999) ainda propôs uma nova circunscrição infragenérica para as espécies de *Chondrophyucus*, subdividindo o gênero em quatro subgêneros: *Chondrophyucus*, espécie tipo *C. cartilagineus* (Yamada) Garbary et J.T. Harper; *Kangjaewonia*, espécie tipo *C. kangjaewonii* (Nam et Sohn) Garbary et J.T. Harper; *Palisada* (Yamada) K.W. Nam, baseado na seção *Palisadae* de Yamada (1931), espécie tipo *C. palisadus* ['*palisada*'] (Yamada) K.W. Nam e *Yuzurua*, espécie tipo *C. poiteaui* (J. V. Lamouroux) K.W. Nam. Dentro do subgênero *Palisada*, Nam (1999) acomodou duas seções: *Palisadae* e *Papillosae* (J. Agardh) K.W. Nam e dentro do subgênero *Yuzurua*, as duas seções: *Yuzurua* e *Parvipapillatae*.

A seção *Articulatae* estabelecida por Zhang & Xia (1985) não foi mantida no novo sistema de Nam (1999), uma vez que a presença ou ausência de espessamentos lenticulares nas paredes das células medulares tem valor diagnóstico questionável para separação de seções (Saito & Womersley 1974, Masuda *et al.* 1998).

Mais recentemente, Nam (2006) fez um novo delineamento genérico do complexo *Laurencia* através em uma análise filogenética de 47 espécies procedentes de várias partes do mundo. Com base em 49 caracteres morfológicos vegetativos e reprodutivos, quatro clados maiores foram reconhecidos: *Laurencia*, o grupo *Chondrophyucus palisadus*, o grupo *C. cartilagineus* e *Osmundea*, cada um deles formando um grupo monofilético. Os resultados de Nam (2006) demonstraram que o gênero *Chondrophyucus* é parafilético e que o grupo *C. palisadus* deveria ser tratado como um gênero independente. Desta forma, Nam (2006) propôs o gênero *Palisada* baseado na seção *Palisadae* de Yamada (1931), com *Palisada robusta nomen novum* como espécie tipo, renomeada para evitar um tautônimo. No entanto, o nome genérico *Palisada* foi considerado inválido pela falta de diagnose latina ou de uma referência à uma diagnose latina previamente publicada. Igualmente as 19 novas combinações propostas por Nam (2006) foram consideradas invalidamente publicadas (CINB, Art. 43). O nome *Palisada* e as novas combinações foram validados em uma publicação posterior (Nam 2007).

A circunscrição do gênero *Palisada* dada por Nam (2006) inclui as seguintes características:

1) a primeira célula pericentral do segmento axial vegetativo é produzida abaixo da célula basal do tricoblasto (como em *Laurencia*) (Fig. 17);

2) a segunda célula pericentral no segmento tetrasporangial é sempre fértil, resultando em um eixo com apenas uma célula pericentral estéril;

3) a célula auxiliar no processo pós-fertilização mostra um padrão de desenvolvimento normal após a presumida fertilização;

4) os filamentos espermatangiais são produzidos a partir de um ramo lateral sobre a célula suprabasal do tricoblasto, o outro ramo permanece estéril (Fig. 19), exceto em *P. tumida* (Saito *et* Womersley) K.W. Nam (Nam & Saito 1995, Nam 1999);

5) o segmento que origina o procarpo é formado por quatro células pericentrais (Fig. 21), exceto em *P. poiteaui* (J.V. Lamouroux) K.W. Nam var. *poiteaui* e *P. poiteaui* var. *gemmifera* (Harvey) Senties, M.T. Fujii *et* Díaz-Larrea [Fujii *et al.* 1996, como *L. poiteaui* (J.V. Lamouroux) M. Howe e *L. gemmifera* Harvey].

O gênero *Chondrophyucus* (Tokida *et* Saito) Garbary *et* J.T. Harper *emend.* K.W. Nam se caracteriza por:

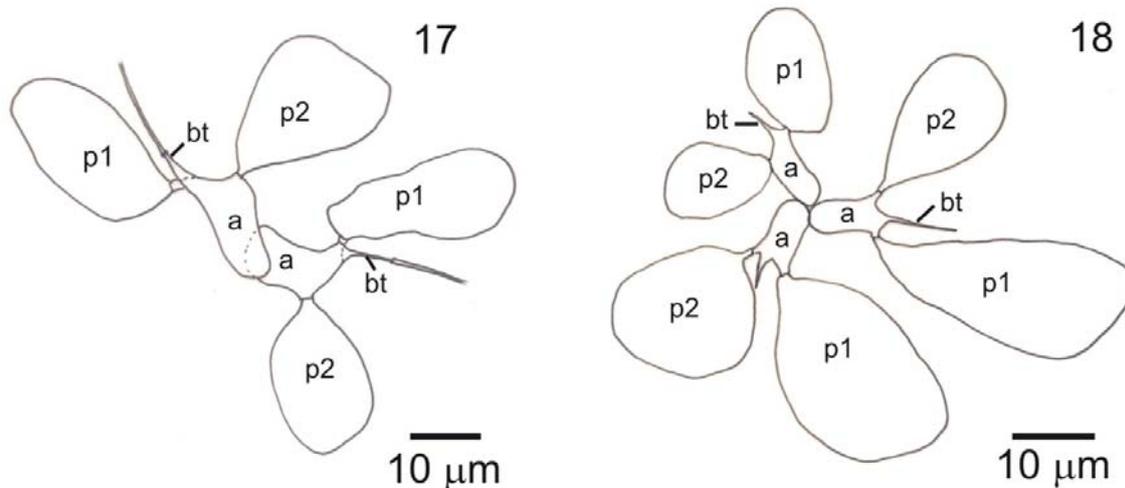
1) a primeira célula pericentral é produzida ao lado da célula basal do tricoblasto (como em *Osmundea*) (Fig. 18);

2) a segunda célula pericentral no segmento tetrasporangial nunca é fértil, resultando em um eixo com duas células pericentrais estéreis;

3) os filamentos espermatangiais são produzidos a partir dos dois ramos laterais sobre a célula suprabasal do tricoblasto, mas um deles permanecendo parcialmente estéril (Fig. 20);

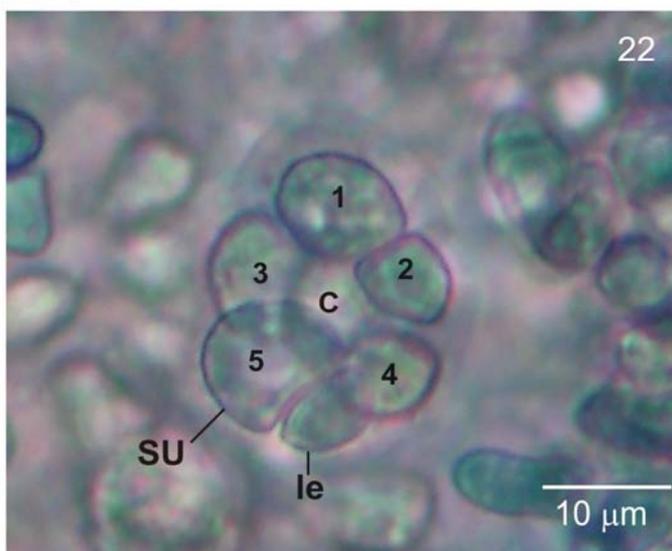
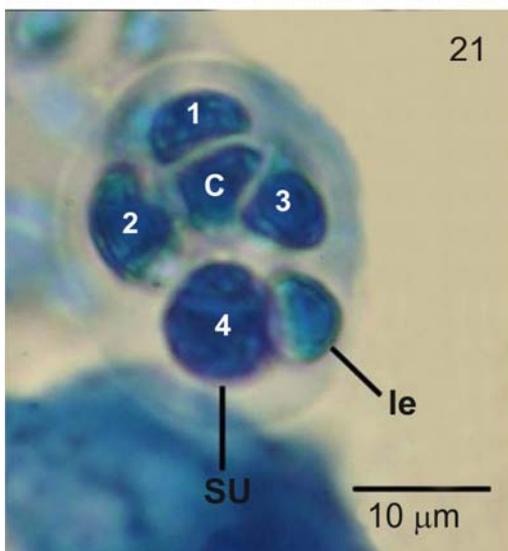
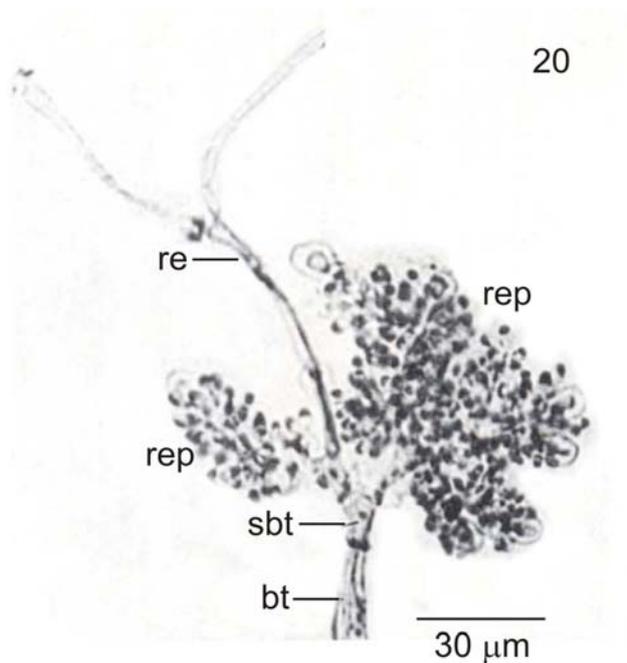
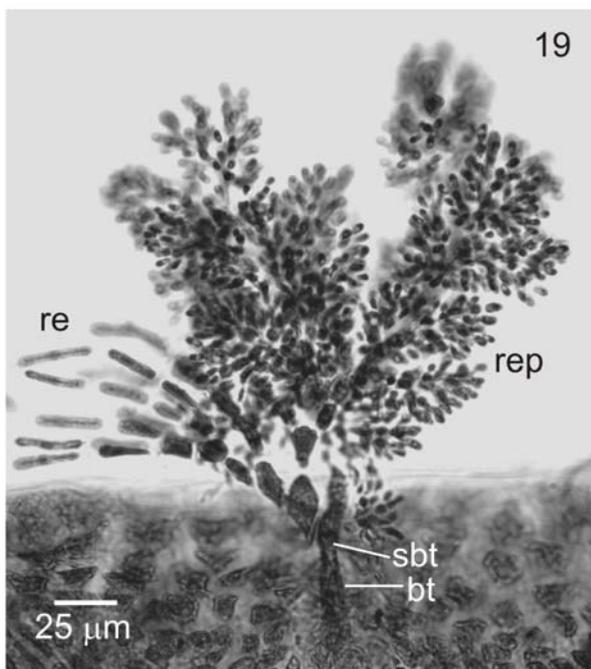
4) a célula auxiliar mostra, aparentemente, um padrão tardio de desenvolvimento embora, segundo Nam (2006), mais dados são requeridos para confirmação;

5) o procarpo é formado por cinco células pericentrais (Fig. 22).



Figs 17 e 18. Corte transversal próximo ao ápice de um ramo mostrando segmentos axiais vegetativos com célula axial (a) e duas células pericentrais (p1, p2). **Fig. 17.** Primeira célula pericentral (p1) produzida abaixo da célula basal do tricoblasto (bt). Típico de *Laurencia* e *Palisada*. **Fig. 18.** Primeira célula pericentral (p1) produzida ao lado da célula basal do tricoblasto (bt). Típico de *Chondrophycus* e *Osmundea*.

Os subgêneros estabelecidos por Nam (1999) foram acomodados por Nam (2006) da seguinte maneira: os subgêneros *Chondrophycus* e *Kangjaewonia* foram mantidos no gênero *Chondrophycus*, enquanto os subgêneros *Palisada* e *Yuzurua* foram transferidos para o gênero *Palisada*.



Figs 19 e 20. Ramos espermatangiais. **Fig. 19.** Ramos férteis (rep) produzidos a partir de um ramo lateral sobre a célula suprabasal o tricoblasto (sbt), o outro permanece estéril (re). Típicos de *Laurencia* e *Palisada*. **Fig. 20.** Ramos férteis (rep) produzidos a partir dos dois ramos laterais sobre a célula suprabasal do tricoblasto (sbt), um deles permanecendo parcialmente estéril (re). Típicos de *Chondrophyucus*. Célula basal do tricoblasto (bt). **Fig. 21.** Segmento que origina o procarpo formado por quatro células pericentrais, a quarta torna-se a célula suporte (SU) do ramo carpogonial. Típico de *Palisada*. **Fig. 22.** Segmento que origina o procarpo formado por cinco células pericentrais, a quinta torna-se a célula suporte (SU) do ramo carpogonial. Típico de *Laurencia*, *Chondrophyucus* e *Osmundea*. Célula lateral estéril (le). Fig. 20. Modificada de Nam (1999).

Atualmente, os gêneros e subgêneros reconhecidos no complexo são acomodados no seguinte sistema de classificação:

Gênero *Laurencia* J.V. Lamouroux

Subgênero *Laurencia*

Seção *Laurencia*

Seção *Forsterianae* Yamada

Gênero *Chondrophycus* (Tokida *et* Saito) Garbary *et* J.T. Harper

Subgênero *Chondrophycus* Tokida *et* Saito (sem ligações secundárias, duas células estéreis no segmento tetrasporangial - tetrasporângios produzidos somente por células pericentraes adicionais - tetrasporângios em ângulo reto)

Subgênero *Kangjaewonia* K.W. Nam (sem ligações secundárias, duas células estéreis no segmento tetrasporangial, tetrasporângios em paralelo)

Gênero *Palisada* (Yamada) K.W. Nam

Subgênero *Palisada* (Yamada) K.W. Nam (sem ligações secundárias, uma célula estéril no segmento tetrasporangial - tetrasporângios produzidos pela segunda pericentral e por pericentraes adicionais ou apenas pela segunda - tetrasporângios em ângulo reto)

Seção *Palisadae* Yamada (com células corticais em paliçada)

Seção *Papillosae* (J. Agardh) K.W. Nam (sem células corticais em paliçada)

Subgênero *Yuzurua* K.W. Nam (com ligações secundárias, uma célula estéril no segmento tetrasporangial, tetrasporângios em ângulo reto)

Seção *Yuzurua* (sem células corticais projetadas próximo ao ápice dos râmulos)

Seção *Parvipapillatae* K.W. Nam (com células corticais projetadas próximo ao ápice dos râmulos)

Gênero *Osmundea* Stackhouse

1.1.1. Estudo do complexo *Laurencia* no Brasil

Espécies do complexo *Laurencia* têm ampla distribuição no litoral brasileiro, estendendo-se do Ceará (Pinheiro-Joventino *et al.* 1998) ao Rio Grande do Sul (Baptista 1977), constituindo um elemento importante da flora ficológica brasileira (Oliveira Filho 1969, 1977, Fujii 1990, Fujii & Senties 2005). As primeiras referências sobre o complexo *Laurencia* no Brasil foram feitas por pesquisadores estrangeiros como Saint-Hilaire (1833), Martens (1870, 1871) e Möbius (1889) através de listagens de material coletado em diferentes pontos do país (Fujii & Senties 2005). A maior parte das espécies do complexo *Laurencia* reportada para o Brasil foi resultado de levantamentos florísticos (Joly 1957, 1965, Oliveira Filho 1969, Ugadim 1976, Baptista 1977, Pereira 1977, Cordeiro-Marino 1978, Pedrini 1980, Pedrini *et al.* 1989, Pedrini *et al.* 1992, Pedrini *et al.* 1994, Paes e Mello & Pereira 1990, Yoneshigue 1985, Falcão *et al.* 1992, Cocentino 1994, Figueiredo-Creed & Yoneshigue-Valentin 1997, Gustinari *et al.* 1998, Nunes 1998, Horta 2000, Széchy & Nassar 2005, Széchy *et al.* 2005), entre outros.

O estudo do complexo *Laurencia* no Brasil iniciou-se de forma sistemática a partir da década de 80 com o trabalho de Cordeiro-Marino *et al.* (1983). Em trabalho subsequente, Cordeiro-Marino & Fujii (1985) descreveram uma nova espécie para a ciência: *Laurencia catarinensis* Cordeiro-Marino *et* M.T. Fujii. Durante o estudo das macroalgas marinhas da região de Cabo Frio, RJ, Yoneshigue (1985) também descreveu uma espécie nova, *L. oliveirana* Yoneshigue. Posteriormente, vários trabalhos sobre as espécies desse complexo foram desenvolvidos por diferentes autores: Cordeiro-Marino *et al.* (1994), Fujii (1990, 1998), Fujii & Cordeiro-Marino (1996), Fujii & Villaça (2003), Yoneshigue *et al.* (2003), Fujii & Senties (2005), Fujii *et al.* (2005), Fujii *et al.* (2006), Cassano *et al.* (2006, 2009). Esses trabalhos levaram à descrição de novas espécies, citação de novas ocorrências para o Brasil e, sobretudo, revelaram detalhes da morfologia vegetativa e reprodutiva das espécies brasileiras. Precisamente a partir do trabalho de Fujii (1990) para o litoral do estado de São Paulo, os problemas taxonômicos referentes às espécies do complexo foram levantados e os critérios correntes empregados na taxonomia do grupo foram melhor esclarecidos, sendo identificados àqueles úteis para a determinação das espécies. Neste trabalho, Fujii (1990) reconheceu onze espécies, sendo elas: *L. arbuscula* Sonder, *L. intricata* J. V. Lamouroux (como *L. implicata* J. Agardh), *L. scoparia* J. Agardh, *L. oliveirana* Yoneshigue, *Palisada corallopsis* (Montagne) Senties, Fujii *et* Díaz (como *L. corallopsis* (Montagne) M.A. Howe), *P. flagellifera* (J. Agardh) K.W. Nam (como *L. flagellifera* J. Agardh) e *P. papillosa* (C. Agardh) K.W. Nam (como *L. papillosa* C. Agardh), além de quatro táxons aos quais não foram atribuídos epítetos

específicos, sendo designados como *Laurencia* sp.1, *Laurencia* sp.2, *Laurencia* sp.3 e *Laurencia* sp.4. Mais tarde, Cordeiro-Marino & Fujii in Cordeiro-Marino *et al.* (1994) descreveram uma terceira espécie, nova para a ciência, a partir de material brasileiro: *Chondrophycus furcatus* (Cordeiro-Marino *et* M.T. Fujii) M.T. Fujii *et* Senties, como *Laurencia furcata*. Posteriormente, *Laurencia* sp.1 foi descrita como uma nova espécie sob o epíteto *L. translucida* Fujii *et* Cordeiro-Marino (Fujii & Cordeiro-Marino 1996). As espécies *Laurencia* sp.2, *Laurencia* sp.3 e *Laurencia* sp.4 foram definidas por Fujii (1998) como formas de *L. filiformis*, sendo que *Laurencia* sp.2 corresponde à *L. filiformis* f. *dendritica sensu* Saito & Womersley (1974), *Laurencia* sp.3 à *L. filiformis* f. *heteroclada sensu* Saito & Womersley (1974) e *Laurencia* sp.4 à forma típica de *L. filiformis sensu* Saito & Womersley (1974). Fujii (1998) estudou aspectos morfológicos, quimiotaxonômicos e citogenéticos de quatro espécies do complexo *Laurencia*: *L. filiformis*, *L. translucida*, *Palisada flagellifera* (como *Laurencia flagellifera*) e *Chondrophycus furcatus*, representando quatro grupos taxonomicamente distintos. Fujii (1998) salientou que devido à enorme problemática na delimitação de espécies do complexo *Laurencia* do litoral brasileiro, principalmente em representantes de *Laurencia sensu stricto* que apresentam uma gama de variação inter- e intraespecífica, a identificação e separação das espécies baseadas unicamente em caracteres morfológicos tornam-se inviáveis. Desta forma, Fujii (1998) agregou ao estudo morfológico, dados químicos dos metabólitos secundários das espécies selecionadas e aprofundou os estudos citológicos iniciados por Fujii (1990) como ferramentas adicionais para a identificação das espécies. Fujii (1998) ainda avaliou os critérios morfológicos empregados na taxonomia do grupo visando estabelecer caracteres estáveis para uma determinação mais segura dos táxons.

Fujii & Senties (2005) compilaram as diversas citações das espécies do complexo *Laurencia* para o litoral do Brasil, totalizando 24 espécies reportadas até aquela data. Entretanto, os autores advertiram que alguns táxons citados na fase anterior ao desenvolvimento ficológico no Brasil, nunca foram recoletados e outros não tiveram suas exsiccatas examinadas para confirmação. Portanto, algumas espécies permanecem como citações duvidosas para o litoral brasileiro. Das vinte e quatro espécies listadas por Fujii & Senties (2005), 12 foram confirmadas para o Brasil (Tabela 1). As doze restantes não confirmadas ou foram reduzidas a sinônimos pelos autores ou não foram reencontradas nem examinadas por falta de material de referência em herbário, ou ainda por falta de descrições diagnósticas adequadas.

Para o estado do Rio de Janeiro foram referidas quatorze espécies do complexo, a maior parte delas citadas em levantamentos florísticos (Pedrini 1980, Pedrini *et al.* 1994, Yoneshigue 1985, Figueiredo-Creed & Yoneshigue-Valentin 1997, Gestinari *et al.* 1998, Fujii 1998,

Yoneshigue-Valentin *et al.* 2003, Figueiredo *et al.* 2004, Széchy & Nassar 2005). Destas, dez espécies pertencem ao gênero *Laurencia*: *L. arbuscula* Sonder, *L. catarinensis*, *L. filiformis*, *L. intricata* J.V. Lamouroux (como *L. implicata* J. Agardh), *L. majuscula* (Harvey) Lucas, *L. microcladia* Kützing, *L. obtusa* (Hudson) Lamouroux, *L. oliveirana* Yoneshigue, *L. scoparia* J. Agardh e *L. translucida*; três espécies pertencem ao gênero *Palisada*: *P. flagellifera*, *P. papillosa* (como *L. papillosa*) e *P. perforata* (Bory) K.W. Nam (como *Laurencia perforata* Bory) e uma espécie pertence ao gênero *Osmundea*, *O. lata* (M. Howe *et* W.R. Taylor) Yoneshigue-Valentin, M.T. Fujii *et* Gurgel, coletada em profundidade na região de Cabo Frio. Duas espécies, *Osmundea pinnatifida* (Hudson) Stackhouse [como *L. pinnatifida* (Hudson) J.V. Lamouroux] e *Palisada poiteaui* (J.V. Lamouroux) K.W. Nam [como *L. poiteaui* ('poitei') (Lamouroux) Howe] foram consideradas de ocorrência duvidosa para o Rio de Janeiro (Oliveira Filho 1977).

1.2. Filogenia Molecular

A identificação e delimitação de espécies de Rhodophyta são notoriamente difíceis devido à morfologia e anatomia relativamente simples e, em muitos casos, convergentes, grande plasticidade fenotípica e alternância de gerações heteromórficas no ciclo de vida (Saunders 2005). Devido a essas dificuldades, o emprego de caracteres morfológicos tem, em muitos casos, falhado em delimitar adequadamente gêneros e suas categorias infragenéricas e infraespecíficas, levando a constantes mudanças taxonômicas e nomenclaturais. Consequentemente, estudos de sistemática molecular têm sido cada vez mais empregados para identificar e delimitar espécies, inferir afinidades e relações filogenéticas entre organismos. A sistemática molecular tem se baseado, principalmente, na comparação de sequências de DNA que podem ser obtidas a partir de diferentes regiões genômicas (nuclear, mitocondrial e cloroplastidial). A análise da variação de sequências de DNA representa uma ferramenta poderosa com oportunidade sem precedentes para elucidar as relações e processos evolutivos entre as plantas (Soltis & Soltis 1998, Freshwater *et al.* 1999).

Sequências do gene *rbcL* têm sido amplamente utilizadas para inferir hipóteses filogenéticas em algas vermelhas, especialmente após os trabalhos de Freshwater & Rueness (1994) e Freshwater *et al.* (1994), quando foi demonstrado que esse gene apresenta nível de variação suficiente para ser informativo em estudos intergenéricos, inter- e intraespecíficos e para categorias taxonômicas superiores.

Tabela 1. Espécies do complexo *Laurencia* referidas para o Brasil¹.

Espécies	Referências
1. <i>Laurencia arbuscula</i> Sonder	Cordeiro-Marino (1978, como <i>L. microcladia</i>), Fujii (1990), Figueiredo-Creed & Yoneshigue-Valentin (1997), Nunes (1998), Széchy & Nassar (2005)
2. <i>L. caraibica</i> P.C. Silva*	Oliveira Filho & Ugadim (1974, como <i>L. pygmea</i>), Oliveira Filho (1977, como <i>L. pygmea</i>), Nunes (1998), Fujii & Villaga (2003)
3. <i>L. catarinensis</i> Cordeiro-Marino et M.T. Fujii*	Cordeiro-Marino & Fujii (1985), Figueiredo-Creed & Yoneshigue-Valentin (1997), Fujii & Senties (2005)
4. <i>L. clavata</i> Sonder	Oliveira Filho (1969, 1977), Paes e Mello & Pereira (1990)
5. <i>L. composita</i> Yamada	Oliveira Filho (1969, 1977), Paes e Mello & Pereira (1990)
6. <i>L. filiformis</i> (C. Agardh) Montagne*	Fujii (1998), Pereira et al. (2002), Pinheiro-Joventino et al. (1998), Pereira et al. (2005)
7. <i>L. heteroclada</i> Harvey	Oliveira Filho (1969, 1977)
8. <i>L. intricata</i> J.V. Lamouroux*	Baptista (1977, como <i>L. nana</i>), Fujii (1990), Széchy & Paula (1997, como <i>L. implicata</i>), Nunes (1998) Széchy et al. (2005), Amado Filho et al. (2006)
9. <i>L. microcladia</i> Kützing	Joly (1965), Oliveira Filho (1969, 1977), Cordeiro-Marino (1978), Pinheiro-Joventino et al. (1998), Figueiredo et al. (2004)
10. <i>L. obtusa</i> (Hudson) J.V. Lamouroux	Joly (1965), Oliveira Filho (1969, 1977), Pedrini (1980), Paes e Mello & Pereira (1990), Figueiredo-Creed & Yoneshigue-Valentin (1997), Pinheiro-Joventino et al. (1998)
11. <i>L. oliveirana</i> Yoneshigue*	Baptista (1977, como <i>Laurencia</i> sp.), Yoneshigue (1985), Fujii (1990), Nunes (1998), Amado Filho et al. (2006)
12. <i>L. scoparia</i> J. Agardh	Joly (1965), Oliveira Filho (1977), Fujii (1990), Széchy & Nassar (2005), Amado Filho et al. (2006)
13. <i>L. translucida</i> M.T. Fujii et Cordeiro-Marino*	Fujii & Cordeiro-Marino (1996), Fujii (1998), Nunes (1998), Pereira et al. (2002)
14. <i>L. venusta</i> Yamada*	Fujii et al. (2005)
15. <i>Chondrophycus furcatus</i> (Cordeiro-Marino et M.T. Fujii) M.T. Fujii et Senties*	Cordeiro-Marino et al. (1994), Fujii (1998), Nunes (1998), Pinheiro-Joventino et al. (1998), Pereira et al. (2002)
16. <i>Palisada corallopsis</i> (Montagne) Senties, M.T. Fujii et Díaz-Larrea*	Fujii (1990), Nunes (1998)
17. <i>P. flagellifera</i> (J. Agardh) K.W. Nam*	Oliveira Filho (1969, 1977), Cordeiro-Marino (1978), Pedrini (1980), Pedrini et al. (1989), Széchy et al. (1989), Fujii (1990, 1998), Paes e Mello & Pereira (1990), Cocentino (1994), Nunes (1998), Pinheiro-Joventino et al. (1998), Pereira et al. (2002), Széchy & Nassar (2005)
18. <i>P. papillosa</i> (C. Agardh) K.W. Nam *	Joly (1965), Oliveira Filho (1969, 1977), Pedrini (1980), Pedrini et al. (1989), Széchy et al. (1989), Fujii (1990), Paes e Mello & Pereira (1990), Cocentino (1994), Figueiredo-Creed & Yoneshigue-Valentin (1997), Nunes (1998), Pinheiro-Joventino et al. (1998), Brito et al. (2002), Pereira et al. (2002), Széchy & Nassar (2005)
19. <i>P. perforata</i> (Bory) K.W. Nam	Oliveira Filho (1969, 1977), Pedrini (1980), Széchy et al. (1989), Nunes (1998), Pereira et al. (2002)
20. <i>P. poiteaui</i> (J.V. Lamouroux) K.W. Nam var. <i>poiteaui</i> **	Oliveira Filho (1977)
21. <i>P. poiteaui</i> var. <i>gemmifera</i> (Harvey) Senties, M.T. Fujii et Díaz-Larrea**	Taylor (1960)
22. <i>Osmundea hybrida</i> (A.P. de Candole) K.W. Nam**	Oliveira Filho (1977)
23. <i>O. lata</i> (M. Howe et W.R. Taylor) Yoneshigue-Valentin, M.T. Fujii et Gurgel*	Oliveira Filho (1977), Horta (2000), Yoneshigue-Valentin et al. (2003)
24. <i>O. pinatifida</i> (Hudson) Stackhouse**	Oliveira Filho (1977)

¹ Modificada de Fujii & Senties (2005)

* Espécies confirmadas para o Brasil por Fujii & Senties (2005)

**Espécies de ocorrência duvidosa para o Brasil segundo Oliveira Filho (1977).

O *rbcL* tem sido frequentemente empregado no estudo da ordem Ceramiales (Nam *et al.* 2000, Lin *et al.* 2001, McIvor *et al.* 2002a, b, Abe *et al.* 2006, Barros-Barreto *et al.* 2006, Fujii *et al.* 2006, Díaz-Larrea *et al.* 2007, Díaz-Larrea 2008), assim como de outras ordens de algas vermelhas (Gelidiales: Freshwater *et al.* 1995; Gigartinales: Hommersand *et al.* 1994, Fredericq & Ramírez 1996, Fredericq *et al.* 1999; Hildenbrantiales: Sherwood & Sheath 2003 e Gracilariales: Gurgel & Fredericq 2004, Gurgel *et al.* 2003, 2008, Bellorin *et al.* 2008), gerando hipóteses filogenéticas confiáveis.

A região espaçadora da Rubisco (*rbcL-S*) tem sido utilizada em reconstruções filogenéticas, na diferenciação de gêneros e espécies morfológicamente relacionados e na comparação de padrões filogeográficos entre espécies (Destombe & Douglas 1991, Maggs *et al.* 1992, Goff *et al.* 1994, Zuccarello & West 1997, Zuccarello *et al.* 2002, Brodie *et al.* 1998, Kamiya *et al.* 1998, 2000, Seo *et al.* 2003, Díaz-Larrea 2008, Lewis *et al.* 2008). De acordo com Lee *et al.* (2001), as sequências não-codificantes do DNA podem ser úteis para comparação intraespecífica dentro de uma população e entre populações, uma vez que elas evoluem mais rapidamente do que as sequências de regiões codificantes. Entretanto, embora a região espaçadora *rbcL-S* tenha mostrado bons resultados em nível específico e populacional para determinados gêneros e espécies (Goff *et al.* 1994, Stache-Grain *et al.* 1997, Brodie *et al.* 1998, Zuccarello *et al.* 1999), ela tem se mostrado inadequada para outros, possivelmente pela insuficiência de sinal filogenético do marcador (Milstein 2006, Coimbra 2006). Por ser uma região curta, de tamanho variável, a quantidade de informações filogenéticas úteis é consideravelmente limitada e as relações entre os táxons nem sempre são bem resolvidas. Além disso, a ocorrência de indels dificulta a localização de sítios homólogos no alinhamento das sequências (Lee *et al.* 2001). A variação no tamanho desse marcador é de 64–114 pb em *Gracilaria* e *Gracilariopsis* (Goff *et al.* 1994), 77–87 pb em *Caloglossa* (Kamiya *et al.* 1998, 2000), 77 pb em *Porphyra* (Brodie *et al.* 1998, Milstein 2006), 100-108 pb em *Antithamnion*, *Platythamnion* e *Antithamnionella* (Lee *et al.* 2001), 93-132 pb no complexo *Laurencia* (Díaz-Larrea 2008, Lewis *et al.* 2008). Este fato tem levado autores a combinar em suas análises a utilização da região espaçadora com as regiões gênicas do *rbcL* e *rbcS* que a flanqueiam (Kamiya *et al.* 1998, 2000, Lewis *et al.* 2008), ou ainda, com outros marcadores (Brodie *et al.* 1998, Seo *et al.* 2003, Zuccarello *et al.* 2002).

O uso do *cox1* como marcador molecular para identificação de espécies e estudos filogenéticos de algas é muito recente. Apenas quatro trabalhos foram realizados usando a região 5' do *cox1* em Rhodophyta (Saunders 2005, Geraldino *et al.* 2006, Robba *et al.* 2006, Yang *et al.* 2007). O sucesso do *cox1* em animais levou Saunders (2005) a considerá-lo como

um potencial marcador para o uso de “barcoding” em algas vermelhas (Robba *et al.* 2006). São denominadas de “barcodes” sequências de marcadores moleculares que permitem a identificação de espécies, em analogia ao sistema de código de barras usado em produtos manufaturados (Stoeckle 2003). Os resultados obtidos por Saunders (2005) para complexos de espécies das ordens Gigartinales e Rhodymeniales mostraram que o *cox1* é um marcador apropriado para “barcoding” de Rhodophyta, e os trabalhos subsequentes realizados com outros grupos de algas vermelhas (Geraldino *et al.* 2006, Robba *et al.* 2006, Yang *et al.* 2007) corroboraram os resultados de Saunders (2005). De acordo com Yang *et al.* (2007), o *cox1* pode ser usado para a identificação de espécies, filogeografia, resolução de estrutura de populações e em conservação de espécies.

Estudos filogenéticos do complexo *Laurencia* que levaram a maiores mudanças no sistema de classificação foram baseados exclusivamente em caracteres morfológicos (Garbary & Harper 1998, Nam 2006). Considerando o número elevado de espécies descritas para o complexo, a sua ampla distribuição mundial e a grande dificuldade envolvendo a taxonomia do grupo, ainda são relativamente poucos os trabalhos realizados com marcadores moleculares visando esclarecer as entidades taxonômicas e inferir suas relações filogenéticas. Cinco estudos sobre a filogenia molecular de espécies do complexo *Laurencia* foram publicados com base nas sequências do gene *rbcL* (Nam *et al.* 2000, McIvor *et al.* 2002a, Abe *et al.* 2006, Fujii *et al.* 2006, Díaz-Larrea *et al.* 2007), a maior parte deles buscando inferir relações filogenéticas entre espécies de um mesmo gênero ou avaliando o posicionamento taxonômico de espécies particulares. Recentemente, Díaz-Larrea (2008) realizou um estudo mais amplo sobre a sistemática molecular do complexo *Laurencia* no Caribe mexicano baseado em sequências do gene *rbcL*, do espaçador *rbcL-S* e do SSU rDNA que codifica o rRNA da subunidade pequena do ribossomo (“small subunit rRNA gene” - 18S). Lewis *et al.* (2008) realizaram uma análise molecular preliminar de cinco espécies do complexo *Laurencia* provenientes das Ilhas Canárias, Espanha baseada no espaçador *rbcL-S* e no rDNA nuclear (ITS1 e ITS2, espaçadores transcritos internos – “internal transcribed spacers” e no gene 5.8S).

Nam *et al.* (2000) realizaram análises filogenéticas das cinco espécies de *Osmundea* que ocorrem no Atlântico europeu e avaliaram o significado filogenético de caracteres morfológicos comparados com moleculares. Neste estudo foi confirmado pela primeira vez, por dados moleculares, o *status* genérico de *Osmundea*. As espécies de *Osmundea* foram separadas em dois clados pela presença ou ausência de ligações secundárias entre as células corticais, confirmando o significado filogenético desse caráter, considerado importante para taxonomia do complexo *Laurencia* desde o estudo de Saito (1967). McIvor *et al.* (2002a) ampliaram as

análises filogenéticas com o gênero *Osmundea* incluindo as espécies do Pacífico norte (as espécies californianas do “grupo *Spectabilis*”). Todas as espécies de *Osmundea*, oito analisadas das dezoito correntemente válidas, formaram um grupo monofilético separadas em dois clados representando diferentes áreas geográficas (Atlântico europeu e Pacífico norte), confirmando o padrão de distribuição geográfica disjuncto. As espécies do Atlântico europeu foram separadas em dois subclados com baixo suporte (Atlântico europeu e Mar Mediterrâneo) e, segundo os autores, isso pode demonstrar que esses dois grupos divergiram rapidamente em um curto período de tempo evolutivo.

Fujii *et al.* (2006) estudaram as afinidades filogenéticas de *Palisada flagellifera* (como *C. flagelliferus*) do Brasil com base em caracteres morfológicos e moleculares a partir de 32 sequências de espécies do complexo *Laurencia*. Seis espécies procedentes do Brasil foram sequenciadas nesse trabalho. Os dados moleculares claramente apoiaram a distinção dos gêneros *Laurencia*, *Palisada* (como *Chondrophycus*) e *Osmundea*, os quais formaram 3 clados monofiléticos sustentados por altos valores de bootstrap. A posição filogenética de *P. flagellifera* indicou que essa espécie é proximamente relacionada com o complexo *P. papillosa* (como *C. papillosus*), corroborando os dados morfológicos. Fujii *et al.* (2006) também verificaram o *status* taxonômico de outras espécies brasileiras. As espécies sequenciadas sob os nomes *Laurencia arbuscula*, *L. filiformis*, *L. cf. catarinensis* e *L. scoparia* não tiveram suas relações filogenéticas resolvidas devido à baixa variação genética entre elas, indicando que se tratam de uma única entidade taxonômica morfológicamente plástica. Os dados moleculares indicaram ainda que *Chondrophycus translucidus* pertence ao gênero *Laurencia*.

Abe *et al.* (2006) inferiram as relações filogenéticas de espécies do complexo *Laurencia* a partir de 32 sequências de *Laurencia*, *Chondrophycus sensu lato* e *Osmundea*. Igualmente, como nos resultados de Fujii *et al.* (2006), a monofilia de *Laurencia* e *Osmundea* foi confirmada por altos valores de bootstrap. Por outro lado, os autores verificaram que *Chondrophycus* é polifilético, sendo separado em dois clados: o grupo *Chondrophycus-1* que incluiu a espécie tipo do gênero, *C. cartilagineus* e o grupo *Chondrophycus-2* que incluiu as espécies pertencentes ao novo gênero *Palisada*, confirmando os resultados de Nam (2006).

Díaz-Larrea *et al.* (2007) realizaram estudos moleculares de duas espécies do Caribe mexicano morfológicamente relacionadas: *Palisada poiteaui* (J.V. Lamouroux) K.W. Nam [como *Chondrophycus poiteaui* (J.V. Lamouroux) K.W. Nam] e *P. gemmifera* (Harvey) K.W. Nam [como *C. gemmiferus* (Harvey) Garbary et J.T. Harper]. Com base na baixa variação genética encontrada entre as amostras (0,01-0,02%) e nas similaridades morfológicas entre os táxons, os autores reduziram *C. gemmiferus* à variedade de *C. poiteaui*, reconsiderando o

tratamento dado por Yamada (1931). A atualização nomenclatural para *Palisada* foi providenciada por Senties & Díaz-Larrea (2008).

Díaz-Larrea (2008) inferiu hipóteses filogenéticas a partir de 41 sequências de espécies de *Laurencia*, *Palisada* e *Osmundea*. Os resultados mostraram que o complexo é monofilético e, mais uma vez, a monofilia dos três gêneros foi sustentada por altos valores de suporte. As topologias mais estáveis e melhor resolvidas foram obtidas com sequências do 18S, seguidas do *rbcL* e da região espaçadora. Considerando os três marcadores utilizados por Díaz-Larrea (2008), maiores valores de divergência entre os táxons foram obtidos com a região espaçadora e com o *rbcL*, seguido do 18S. Resultado semelhante foi encontrado por Lewis *et al.* (2008) com maiores divergências obtidas para as regiões espaçadoras e menores para o gene 5.8S, conforme é esperado para regiões não-codificantes e codificantes do DNA, respectivamente.

Justificativa

Apesar dos vários estudos morfológicos realizados na costa brasileira sobre o complexo *Laurencia*, nenhum abrangeu de forma sistemática e detalhada as espécies do estado do Rio de Janeiro. A diversidade nesse estado é grande e o reconhecimento das espécies tem sido problemático e controvertido, pois muitas apresentam grande plasticidade morfológica e limites taxonômicos não definidos. É importante elucidar as posições taxonômicas dessas entidades com base nos caracteres morfológicos adotados atualmente. Há necessidade também de se ampliar o estudo molecular do complexo *Laurencia* iniciado por Fujii *et al.* (2006) incluindo as demais espécies brasileiras e do oceano Atlântico, utilizando-se diferentes marcadores moleculares.

Espera-se com esse estudo identificar e delimitar as espécies problemáticas e inferir hipóteses filogenéticas mais abrangentes sobre esse complexo.

Desta forma, os seguintes objetivos são propostos:

Objetivo geral

Realizar estudos taxonômicos e filogenéticos de espécies do complexo *Laurencia* baseados em caracteres morfológicos e moleculares.

Objetivos específicos

- Identificar e revisar as espécies citadas para o estado do Rio de Janeiro através do estudo morfológico detalhado das amostras coletadas, exame de material depositado em herbários e de sequências de DNA.
- Sequenciar e comparar os genes *rbcL* e *cox1* e a região espaçadora dos genes da Rubisco (*rbcL-S*) de espécies do complexo *Laurencia* para fins taxonômicos e filogenéticos.
- Analisar as relações filogenéticas entre os membros do complexo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Estudo morfológico

Espécimes do complexo *Laurencia* foram coletados entre 2004 e 2008 em diversos pontos do litoral do estado do Rio de Janeiro, tendo como limite sul o município de Parati (23°13'15"S, 44°42'54"W) e como limite norte, o município de Rio das Ostras (22°31'33"S, 41°56'44"W) (Tabela 2). Coletas esporádicas realizadas em anos anteriores disponíveis no Departamento de Biologia Vegetal da Universidade do Estado do Rio de Janeiro e no Instituto de Botânica de São Paulo foram incluídas no estudo morfológico. Espécimes foram coletados da região entremarés de costões rochosos até uma profundidade de 5 m, crescendo epilíticamente ou como epífitos de outras macroalgas. Eventuais espécimes arribados à praia também foram estudados. Plantas vivas foram transportadas em frascos plásticos com água do mar para observação dos *corps en cerise*. O material destinado ao estudo morfológico foi preservado em formol a 4% em água do mar para a observação das características vegetativas e reprodutivas. Para o estudo morfo-anatômico, cortes foram feitos à mão livre utilizando-se lâmina de barbear, sob microscópio estereoscópico e corados com azul de anilina a 0,5%, acidificada com HCl 1N (Tsuda & Abbott 1985). Para cada espécime estudado foi feito um mínimo de 20 medidas de cada carácter morfométrico para um mínimo de 10 plantas escolhidas ao acaso, quando possível. As medidas são dadas em comprimento x diâmetro. A fotodocumentação de exemplares inteiros foi feita com câmera digital Sony W5. Detalhes das porções apicais de râmulos férteis e de características diagnósticas microscópicas foram feitos com a câmera digital acoplada ao microscópio estereoscópico (Stemi SV 6-Zeiss) e aos microscópios ópticos (Nikon Eclipse E-200 e Zeiss). Desenhos e representações esquemáticas de estruturas diagnósticas foram feitos com câmara clara (Nikon Eclipse E-200 e Zeiss) acopladas ao microscópio óptico.

A análise morfológica das plantas foi feita com base nos seguintes caracteres vegetativos e reprodutivos de acordo com Fujii (1990, 1998) e Nam (1999, 2006):

I. Caracteres vegetativos:

1. Observação do hábito, cor e textura dos talos
2. Tipo de fixação
3. Padrão de ramificação
4. Diâmetro dos eixos principais na porção mediana do talo
5. Forma, comprimento e diâmetro dos râmulos de última ordem
6. Presença ou ausência de *corps en cerise* em vista superficial de espécimes vivos
7. Forma, comprimento e diâmetro das células corticais, em vista superficial e em corte transversal na porção mediana do talo
8. Presença ou ausência de ligações secundárias entre as células corticais adjacentes, facilmente visível em vista superficial do talo ou em corte transversal ou longitudinal
9. Projeção das células corticais próximo ao ápice dos râmulos, em corte longitudinal mediano
10. Presença ou ausência de células corticais com arranjo em paliçada, em corte transversal ou longitudinal
11. Número de células pericentrais por segmento axial vegetativo, em corte transversal
12. Posição da primeira célula pericentral em relação ao tricoblasto, em corte transversal
13. Forma, comprimento e diâmetro das células medulares, em corte transversal na porção mediana do talo
14. Presença ou ausência de espessamentos lenticulares nas paredes das células medulares, visíveis em corte transversal ou longitudinal

II. Caracteres reprodutivos:

A. Plantas masculinas

1. Forma, comprimento e diâmetro dos ramos espermatangiais
2. Forma da depressão espermatangial
3. Tipo de desenvolvimento espermatangial (tricoblasto ou filamento), mais facilmente observado em corte longitudinal mediano
4. Forma, comprimento e diâmetro dos espermatângios
5. Posição do núcleo nos espermácios
6. Comprimento e diâmetro da célula vesicular estéril

7. Presença de ramos estéreis nos ramos espermatangiais

B. *Plantas femininas*

1. Número de células pericentraes no segmento que sustenta o procarpo
2. Forma e diâmetro dos cistocarpos
3. Proeminência do cistocarpo no talo
4. Protuberância do ostíolo no cistocarpo
5. Comprimento e diâmetro dos carposporângios

C. *Plantas tetraspóricas*

1. Comprimento e diâmetro dos ramos tetrasporangiais
2. Origem dos tetrasporângios (tricoblasto ou cortical), visível em corte longitudinal
3. Arranjo dos tetrasporângios (em paralelo ou em ângulo reto em relação ao eixo longitudinal do râmulo fértil), discernível em vista superficial ou em corte longitudinal mediano
4. Número de células pericentraes férteis por segmento axial, em corte transversal na porção apical dos râmulos
5. Presença ou ausência de células pericentraes adicionais por segmento reprodutivo, em corte transversal na porção apical dos râmulos
6. Presença ou ausência de fertilidade na segunda célula pericentral, em corte transversal na porção apical dos râmulos
7. Diâmetro dos tetrasporângios

Após o estudo morfológico, os exemplares foram herborizados segundo o método corrente em ficologia (Fidalgo & Bononi 1984). As exsiccatas foram depositadas no herbário “Maria Eneyda P. Kauffman Fidalgo” (SP) do Instituto de Botânica de São Paulo e duplicatas nos herbários do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (HRJ) e no Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (SPF). Para fins comparativos foram examinados materiais-tipo procedentes dos herbários da Universidade de São Paulo, da Universidade da Califórnia, Berkeley, EUA (UC), da Universidade de Hokkaido, Japão (SAP) e do Museu Botânico de Lund, Suécia (LD). Outros materiais de referência procedentes dos herbários do Jardim Botânico do Rio de Janeiro (RB), da Universidade de São Paulo, da Universidade de La Laguna, Tenerife, Ilhas Canárias (TFC), da Universidade de Michigan, EUA (MICH), da Universidade da Catania, Sicília, Itália (CAT) e do Herbário Estadual do Sul da Austrália (AD) foram examinados com o mesmo fim.

Tabela 2. Listagem dos locais de coleta das amostras utilizadas no estudo morfológico.

Localidade	Data	Coletor
Praia do Meio, Trindade, Parati, RJ 23° 22' 12,82"S, 44° 47' 16,48" W	08.02.2005	V. Cassano & J.B. de Carvalho
Praia da Lula, Parati, RJ* 23° 11' 47,42" S, 44° 37' 59,27" W	09.02.2005 30.12.2005 25.02.2007	V. Cassano V. Cassano V. Cassano
Praia Vermelha, Parati, RJ* 23° 11' 50,01"S, 44° 38' 32,47" W	09.02.2005 30.12.2005	V. Cassano V. Cassano
Ilha Comprida, Parati, RJ* 23° 11' 27,63"S, 44° 37' 20,05" W	09.02.2005 25.02.2007	V. Cassano V. Cassano
Ilha do Mantimento, Parati, RJ 23° 11' 10,35"S, 44° 39' 27,63" W	25.02.2007	V. Cassano
Praia da Sapeca, Parati, RJ 23° 10' 16,61"S, 44° 40' 34,19" W	30.12.2005	V. Cassano
Praia Brava, Angra dos Reis, RJ 23° 00' 22,32"S, 44° 28' 34,33" W	23.10.2004	V. Cassano
Praia das Gordas, Angra dos Reis, RJ 23° 01' 24"S, 44° 20' 06" W	02.2001 22.03.2004	M.T.M. Széchy M.T.M. Széchy
Praia do Tanguá, Angra dos Reis, RJ 23° 00' 37"S, 44° 21' 35,64" W	13.06.2004	V. Cassano & M.T.M. Széchy
Praia de Tanguazinho, Angra dos Reis, RJ 23° 01' 07,66"S, 44° 21' 37" W	23.06.2004	V. Cassano & M.T.M. Széchy
Praia da Baleia, Angra dos Reis, RJ 23° 01' 58,44"S, 44° 14' 15,19" W	23.06.2004	V. Cassano & M.T.M. Széchy
Ponta do Jangó, Angra dos Reis, RJ 23° 01' 49,47" S, 44° 21' 05,15" W	03.2005	M.T.M. Széchy
Ponta do Arame, Saco de Piraquara de Fora, Angra dos Reis, RJ 23° 00' 48,5"S, 44° 26' 38,1" W	21.01.2006 22.01.2006 12.12./2006	V. Cassano & M.T.M. Széchy V. Cassano & J.C. De-Paula V. Cassano, M.T.M. Széchy & M.T. Fujii
Ponta do Caiobá, Saco de Piraquara de Dentro, Angra dos Reis, RJ* 22° 59' 5,1" S, 44° 26' 4,3" W	23.10.2004 19.03.2005	V. Cassano A.P.A. Veloso
Ponta da Fortaleza, Saco de Piraquara de Dentro, Angra dos Reis, RJ* 22° 59' 37,7" S, 44° 25' 54" W	24.10.2004 22.08.2004 19.09.2004 20.03.2005 22.01.2006 14.12.2006	V. Cassano M.T.M. Széchy M.T.M. Széchy M.T.M. Széchy V. Cassano & J.C. De-Paula V. Cassano, M.T.M. Széchy & M.T. Fujii
Ilha de Itanhangá, Saco de Piraquara de Dentro, Angra dos Reis, RJ 22° 59' 30" S, 44° 24' 48" W	22.10.2004	B.L. Ignácio
Praia do Velho, Saco de Piraquara de Dentro, Angra dos Reis, RJ* 23° 01' 12" S, 44° 26' 12" W	30.07.2004 25.10.2004 15.07.2005 21.03.2005 22.01.2006 19.04.2006 20.07.2006 12.12.2006 15.12.2006 19.05.2007 19.03.2008	M.T.M. Széchy V. Cassano & J.C. De-Paula V. Cassano & J.C. De-Paula A.P.A. Veloso V. Cassano & J.C. De-Paula V. Cassano & J.C. De-Paula V. Cassano & J.C. De-Paula V. Cassano, M.T.M. Széchy & M.T. Fujii V. Cassano, M.T.M. Széchy & M.T. Fujii V. Cassano & D. Sudatti M.T. Fujii
Ilha Cataguazes, Angra dos Reis, RJ* 23° 01' 30,01" S, 44° 17' 04, 24" W	13.12.2006	V. Cassano, M.T.M. Széchy & M.T. Fujii
Ilha de São João, Angra dos Reis, RJ 23° 03' 16,10" S, 44° 18' 55,79" W	13.12.2006	V. Cassano, M.T.M. Széchy & M.T. Fujii
Ilha do Bonfim, Angra dos Reis, RJ* 23° 01' 23,28" S, 44° 19' 53,79" W	13.12.2006	V. Cassano, M.T.M. Széchy & M.T. Fujii
Ilha do Brandão, Angra dos Reis, RJ 23° 01' 48" S, 44° 24' 12" W	04.02.2003 18.05.2003	A.B. Ramos D.N. Moysés

Cont. Tabela 2

Localidade	Data	Coletor
Ilha do Brandão, Angra dos Reis, RJ 23° 01' 48" S, 44° 24' 12" W	10.10.2003	<i>D.N. Moysés</i>
	02.2004	<i>D.N. Moysés</i>
	20.06.2004	<i>D.N. Moysés</i>
	07.2004	<i>D.N. Moysés</i>
Ilha Peregrino, Angra dos Reis, RJ 23° 01' 31,7" S, 44° 17' 13,2" W	25.06.2008	<i>V. Cassano</i>
Ilha Cavaco, Angra dos Reis, RJ 23° 00' 48,7" S, 44° 16' 09,7" W	21.06.2008	<i>V. Cassano</i>
Saco do Céu, Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ 23° 06' 14,25" S, 44° 12' 36,26" W	25.02.2005	<i>V. Cassano & J.C. De-Paula</i>
Lagoa Azul, Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ* 23° 05' 06,28" S, 44° 14' 28,20" W	25.02.2005	<i>V. Cassano & J.C. De-Paula</i>
	29.07.2005	<i>V. Cassano & J.C. De-Paula</i>
Praia da Feiticeira, Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ 23° 07' 18,13" S, 44° 11' 22,41" W	25.02.2005	<i>V. Cassano & J.C. De-Paula</i>
	29.07.2005	<i>V. Cassano & J.C. De-Paula</i>
Ilha dos Macacos, Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ* 23° 04' 48,27" S, 44° 14' 15,78" W	25.02.2005	<i>V. Cassano & J.C. De-Paula</i>
	29.07.2005	<i>V. Cassano & J.C. De-Paula</i>
Praia da Júlia, Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ 23° 08' 27,46" S, 44° 09' 38,63" W	06.08.2002	<i>V. Cassano & J.C. De-Paula</i>
	19.05.2004	<i>V. Cassano & J.C. De-Paula</i>
Praia Preta, Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ 23° 07' 39,54" S, 44° 10' 17,96" W	19.05.2004	<i>V. Cassano & J.C. De-Paula</i>
	25.02.2005	<i>V. Cassano & J.C. De-Paula</i>
	29.07.2005	<i>V. Cassano & J.C. De-Paula</i>
Enseada do Bananal, Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ 23° 06' 62,36" S, 44° 14' 56,36" W	25.02.2005	<i>V. Cassano & J.C. De-Paula</i>
Praia Rasa, Armação dos Búzios, RJ* 22° 44' 00,32" S, 41° 57' 27,08" W	10.08.1994	<i>M.B. Barros-Barreto</i>
	01.02.1995	<i>M.B. Barros-Barreto</i>
	05.04.2002	<i>V. Cassano</i>
	14.06.2003	<i>V. Cassano</i>
	17.10.2004	<i>V. Cassano</i>
	13.01.2005	<i>V. Cassano</i>
	21.07.2005	<i>V. Cassano & J.C. De-Paula</i>
	24.07.2005	<i>V. Cassano & J.C. De-Paula</i>
	01.02.2006	<i>V. Cassano</i>
	27.07.2006	<i>V. Cassano</i>
07.07.2008	<i>V. Cassano & J.C. De-Paula</i>	
Praia de Manguinhos, Armação dos Búzios, RJ 22° 46' 05,12" S, 41° 54' 39,04" W	21.07.2005	<i>V. Cassano & J.C. De-Paula</i>
Praia do Forno, Armação dos Búzios, RJ* 22° 45' 42,55" S, 41° 52' 29,54" W	13.01.2005	<i>V. Cassano & J.C. De-Paula</i>
Praia do Perú, Cabo Frio, RJ 22° 51' 58,74" S, 41° 58' 53,33" W	31.12.2004	<i>J. Torres & L. Gestinari</i>
Prainha, Arraial do Cabo, RJ* 22° 57' 40,66" S, 42° 01' 13,18" W	27.07.2005	<i>V. Cassano & M.B. Barros-Barreto</i>
Ponta da Cabeça, Arraial do Cabo, RJ* 22° 58' 35,43" S, 42° 02' 02,57" W	07.07.2008	<i>V. Cassano & J.C. De-Paula</i>
Areias Negras, Rio das Ostras, RJ* 22° 31' 47,05" S, 41° 55' 33,63" W	03.08.2005	<i>V. Cassano & M.B. Barros-Barreto</i>
Praia da Joana, Rio das Ostras, RJ 22° 32' 10,89" S, 41° 56' 09,90" W	02.08.2005	<i>V. Cassano & M.B. Barros-Barreto</i>
Praia do Cemitério, Rio das Ostras, RJ* 22° 31' 53,71" S, 41° 56' 99,24" W	02.08.2005	<i>V. Cassano & M.B. Barros-Barreto</i>

* Locais que tiveram amostras sequenciadas para o estudo molecular.

2.2. Estudo Molecular

Espécimes do complexo *Laurencia* procedentes de 16 dos 39 pontos de coleta amostrados e listados na Tabela 2 foram utilizados no estudo molecular. Além do material do Rio de Janeiro, foram obtidas sequências de espécimes coletados em outras localidades, como Espírito Santo, São Paulo, Bahia, Rio Grande do Norte, Atol das Rocas, México, Cuba e Ilhas Canárias, Espanha (Tabela 3), totalizando 50 amostras sequenciadas. O material coletado foi triado no próprio local de coleta ou, quando possível, no laboratório, sob microscópio estereoscópico, para remoção das algas epífitas. Posteriormente, o material foi seco em papel toalha e desidratado com sílica gel, acondicionado em sacos plásticos e mantido sob refrigeração ou em temperatura ambiente.

Marcadores moleculares utilizados.

1) *rbcL* e espaçador *rbcL-S*

Nas algas verdes e plantas terrestres o gene que codifica a subunidade grande (*rbcL*) da ribulose-1, 5-bisfosfato carboxilase-oxigenase (Rubisco) está localizado no cloroplasto, enquanto o gene que codifica a subunidade pequena (*rbcS*) está localizado no núcleo. Em outras algas, incluindo as algas vermelhas, ambos os genes estão no cloroplasto (Palmer 1985, Freshwater & Rueness 1994, Freshwater *et al.* 1994). O gene é longo (1467 pb) e não apresenta indels, o que evita ambiguidades no alinhamento das sequências e facilita o seu uso em análises filogenéticas (Freshwater & Rueness 1994, Freshwater *et al.* 1994, 1995, Fredericq *et al.* 1996).

A região espaçadora *rbcL-S* não codificante está localizada entre a subunidade grande (*rbcL*) e a subunidade pequena (*rbcS*) e o seu tamanho varia de 93-132 pb em *Laurencia*, *Osmundea* e *Palisada* (Díaz-Larrea 2008, Lewis *et al.* 2008).

2) *Cox1*

O gene mitocondrial *cox1* codifica a subunidade I da enzima citocromo c oxidase. O *cox1* é um segmento de DNA relativamente curto (710 pb), mas que se mostra informativo para identificação de espécies com uma taxa relativamente rápida de divergência. O gene é de herança haplóide, não contém introns que podem complicar a amplificação usando a técnica de PCR e apresenta poucos indels (Herbert *et al.* 2003, Stoeckle 2003, Saunders 2005). O uso potencial desse gene para “barcoding” em algas vermelhas foi proposto por Saunders (2005).

Extração de DNA. A extração de DNA total foi através do método CTAB, modificado de Doyle & Doyle (1987), excluindo a incubação final com RNase. Entre 20-40 mg de material desidratado em sílica gel foi macerado em nitrogênio líquido até a formação de um pó fino utilizando-se almofariz e pistilo de porcelana previamente congelados durante 24 horas. Após a maceração o pó foi adicionado a tubos de 1,5 µl (tipo Eppendorf) com 700 µl de tampão CTAB (água deionizada miliq, CTAB a 10%, NaCl a 5% de EDTA, PVP a 1% e 1 M de Tris-HCl com pH 8) e 14 µl de proteinase K (10mg/mL de proteinase K, Tris-EDTA a 10 mM, CaCl₂ a 20 mM e 50% de Glicerol) e incubados a 60°C por aproximadamente 40 min. Alternativamente, para espécies de *Laurencia* de pequenas dimensões e com pouco material desidratado, a maceração foi feita diretamente em tubos de 1,5 µl (tipo Eppendorf) e adicionado o tampão CTAB. Após a incubação foi adicionado à mistura 250 µl de acetato de potássio (KAc) 5 M, seguido de um período de incubação de 30 min a -20 °C. Em seguida, a mistura foi centrifugada a 12000 rpm a 4°C por 30 min, sendo a fase líquida recuperada. Para a purificação foram realizadas duas etapas com adição de igual volume de clorofórmio-álcool isoamil (24:1), seguidas de centrifugação a 13500 rpm, a temperatura ambiente. A precipitação foi realizada pela adição de isopropanol em volume igual a 80% do volume recuperado da purificação, seguido de uma incubação por 12h a -20°C. Após a incubação o material foi centrifugado a 12000 rpm, a 4°C por 20 min e todo o sobrenadante foi eliminado. Na fase final de extração, o material foi lavado com 250 µl de Etanol 70%, centrifugado a 12 rpm, a 4°C por 15 min e o sobrenadante foi eliminado novamente. O material foi seco em centrífuga a vácuo por aproximadamente 30 min e ressuspensionado em 50 µl de TE (Tris 10mM, pH 8 e EDTA). Alternativamente, algumas amostras tiveram seu DNA extraído com o “kit” de extração “Dneasy Plant Mini Kit” (Qiagen, Santa Clarita, EUA), de acordo com o protocolo do fornecedor.

Após a extração, o DNA total foi submetido à eletroforese em gel de agarose 0,7% e tampão tris-borato-EDTA (TBE: tris-HCl 50 Mm, borato 50Mm, EDTA 2Mm) e corado com brometo de etídio (Sambrook *et al.* 1989) para averiguação da qualidade e quantidade de DNA extraído. O gel foi carregado com as amostras de DNA e tampão de carregamento (azul de bromofenol 0,25%, xileno cianol 0,25%, EDTA 50Mm e glicerol 30%). O marcador de tamanho foi o 1Kb DNA Ladder (Invitrogen). O DNA no gel foi visualizado através de um transluminador UV, acoplado a um sistema de fotografia digital (Kodak). As amostras de DNA foram armazenadas a -20°C.

Tabela 3. Listagem das amostras sequenciadas neste estudo, incluindo dados de coleta, siglas utilizadas para identificação das sequências, número do voucher e tamanho, em pares de bases (pb), dos marcadores moleculares utilizados.

Espécies	Coleta	Voucher	rbcL	rbcL-S	cox1
<i>Chondria collinsiana</i> M.A. Howe (CCPR)	Praia Rasa, Armação dos Búzios, RJ, V. Cassano & J.C. De-Paula, 13.01.2005	SP399.865	1467	118	710
<i>Chondrophycus furcatus</i> M.T. Fujii et Cordeiro-Marino (CFPB)	Praia de Tambaú, PB, M.T. Fujii, 24.02.2004	SP399.928	1467	118	710
<i>Laurencia aldingensis</i> Saito et Womersley (LARJ)	Praia Rasa, Armação dos Búzios, RJ, V. Cassano & J.C. De-Paula, 13.01.2005	SP399.855	1467	118	710
<i>L. aldingensis</i> (LAES)	Ilhote de Ubu, Anchieta, ES, E. Stein, 30.06.2007	SP399.932	1467	118	710
<i>L. arbuscula</i> Sonder (LAPR)	Praia Rasa, Armação dos Búzios, RJ, V. Cassano & J.C. De-Paula, 24.07.2005	SP365.436	1467	85	710
<i>L. arbuscula</i> (LAAC)	Prainha, Arraial do Cabo, RJ, V. Cassano & M.B. Barros-Barreto, 27.07.2005	SP399.800	1467	85	710
<i>L. arbuscula</i> (LAAN)	Areias Negras, Rio das Ostras, RJ, V. Cassano & M.B. Barros-Barreto, 03.08.2005	SP399.801	1467	85	710
<i>L. caduciramulosa</i> Masuda et Kawaguchi (LCPV)	Praia do Velho, Angra dos Reis, RJ, V. Cassano & J.C. De-Paula, 19.04.2006	SP 371.294	1467	85	710
<i>L. caduciramulosa</i> (LCIG)	Ilha da Lagoa Azul, Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ, V. Cassano & J.C. De-Paula, 27.07.2005	SP365.680	1467	85	710
<i>L. caduciramulosa</i> (LCTE)	Punta del Higalgo, Tenerife, Ilhas Canárias, M.C. Gil-Rodríguez, M.T. Fujii, V. Cassano & J. Díaz-Larrea, 06.05.2008	TFC Phyc 14176	1467	118	710
<i>L. caraibica</i> P.C. Silva (LCAR)	Atol das Rocas, R. Villaça, 07.07.2002	SP399.940	1467	118	-
<i>L. filiformis</i> (C. Agardh) Montagne (LFPV)	Praia do Velho, Angra dos Reis, V. Cassano & J.C. De-Paula 20.07.2006	SP399.883	-	-	710
<i>L. filiformis</i> (LFPV1)	Praia do Velho, Angra dos Reis, V. Cassano, M.T. Széchy & M.T. Fujii, 12.12.2006	SP365.426	1467	85	710
<i>L. filiformis</i> (LFIC)	Ilha Cataguazes, Angra dos Reis, V. Cassano, M.T. Széchy & M.T. Fujii, 13.12.2006	SP365.427	1467	118	710
<i>L. filiformis</i> (LFPC)	Ponta do Caiobá, Angra dos Reis, V. Cassano, 24.10.2004	SP365.432	1467	118	710
<i>L. filiformis</i> (LFPL)	Praia da Lula, Parati, V. Cassano, 25.02.2007	SP399.804	1467	76	710
<i>L. filiformis</i> (LFPL1)	Praia da Lula, Parati, V. Cassano, 25.02.2007	SP399.804	1467	83	710
<i>L. filiformis</i> (LFPF)	Praia do Forno, Búzios, A. Oliveira, 10.03.2008	SP399.790	1467	118	710
<i>L. filiformis</i> (LFBA)	Praia Vilas do Atlântico, Lauro de Freitas, BA, A. Oliveira, 08.01.2008	SP399.927	1467	118	710

Cont. Tabela 3

Espécies	Coleta	Voucher	rbcL	rbcL-S	cox1
<i>L. intricata</i> J.V. Lamouroux (LIIB)	Ilha do Bonfim, Angra dos Reis, RJ, V. Cassano, M.T. Széchy & M.T. Fujii, 13.12.2006	SP371.785	1467	118	710
<i>L. intricata</i> (LIPF)	Ponta da Fortaleza, Angra dos Reis, RJ, V. Cassano, M.T. Széchy & M.T. Fujii, 14.12.2006	SP399.890	1467	77	710
<i>L. intricata</i> (LIPV)	Praia do Velho, Angra dos Reis, RJ, M.T. Fujii, 19.03.2008	SP399.895	1467	77	710
<i>L. intricata</i> (LIIC)	Ilha Comprida, Parati, RJ, V. Cassano, 25.02.2007	SP399.807	1467	118	710
<i>L. intricata</i> (LIES)	Ponta dos Castelhanos, Anchieta, ES, M.T. Fujii & V. Cassano, 05.10.2006	SP399.937	1467	87	710
<i>L. intricata</i> (LIRN)	Maracajaú, RN, M.T. Fujii & I. B. Silva, 24.06.2006	SP400112	1467	118	710
<i>L. intricata</i> (LICU)	Cayo Coco, Cuba, M.T. Fujii, 25.09.2005	SP365.669	1467	118	710
<i>L. intricata</i> (LITE)	El Pris, Tenerife, Ilhas Canárias, Espanha, M.C. Gil-Rodríguez, M.T. Fujii, V. Cassano & J. Díaz-Larrea, 04.05.2008	TFC Phyc. 14103	1467	118	710
<i>L. intricata</i> (LITE1)	Playa Paraíso, Tenerife, Ilhas Canárias, Espanha, M.C. Gil-Rodríguez, M.T. Fujii, V. Cassano & J. Díaz-Larrea, 05.05.2008	TFC Phyc. 14076	1467	118	710
<i>L. majuscula</i> (Harvey) A.H.S. Lucas (LMPV)	Praia do Velho, Angra dos Reis, V. Cassano & J.C. De-Paula, 20.07.2006	SP399.883	1467	85	710
<i>L. majuscula</i> (LMIM)	Ilha dos Macacos, Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ, V. Cassano & J.C. De-Paula, 29.07.2005	SP399.875	1467	85	710
<i>L. obtusa</i> (Hudson) J.V. Lamouroux (LOCF)	Ilha de Cabo Frio, RJ, D. Sudatti, 25.02.2007	SP399.926	1467	76	710
<i>L. obtusa</i> (LOPR)	Praia Rasa, Armação dos Búzios, RJ, V. Cassano, 01.02.2006	SP399.802	1467	85	710
<i>L. oliveirana</i> Yoneshigue (LOAC)	Ponta da Cabeça, Arraial do Cabo, RJ, V. Cassano & J.C. De-Paula, 07.07.2008	SP399.857	1467	118	710
<i>Laurencia</i> sp.1 (L1RJ)	Praia Rasa, Armação dos Búzios, RJ, V. Cassano & J.C. De-Paula, 13.01.2005	SP365.433	1467	118	710
<i>Laurencia</i> sp.1 (L1ES)	Ilhote de Ubu, Anchieta, ES, E. Stein, 30.06.2007	SP399.934	1467	118	710
<i>Laurencia</i> sp.2 (L2ES)	Ilhote de Ubu, Anchieta, ES, E. Stein, 30.06.2007	SP399.938	1467	118	710
<i>Laurencia</i> sp.3 (L3SP)	Ilha Vitória, SP, M.T. Fujii, 19.05.2008	SP399.939	1467	118	710
<i>Palisada flagellifera</i> (J. Agardh) K.W. Nam (PFAN)	Areias Negras, Rio das Ostras, RJ, V. Cassano & M.B. Barros-Barreto, 03.08.2005	SP399.864	1467	118	710
<i>P. flagellifera</i> (PLCM)	Praia do Cemitério, Rio das Ostras, RJ, V. Cassano & M.B. Barros-Barreto, 03.08.2005	SP399.941	1467	118	710

Cont. Tabela 3

Espécies	Coleta	Voucher	<i>rbcL</i>	<i>rbcL-S</i>	<i>cox1</i>
<i>P. papillosa</i> (C. Agardh) K.W. Nam (PPAN)	Areias Negras, Rio das Ostras, RJ, V. Cassano & M.B. Barros-Barreto, 03.08.2005	SP371.782	1467 EU256326*	118	710
<i>P. papillosa</i> (PPPB)	Praia Brava, Angra dos Reis, RJ, V. Cassano & J.C. De-Paula, 23.10.2004	SP371.779	1467	118	710
<i>P. papillosa</i> (PPTÉ)	Playa Paraíso, Tenerife, Ilhas Canárias, Espanha, M.C. Gil-Rodríguez, A. Senties & M.T. Fujii, 14.07.2006	TFC Phyc 13134	1467 EU256325*	118	710
<i>P. papillosa</i> (PPBC)	Todos Santos, Baja California, México, S. Fredericq, 24.10.1999	SP400113	-	-	599
<i>P. perforata</i> (Bory) K.W. Nam (PEPV)	Praia Vermelha, Parati, RJ, V. Cassano, 30.12.2005	SP371.774	1467 EU256331*	118	710
<i>P. perforata</i> (PEPL)	Praia da Lula, Parati, V. Cassano, 09.02.2005	SP371.775	1467	118	710
<i>P. perforata</i> (PEAN)	Areias Negras, Rio das Ostras, RJ, V. Cassano & M.B. Barros-Barreto, 03.08.2005	SP371.777	1467 EU256330*	118	710
<i>P. perforata</i> (PETE)	Puerto de la Cruz, San Telmo, Tenerife, Ilhas Canárias, Espanha, M.C. Gil-Rodríguez, A. Senties & M.T. Fujii, 14.07.2006	TFC Phyc 13132	1467 EU256329*	118	710
<i>Osmundea</i> cf. <i>pinatifida</i> (Hudson) Stackhouse (OPLP)	La Fajana de Barlovento, La Palma, Ilhas Canárias, Espanha, M.C. Gil-Rodríguez, 24.01.2008	TFC Phyc. 14019	1467	118	-
<i>O. truncata</i> (OTTE)	La Barranquera, Tenerife, Ilhas Canárias, Espanha, M.C. Gil-Rodríguez, M.T. Fujii, V. Cassano & J. Díaz-Larrea, 05.05.2008	TFC Phyc. 14087	1467	118	-
<i>Osmundea</i> sp. (OSTE)	La Barranquera, Tenerife, Ilhas Canárias, Espanha, M.C. Gil-Rodríguez, M.T. Fujii, V. Cassano & J. Díaz-Larrea, 05.05.2008	TFC Phyc. 14167	1467	86	-

* Número de acesso ao GenBank.

Amplificação e purificação dos marcadores moleculares. Os marcadores foram amplificados por PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) usando “primers” específicos conforme indicados na Tabela 4. O gene *rbcL* e o espaçador *rbcL-S* foram amplificados em três partes, usando as seguintes combinações de “primers”: FrbcLS – R753/R753a, F492/F492a – R1150/R1150a, F753/F753a – RrbcS, F993-RrbcS, estas duas últimas para incluir a região espaçadora. Os “primers” designados com a letra “a” (Tabela 4) foram modificados para este estudo devido à variação de nucleotídeos na região dos “primers” encontrada nos espécimes estudados. Os “primers” GAZF1 e GAZR1 foram utilizados para a amplificação do gene *cox1*. As condições de amplificação por PCR para um volume final de 50 µL foram: 1X tampão de PCR, 1.5 mM de MgCl₂, 0.2 mM de cada dNTP, 0.2 µM de cada “primer”, 2 ng de DNA e

1.25 U de *Taq* DNA polymerase (Promega Corp., Madison, WI, EUA). Amplificações também foram feitas usando-se o ‘kit’ PCR Master Mix (Promega Corp., Madison, WI, EUA) para um volume final de 25 µL nas seguintes condições: 1X Master Mix, 0.2 µM de cada ‘primer’ e 2 ng de DNA. A reação de PCR foi realizada em um termociclador GeneAmp PCR System 2400 (Applied Biosystems, Foster City, EUA).

Tabela 4. Relação de ‘primers’ direto (F) e reverso (R) para o *rbcL*, *rbcL-S* e *cox1* utilizados na PCR e sequenciamento.

‘Primer’	Sequência	Posição	Referência
FrbcL Start	5’-ATG TCT AAC TCT GTA GAA G-3’	inicial	Freshwater & Rueness (1994)
R 753	5’-GCT CTT TCA TAC ATA TCT TCC-3’	773	Freshwater & Rueness (1994)
R753a	5’-GCT CTT TCR TAC ATA TCY TC-3’ (r=a/g, y=c/t)	773	Freshwater & Rueness (1994); modificado para este estudo
R492	5’-CGA CAA AAT TTA TCC ATA CG-3’	511	Freshwater & Rueness (1994)
R492a	5’-CGT CAA AAT TTR TCC ATR CG-3’	511	Freshwater & Rueness (1994); modificado para este estudo
F753	5’-GGA AGA TAT GTA TGA AAG AGC-3’	753	Freshwater & Rueness (1994)
F753a	5’-GAR GAT ATG TAY GAA AGA GC-3’	754	Freshwater & Rueness (1994); modificado para este estudo
F492	5’-CGT ATG GAT AAA TTT GGT CG-3’	492	Freshwater & Rueness (1994)
F492a	5’-CGY ATG GAY AAA TTT GGA CG-3’	492	Freshwater & Rueness (1994); modificado para este estudo
R1150	5’-GCA TTT GTC CGC AGT GAA TAC C-3’	1171	Freshwater & Rueness (1994)
R1150a	5’-GCA TTT GRC CRC ART GAA TAC C-3’	1171	Freshwater & Rueness (1994); modificado para este estudo
F993	5’-GGT ACT GTT GTA GGT AAA TTW GAA GG-3’ (w=a/t)	993	Freshwater & Rueness (1994)
RrbcS Start	5’-GTT CTT GTG TTA ATC TCA C-3’	Início do <i>rbcS</i>	Freshwater & Rueness (1994)
GAZF1	5’-TCA ACA AAT CAT AAA GAT ATT GG-3’	1	Saunders (2005)
GAZR1	5’-ACT TCT GGA TGT CCA AAA AAY CA-3’	710	Saunders (2005)

Os ciclos da PCR variaram de acordo com a região a ser amplificada, conforme segue na Tabela 5.

Tabela 5. Ciclos de PCR utilizados para a amplificação dos marcadores moleculares.

Marcadores	Desnaturação Inicial	Desnaturação	Anelamento	Extensão	Extensão Final	Ciclos
<i>rbcL</i> e espaçador <i>rbcL-S</i>	94°C por 4'	94°C por 1'	40°C por 1'	72°C por 1:30"	72°C por 10'	35x da etapa 4 a 2
<i>Cox1</i>	94°C por 5'	94°C por 30"	45°C por 1'	72°C por 2"	72°C por 7'	34x da etapa 4 a 2

Após a reação os fragmentos de DNA amplificados foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 0,7% para verificação do tamanho e quantidade de DNA amplificado, conforme descrito acima.

Os fragmentos amplificados foram purificados usando o kit MicroSpinTMS-300 HR Columns (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, EUA) e GE Healthcare (Buckinghamshire, Inglaterra), conforme os protocolos fornecidos pelos fabricantes. A quantificação do DNA amplificado foi feita por uma estimativa visual, comparando a concentração do DNA amplificado e purificado com a concentração de DNA da banda de 1,6Kb do marcador “1Kb DNA ladder” (Invitrogen), seguindo as especificações fornecidas pelo fabricante.

Sequenciamento dos marcadores moleculares. As reações de sequenciamento foram realizadas com o kit “BigDyeTM Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction” (Applied Biosystems, Foster City, EUA), conforme o protocolo do fornecedor, usando os primers especificados na Tabela 4. Para cada reação de sequenciamento foram utilizados cerca de 40ng de DNA. A reação de sequenciamento foi feita no termociclador MiniCycler (MJ Research), com 40 ciclos a 96°C por 10 seg, 54°C por 20 seg e 60°C por 4 min. Após a reação, os fragmentos foram precipitados em isopropanol 65%, centrifugados e lavados em etanol 60% para remoção de resíduos que possam afetar a qualidade das sequências. As amostras foram sequenciadas no sequenciador automático ABI PRISMTM 3100 (Applied Biosystems).

Alinhamentos e inferência filogenética. As sequências geradas foram comparadas usando o algoritmo BlastN do banco de dados internacional GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). As sequências direta e reversa obtidas foram alinhadas manualmente usando o programa BioEdit (Hall 1999) para construção de uma sequência-consenso por cada amostra. Todos os alinhamentos foram revistos manualmente utilizando o cromatograma das sequências. As sequências-consenso obtidas foram alinhadas no Clustal W

(dentro do programa BioEdit) para a construção de matrizes para as análises filogenéticas. Todos os alinhamentos foram inspecionados manualmente.

As árvores filogenéticas foram construídas a partir alinhamentos das sequências obtidas neste estudo e das sequências disponíveis no GenBank (Tabela 6). Foram incluídas nos alinhamentos as espécies escolhidas como grupo externo: *Chondria collinsiana* M.A. Howe (sequenciada neste estudo), *C. dasyphylla* (Woodwar) C. Agardh, *Bostrychia radicans* (Montagne) Montagne *in* Orbigny, *Centroceras* sp. [como *C. clavulatum* (C. Agardh *in* Kunth) Montagne *in* Durieu de Maisonnneuve] e *Ceramium brevizonatum* H.E. Petersen.

As árvores foram construídas usando os métodos de distância (neighbor-joining, NJ), máxima parcimônia (MP), máxima verossimilhança (ML) e análise bayesiana. Os modelos evolutivos ótimos para as análises filogenéticas foram obtidos através dos programas Modeltest (Posada & Crandall 1998) e do MrModeltest 2.2 (Nylander 2004) usando o Akaike Information Criterion (AIC). Para MP, NJ e ML foi utilizando o programa PAUP 4.0b10 (Swofford 2002). A análise de MP foi realizada sob busca heurística com 2000 réplicas, com árvores iniciais obtidas pelo algoritmo “stepwise addition” (adição de sequências passo a passo) e rearranjadas por “branch-swapping: tree bisection-reconnection”. As análises de bootstrap (Felsenstein 1985) foram realizadas pelo algoritmo “full heuristic” com 2000 réplicas para MP e “stepwise addition” com 2000 réplicas para NJ e com 100 réplicas para ML. A análise bayesiana foi realizada através do programa MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck & Ronquist 2001). Duas corridas com quatro cadeias de MCMC foram realizadas com 4×10^6 gerações, com reamostragem a cada 100 gerações. Foram descartadas as primeiras 100.000 gerações como “burn-in”, determinado com a ajuda de um gráfico construído com as colunas de gerações e valores de máxima verossimilhança, no programa Excel 2007. Após eliminar as árvores associadas ao “burn-in”, uma árvore consenso foi construída para a análise do *rbcL* e região espaçadora e *cox1*.

Em todas as análises os gaps foram considerados como dados ausentes e o modelo evolutivo de substituição nucleotídica selecionado foi o GTR+I+G, onde se assume o modelo Geral de Reversão ao Longo do Tempo (GTR) com uma proporção de sítios Invariáveis (I) e distribuição gamma (G) para acomodar as diferentes taxas para sítios variáveis.

Tabela 6. Sequências usadas neste estudo para as análises filogenéticas obtidas do GenBank.

Espécies	Dados de coleta	Referência	No. de acesso no GenBank
<i>Bostrychia radicans</i> (Montagne) Montagne in Orbigny	EUA, Mississippi, St. Louis Bay, C.F.D. Gurgel, 11.02.1998	Lin <i>et al.</i> (2001)	AF259497
<i>Centroceras</i> sp. [como <i>C. clavulatum</i> (C. Agardh in Kunth) Montagne in Durieu de Maisonneuve]	EUA, Texas, Port Aransas, Redfish Bay, S. Fredericq & C.F.D. Gurgel, 18.05.1998	Lin <i>et al.</i> (2001)	AF259490
<i>Ceramium brevizonatum</i> H.E. Petersen	México, Yucatán, Bahía de Campeche, Laguna de Yulcapeten, C.F.D. Gurgel, 12.02.1998	Lin <i>et al.</i> (2001)	AF259491
<i>Chondria dasyphylla</i> (Woodwar) C. Agardh	EUA, Carolina do Norte, New Hanover Co., Wrightsville Beach	Freshwater <i>et al.</i> (1994)	U04021
<i>Chondrophycus patentirameus</i> (Montagne) K.W. Nam	Filipinas	Lluisma (não publicado)	AF489862
<i>C. thuyoides</i> (Kützing) Furnari	Filipinas	Lluisma (não publicado)	AF489863
<i>C. cf. thuyoides</i>	Espanha, Ilhas Canárias, Tenerife, Playa Paraíso, Gil-Rodríguez, M.T. Fujii & A. Senties, 14.07.2006	Gil-Rodríguez <i>et al.</i> (2009)	EF685998
<i>L. catarinensis</i> Cordeiro-Marino et M.T. Fujii	Brasil, Santa Catarina, Florianópolis, Prainha da Barra da Lagoa, P.A. Horta, 16.07.2008	-	***
<i>Laurencia filiformis</i> (C. Agardh) Montagne (como <i>L. arbuscula</i> Sonder)	Brasil, São Paulo, Ubatuba, Praia do Félix, M.T. Fujii, 31.08.2000	Fujii <i>et al.</i> (2006)	AF465810
<i>L. filiformis</i> (como cf. <i>catarinensis</i>)	Brasil, São Paulo, Ubatuba, Ilha Rapada, M. T. Fujii, 19.01.2001	Fujii <i>et al.</i> (2006)	AF465808
<i>Laurencia cf. filiformis</i>	Puerto Morelos, Quintana Roo, México, 2005	Díaz-Larrea (2008)	.*
<i>Laurencia cf. filiformis</i>	CRIP, Puerto Morelos, Quintana Roo, México, 2004	Díaz-Larrea (2008)	.*
<i>Laurencia cf. filiformis</i>	Isla Mujeres, Quintana Roo, México, 2006/ Isla Mujeres, México, 2006	Díaz-Larrea (2008)	.*
<i>L. cf. brongniartii</i>	Austrália, Tarcoala Beach, S. Fredericq, 1993	Díaz-Larrea (2008)	EF061654
<i>L. cf. brongniartii</i>	Taiwan, Makang Harbour, S. Fredericq, 11.07.1993	Fujii <i>et al.</i> (2006)	AF465814
<i>L. caraibica</i> P.C. Silva	México, Quintana Roo, Cancún, Isla Mujeres, A. Senties, 23.02.2006	Díaz-Larrea (2008)	EF658642*
<i>L. complanata</i> (Suhr) Kützing	África do Sul, KwaZulu-Natal, Port Edward, S. Fredericq & O. De Clerck, 08.07.2001	Fujii <i>et al.</i> (2006)	AF465813
<i>L. flexilis</i> Setchell	Filipinas	Lluisma (não publicado)	AF489860
<i>L. flexuosa</i> Kützing	África do Sul, S. KwaZulu- Natal Palm Beach, S. Fredericq, 07.02.2001	Fujii <i>et al.</i> (2006)	AF465815
<i>L. intricata</i> J.V. Lamouroux	México, Yucatán, Bahía de Campeche, C.F.D. Gurgel, 14.02.1999	Fujii <i>et al.</i> (2006)	AF465809
<i>L. intricata</i>	México, Quintana Roo, Puerto Morelos, Ojo de Agua, J. Díaz-Larrea & A. Senties, 16.04.2004	Cassano <i>et al.</i> (2009)	EF658644
<i>L. intricata</i>	México, Quintana Roo, Playa del Carmen, A. Senties, 2002	Díaz-Larrea (2008)	.*

Cont.Tabela 6

Espécies	Dados de coleta	Referência	No. de acesso no GenBank
<i>Laurencia intricata</i>	México, Quintana Roo, Puerto Morelos, 2004	Díaz-Larrea (2008)	-*
<i>Laurencia intricata</i>	Tulum, Quintana Roo, México. 2004	Díaz-Larrea (2008)	-*
<i>L. intricata</i>	EUA, Flórida, Long Key, Channel 5, B. Wysor & T. Frankovich, 10.12.1998	Fujii <i>et al.</i> (2006)	AY588410
<i>L. majuscula</i> (Harvey) A.H.S. Lucas	Espanha, Ilhas Canárias Tenerife, Puerto de la Cruz, M.C. Gil-Rodríguez, M.T. Fujii & A.Senties, 13.07.2006	Gil-Rodríguez <i>et al.</i> (2009)	EF686000
<i>L. marilzae</i> Gil-Rodríguez, A. Senties <i>et</i> M.T. Fujii	Espanha, Ilhas Canárias Tenerife Punta del Hidalgo, Bahía Izqda, Faro, M.C. Gil-Rodríguez, 6.10.2005	Gil-Rodríguez <i>et al.</i> (2009)	EF686003
<i>L. marilzae</i>	Espanha, Ilhas Canárias Tenerife, Playa Paraíso, M.C. Gil-Rodríguez, M.T. Fujii & A. Senties, 14 July 2006	Gil-Rodríguez <i>et al.</i> (2009)	EF686001
<i>L. marilzae</i>	Espanha, Ilhas Canárias Tenerife, Punta del Hidalgo, M.C. Gil-Rodríguez, 12.07.2006	Gil-Rodríguez <i>et al.</i> (2009)	EF686002
<i>L. natalensis</i> Kylin	África do Sul, KwaZulu-Natal, Palm Beach, S. Fredericq, 07.02.2001	Fujii <i>et al.</i> (2006)	AF465816
<i>L. obtusa</i> (Hudson) J.V. Lamouroux	Irlanda, County Donegal, Fanad Head	McIvor <i>et al.</i> (2002 a)	AF281881
<i>L. rigida</i> J. Agardh	Australia, Botany Bay, NSW	Zuccarello & West (2006)	AY920852
<i>L. translucida</i> M.T. Fujii <i>et</i> Cordeiro-Marino	Brasil, Espírito Santo, Marataízes, M.T. Fujii, 15.09.2001	Fujii <i>et al.</i> (2006)	AY588408
<i>L. venusta</i> Yamada	México, Quintana Roo, Puerto Morelos, Punta Brava, J. D. Larrea & A. Senties, 18.04.2004	Díaz Larrea <i>et al.</i> (2007)	EF061655
<i>L. viridis</i> Gil-Rodríguez & Haroun	Espanha, Ilhas Canárias Tenerife, Punta del Hidalgo, Roca Negra, M.C. Gil-Rodríguez, 6.10.2005	Gil-Rodríguez <i>et al.</i> (2009)	EF685999
<i>Laurencia</i> sp.4	Espanha, Ilhas Canárias Tenerife, Playa Paraíso, M.C. Gil-Rodríguez, M.T. Fujii & A.Senties, 14.07.2006	Gil-Rodríguez <i>et al.</i> (2009)	EF686004
<i>Laurencia</i> sp.5	México, Quintana Roo, Playa del Carmen. A. Senties, 2004	Díaz-Larrea (2008)	-*
<i>Laurencia</i> sp.5	Tulum, Quintana Roo, México, 2007.	Díaz-Larrea (2008)	-*
<i>Osmundea osmunda</i> (S. G. Gmelin) Nam	Irlanda, Co. Donegal, St. John's Point, C. Maggs, 12.10.1999	McIvor <i>et al.</i> (2002a)	AF281877
<i>Osmundea pinnatifida</i> (Hudson) Stackhouse	Irlanda, Co. Donegal, St. John's Point, C. Maggs, 12.10.1999	McIvor <i>et al.</i> (2002a)	AF281875
<i>O. pinnatifida</i>	France, Brittany, Penmarch	Lin <i>et al.</i> (2001)	AF259495
<i>O. pinnatifida</i>	Espanha, Ilhas Canárias, Tenerife, San Telmo, Puerto de la Cruz, M.C. Gil-Rodríguez, 07.10.2005	Cassano <i>et al.</i> (2009)	EF686005
<i>Osmundea oederi</i> (Gunnerus) G. Furnari [como <i>O. ramosissima</i> (Oeder) Athanasiadis]	Irlanda, Co. Donegal, St. John's Point, C. Maggs, 12.10.1999	McIvor <i>et al.</i> (2002a)	AF281880
<i>Osmundea sinicola</i> (Setchell & Gardner) K.W. Nam	EUA, California, Orange Co., Crescent Beach, S. Murray, 28.05.2002	Fujii <i>et al.</i> (2006)	AY588407

Cont.Tabela 6

Espécies	Dados de coleta	Referência	No. de acesso no GenBank
<i>O. spechabilis</i> (Postels et Ruprecht) K.W. Nam var. <i>spectabilis</i>	México, Baja California, Punta Santo Thomas, <i>M. Hommersand</i> , 02.07.1996	McIvor <i>et al.</i> (2002a)	AY172574
<i>O. splendens</i> (Hollenberg) K.W. Nam	México, Baja California, Bahia Colnett, Drift, <i>M. Hommersand & J. Hughey</i> , 02.07.1996	McIvor <i>et al.</i> (2002a)	AY172576
<i>O. truncata</i> (Kützing) K.W. Nam et Maggs	Irlanda, Co. Cork, Lough Hyne, <i>C. Maggs</i> , 11.11.1999	McIvor <i>et al.</i> (2002a)	AF281879
<i>Palisada corallopsis</i> (Montagne) Senties, M.T. Fujii et Díaz-Larrea	México, Quintana Roo, Cancún, Chaac-Mol Beach, <i>J. Díaz-Larrea & A. Senties</i> , 21.08.2005	Díaz-Larrea <i>et al.</i> (2007)	EF061646
<i>P. flagellifera</i> (C. Agardh) K.W. Nam	Brasil, São Paulo, Ubatuba, Praia Brava, <i>S.M.B. Guimarães & J. Domingos</i> , 25.05.2001	Fujii <i>et al.</i> (2006)	AF465804
<i>P. papillosa</i> (C. Agardh) K.W. Nam	Espanha, Ilhas Canárias, Tenerife, Playa Paraíso, <i>M.C. Gil-Rodríguez, A. Senties & M.T. Fujii</i> , 14.07.2006	Gil-Rodríguez <i>et al.</i> (2009)	EU256325
<i>P. papillosa</i>	México, Baja Califórnia, Todos Santos, <i>S. Fredericq</i> , 24.10.1999	Fujii <i>et al.</i> (2006)	AY588409
<i>P. papillosa</i>	Brasil, Espírito Santo, Marataízes, <i>M. T. Fujii</i> , 19.06.1997	Fujii <i>et al.</i> (2006)	AF465806
<i>P. papillosa</i>	EUA, Flórida, Old Dan's Reef, <i>S. Fredericq</i> , 08.04.1988	Fujii <i>et al.</i> (2006)	AF465807
<i>P. perforata</i> (Bory) K.W. Nam	México, Quintana Roo, Isla Mujeres, <i>A. Senties & M.C. Gil-Rodríguez</i> , 02.03.2007	Cassano <i>et al.</i> (2009)	EF658641
<i>Palisada poiteaui</i> (J.V. Lamouroux) K.W. Nam var. <i>gemmifera</i> (Harvey) Senties, M.T. Fujii et Díaz-Larrea	México, Quintana Roo, Puerto Morelos, Ojo de Agua, <i>J. Díaz-Larrea & A. Senties</i> , 16.04.2004	Díaz-Larrea <i>et al.</i> (2007)	EF061648
<i>P. poiteaui</i> var. <i>gemmifera</i>	México, Quintana Roo, Playa del Carmen, <i>J. Díaz-Larrea & A. Senties</i> , 17.04.2004	Díaz-Larrea <i>et al.</i> (2007)	EF061649
<i>P. poiteaui</i> var. <i>gemmifera</i>	Cuba, La Habana, Rincon de Guanabo, <i>J. Díaz-Larrea & A. A. Mallea</i> , 29.07.2005	Díaz-Larrea <i>et al.</i> (2007)	EF061650
<i>P. poiteaui</i> (J.V. Lamour.) K.W. Nam var. <i>poiteaui</i>	EUA, Florida, Long Key, Ocean Side, <i>S. Fredericq</i> , 1998	Díaz-Larrea <i>et al.</i> (2007)	EF061652
<i>P. poiteaui</i> var. <i>poiteaui</i>	México, Quintana Roo, Playa del Carmen, <i>J. Díaz-Larrea & A. Senties</i> , 15.03.2005	Díaz-Larrea <i>et al.</i> (2007)	EF061653

* Sequências gentilmente cedidas por J. Díaz-Larrea

** Sequência gentilmente cedida por P. A. Horta

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Estudo Morfológico

3.1.1. Sinopse dos táxons estudados (Saito 1967, Nam 1999, 2006, Wynne 2005)

Filo Rhodophyta

Subfilo Eurhodophytina

Classe Florideophyceae

Subclasse Rhodymeniophycidae

Ordem Ceramiales

Família Rhodomelaceae

Gênero *Laurencia* J.V. Lamouroux

Subgênero *Laurencia*

Seção *Laurencia*

Laurencia aldingensis Saito et Womersley

Laurencia catarinensis Cordeiro-Marino et M.T. Fujii

Seção *Forsterianae* Yamada

Laurencia caduciramulosa Masuda et Kawagushi

Laurencia dendroidea J. Agardh

Laurencia oliveirana Yoneshigue

Laurencia sp.1

Posição taxonômica incerta

Laurencia translucida M.T. Fujii et Cordeiro-Marino

Gênero *Palisada* (Yamada) K.W. Nam

Subgênero *Palisadae* (Yamada) K.W. Nam

Seção *Palisadae* Yamada

Palisada flagellifera (J. Agardh) K.W. Nam

Palisada perforata (Bory) K.W. Nam

3.1.2. Chave artificial dicotômica para a identificação dos táxons estudados

1a. Células corticais externas não pigmentadas sem ligações secundárias entre elas	<i>L. translucida</i>
1b. Células corticais externas pigmentadas com ou sem ligações secundárias	2
2a. Ligações secundárias presentes, células corticais não arranjadas em paliçada em corte transversal, quatro células pericentrais por segmento axial vegetativo, tetrasporângios com arranjo paralelo em relação ao ramo fértil	3
2b. Ligações secundárias ausentes, células corticais arranjadas em paliçada em corte transversal, duas células pericentrais por segmento axial vegetativo, tetrasporângios dispostos em ângulo reto em relação ao ramo fértil	8
3a. Plantas de pequeno porte, formando tufos intrincados em forma de almofadas, geralmente associadas à coralináceas articuladas	4
3b. Plantas de grande porte, nunca formando tufos intrincados	6
4a. Talos com abundantes cicatrizes deixadas pela queda de râmulos decíduos permanecendo apenas uma coroa de râmulos jovem próximo aos ápices dos eixos	<i>L. caduciramulosa</i>
4b. Ausência de râmulos decíduos e cicatrizes	5
5a. Ramificação unilateral pectinada com râmulos claviformes longos	<i>L. oliveirana</i>
5b. Ramificação alterna espiralada a irregular em ângulo aberto a reto	<i>L. catarinensis</i>
6a. Plantas densamente ramificadas desde a base, normalmente de contorno piramidal, segmento tetrasporangial com uma célula pericentral fértil	<i>L. dendroidea</i>
6b. Plantas esparsamente ramificadas de contorno não piramidal, segmento tetrasporangial com duas (a três) células pericentrais férteis	7
7a. Presença de abundantes espessamentos lenticulares nas paredes das células medulares	<i>Laurencia</i> sp.1

- 7b. Ausência de espessamentos lenticulares *L. aldingensis*
- 8a. Plantas densamente ramificadas com numerosos râmulos de última ordem papiliformes, segmento tetrasporangial com duas células pericentrais férteis, sendo uma adicional..... *P. perforata*
- 8b. Plantas esparsamente ramificadas, râmulos de última ordem não papiliformes, segmento tetrasporangial com três células pericentrais férteis, sendo duas adicionais *P. flagellifera*

3.1.3. Descrições dos táxons estudados

3.1.3.1. *Laurencia aldingensis* Saito et Womersley, *Australian Journal of Botany*, 22: 821, figs 1B-D, 7. 1974.

Holótipo: Herbário Estadual do Sul da Austrália (AD A44448). **Isótipo:** Universidade de São Paulo (SPF8501)!

Localidade-tipo: Sul da Austrália, Aldinga.

Figs 23-55.

Distribuição: Oceano Atlântico: Brasil: Espírito Santo (Carvalho *et al.* 2003, 2006), Rio de Janeiro (este estudo). **Oceano Pacífico: Austrália:** Aldinga, Venus Bay, Port Broughton e Port Turton (Womersley 2003).

Nome mal aplicado para o Brasil: *Laurencia obtusa* (Hudson) J.V. Lamouroux var. *divaricata* Yamada (Oliveira Filho, 1969: 180).

Plantas eretas em densos tufo de cor róseo-vinácea destacando-se as porções apicais róseas quando vivas, com até 10 cm de altura (Figs 23-25), crescendo como epífitas sobre outras macroalgas. Talos de consistência cartilaginosa flácida, aderindo bem ao papel de herbário quando secos. Fixação por meio de apressório discóide, ramos estoloníferos e ramos laterais basais descendentes que se aderem aos talos dos hospedeiros (Fig. 26). Eixos eretos cilíndricos com 670-790 µm de diâmetro na porção mediana do talo. Ramificação irregularmente alterna e arranjada espiraladamente, pouco densa, geralmente em ângulo aberto, com 2-3 (4) ordens de ramos. Ramos de primeira ordem com até 3 cm de comprimento com o mesmo padrão de ramificação do eixo principal. Râmulos de última ordem cilíndrico-alongados, simples ou compostos com 1000-2200 x 480-720 µm.

Em vista superficial, células corticais regularmente arranjadas em fileiras longitudinais e conectadas umas às outras por ligações secundárias orientadas longitudinalmente (Fig. 27). Células corticais poligonais a longitudinalmente alongadas com 25-75 x 27,5-50 μm , com um a dois *corps en cerise*, raramente três por célula (Fig. 28), e um por célula do tricoblasto (Fig. 29). Em corte longitudinal, células corticais não projetadas próximo ao ápice dos râmulos (Fig. 30). Em corte transversal, talo com uma a duas camadas de células corticais pigmentadas e quatro a cinco camadas de células medulares hialinas (Fig. 31). Células corticais quadráticas, com 30-50 x 27,5-42,5 μm não arranjadas como paliçada. Células medulares arredondadas a ligeiramente alongadas radialmente, aumentando de tamanho gradativamente em direção ao centro do talo, com 60-125 x 52,5-100 μm . Espaços intercelulares presentes no eixo principal. Cada segmento axial vegetativo produz quatro células pericentraes que são ligeiramente maiores que as células medulares circunvizinhas (Figs 32 e 53). No ápice dos ramos, a primeira célula pericentral é produzida abaixo da célula basal do tricoblasto (Fig. 54). Espessamentos lenticulares ausentes.

Plantas masculinas com ápices dos râmulos férteis claviformes caracteristicamente mais intumescidos que os demais, com 610-960 μm de diâmetro (Figs 33-35). Em corte longitudinal do râmulo, depressão espermatangial em forma de taça com uma fileira de células axiais discerníveis na base da depressão (Figs 36, 37). Râmulos masculinos com crescimento contínuo. Após a liberação dos espermácios, novos râmulos apicais férteis são formados em série sobre o anterior (Figs 34-36). Espermatângios produzidos por tricoblastos, originados da célula axial, formados em densos grupos de filamentos ramificados dicotomicamente. Dois ramos laterais são formados sobre a célula suprabasal do tricoblasto, um deles permanece estéril e o outro torna-se fértil, produzindo numerosos espermatângios (Fig. 38). Filamentos espermatangiais terminados em uma única célula vesicular estéril, com 12,5-20 x 10-17,5 μm ; espermatângios com um único espermácio ovóide, com 7,5-10 x 5 μm com um núcleo apical na extremidade de cada célula (Fig. 39).

Plantas femininas com procarpo desenvolvido a partir da célula basal do tricoblasto próximo à célula apical do râmulo. A célula axial fértil produz cinco células pericentraes em uma sequência alterna típica de Rhodomelaceae (Fig. 41a,b). A quinta célula pericentral torna-se a célula suporte do ramo carpogonial composto de quatro células (Fig. 41b). Durante a formação do procarpo dois grupos de células estéreis (basal e lateral) se desenvolvem a partir da célula suporte do ramo carpogonial do segmento fértil e contribuem para a formação do pericarpo (Figs 42-44). Após a fertilização, a célula suporte produz uma célula auxiliar que se funde com as células do ramo carpogonial e com a própria célula suporte formando uma grande

célula de fusão. A partir da célula de fusão formam-se filamentos gonimoblásticos que dão origem a carposporângios terminais, os quais liberam carpósporos por uma abertura apical, o ostíolo. Carposporângios cuneiformes alongados com 100-162,5 x 37,5-75 μm . Cistocarpos piriformes, proeminentes no talo, dispostos subapicalmente nos râmulos, com 590-850 μm de diâmetro, sem ostíolo proeminente (Figs 40, 45).

Ramos tetrasporangiais cilíndricos, geralmente compostos, com 1300-4000 μm x 570-700 μm (Figs 46, 47). No ápice de râmulos férteis, duas células pericentrais tornam-se férteis, a terceira e a quarta e, eventualmente, também a segunda, podendo permanecer vegetativa apenas a primeira pericentral (Figs 48, 49, 55). Cada célula pericentral fértil corta distalmente duas células pré-esporangiais de cobertura e a célula-mãe do tetrasporângio, em posição abaxial (Figs 50, 52); subsequentemente, uma célula pós-esporangial de cobertura é formada, que se divide contribuindo para a formação da corticação em volta do tetrasporângio (Figs 50, 55). Em vista superficial do râmulo fértil, as células pré-esporangiais de cobertura permanecem indivisas, sem ligações secundárias entre elas e estão alinhadas transversalmente em relação ao eixo do râmulo fértil. Os tetrasporângios são formados e deslocados da porção apical, em espiral no sentido horário, à medida que novos tetrasporângios são produzidos, conferindo um arranjo final do tipo paralelo em relação ao eixo do râmulo fértil (Fig. 51). Tetrasporângios tetraedricamente divididos, com 82,5-147,5 μm de diâmetro.

Habitat: Espécimes coletados em poças de maré no mesolitoral inferior em locais moderadamente expostos à ação das ondas, crescendo como epífitos, principalmente de *Cryptonemia seminervis* (C. Agardh) J. Agardh, *Laurencia translucida* M.T. Fujii et Cordeiro-Marino, *Laurencia* sp.1 e *Sargassum* spp.

Material examinado: Isótipo (SPF 8501), **Sul da Austrália:** Aldinga, 25.xi.1973, on *Sargassum decipiens* (R. Brown ex Turner) J. Agardh in shallow pools, near reef edge, H.B.S. Womersley (AD A44448); 16.i.1972 in a shallow pool, near the top of reef flat, Y. Saito (AD A41947). **Brasil: Rio de Janeiro:** Armação dos Búzios, Praia Rasa, 05.iv.2002, V. Cassano (SP399.854); 13.i.2005, planta masculina, feminina e tetraspórica, V. Cassano & J.C. De-Paula (SP399.855); 21.vii.2005, planta tetraspórica, V. Cassano & J.C. De-Paula (SP365.434); 07.vii.2008, planta masculina, feminina e tetraspórica, V. Cassano & J.C. De-Paula (SP399.856); 10.viii.1994, planta masculina e tetraspórica, M.B. Barros-Barreto (SP399.929); Ponta do Pai Vitório, 01.ii.1995, planta masculina, feminina e tetraspórica, M.B. Barros-Barreto (SP399.930); Rio das Ostras, Praia da Joana, 02.viii.2005, planta masculina e feminina,

V. Cassano & M.B. Barros-Barreto (SP399.931). **Espírito Santo:** Anchieta, Ilhote de Ubu, 30.vi.2007, planta masculina, *E. Stein* (SP399.932); Ponta dos Castelhanos, 01.vii.2007, *E. Stein* (SP399.933); **como *Laurencia obtusa* (Hudson) J.V. Lamouroux var. *divaricata* [*Laurencia divaricata*],** Praia de Ubu, 07.vii.1967, *E.C. Oliveira* (SPF50657).

Observações do material-tipo:

Laurencia aldingensis

Isótipos: SPF 8501, AD A44448.

Figs 56-64.

O material tipo de *L. aldingensis*, isótipos (AD A44448, fotografia do material tipo) e (SPF 8501) consiste em plantas de aspecto muito delicado com até 8,5 cm de altura (Figs. 56-58). O isótipo consultado (SPF 8501) contém três espécimes (masculino, feminino e tetraspórico) (Figs 59-63), apresentando talos com ramificação esparsa em ângulo aberto a reto, com 3 ordens de ramos, sendo os râmulos de última ordem cilíndricos, na maioria, simples (Figs 58-62). Em corte transversal, o talo apresenta quatro células pericentraes por segmento axial vegetativo (Figs 64, 65), registradas pela primeira vez para essa espécie. Espessamentos lenticulares não foram observados. Maiores detalhes da anatomia interna dos talos não puderam ser verificados pela dificuldade de reidratação do material que limita a confecção de bons cortes anatômicos.

Comentários

Laurencia aldingensis foi estabelecida por Saito & Womersley (1974) a partir de material coletado na Austrália. De acordo com os autores, a espécie é distinta por crescer formando massas emaranhadas ou tufos sobre algas fucóides em poças rasas de recifes, apresentando talo muito estreito, raramente maior que 0,5 mm de diâmetro. Além do hábito distinto, a espécie foi caracterizada pela presença de células corticais ligeiramente a distintamente projetadas próximo ao ápice dos râmulos e ausência de espessamentos lenticulares. Saito & Womersley (1974) apontaram a relativa proximidade de *L. aldingensis* com *L. intricata*, porém as espécies foram separadas pelos eixos e ramos robustos, ramos tetrasporangiais mais clavados e diferenças no habitat de *L. intricata* que cresce em costas rochosas expostas.

No Brasil, *Laurencia aldingensis* foi reportada pela primeira vez como *L. obtusa* (Hudson) J.V. Lamouroux var. *divaricata* Yamada por Oliveira Filho (1969) a partir de material

coletado no Espírito Santo, na Praia de Ubu, município de Ancheita. A análise desse material (SPF50657, Figs 65 e 66) confirmou a identificação desse táxon com os espécimes coletados no Rio de Janeiro e no Espírito Santo incluídos neste estudo e, neste último caso, na mesma localidade da coleta de Oliveira Filho (1969). Os espécimes compartilham o mesmo hábito, com ramificação frouxa e muitos ramos dispostos em ângulo aberto, ausência de espessamentos lenticulares e de células corticais projetadas. Os dados moleculares obtidos a partir do material do Rio de Janeiro e do Espírito Santo também confirmaram que se tratam da mesma entidade taxonômica, cujas sequências apresentaram 100% de identidade. As análises filogenéticas demonstraram também que *L. obtusa* do Atlântico Norte (Irlanda), região próxima à localidade-tipo (Inglaterra), não se agrupou com nenhum dos representantes do complexo *Laurencia* descritos para o Brasil (Fig. 437, pág. 262) sendo, portanto, equivocadas as citações de *L. obtusa* para o litoral brasileiro, como já mencionado por Fujii *et al.* (2006).

A designação de um táxon como *Laurencia aldingensis* foi feita pela primeira vez no Brasil por Carvalho *et al.* (2003, 2006), que identificaram quatro novos metabólitos secundários da classe dos terpenos (sesquiterpenos), a partir de material do Espírito Santo, cujos compostos parecem estar restritos a esta espécie.

Os espécimes brasileiros se aproximam dos descritos para a localidade-tipo pelo hábito, padrão de ramificação e ausência de espessamentos lenticulares, mas diferem pelo talo relativamente mais robusto e pela falta de células corticais projetadas no ápice dos ramos (Tabela 7). Dentre as espécies de *Laurencia* estudadas, *L. catarinensis* (incluindo amostras dessa espécie previamente identificadas por nós como *L. intricata* para o RJ, ES, RN e Ilhas Canárias, Espanha, figs 437-440, págs 262-268) é a que apresenta maior afinidade com *L. aldingensis*. *Laurencia catarinensis* difere dos espécimes brasileiros de *L. aldingensis* pelo hábito emaranhado, formando densas almofadas e pelas células corticais projetadas além da superfície do talo. Apesar dos talos de *L. aldingensis* da Austrália crescerem emaranhados sobre os hospedeiros, a análise do material tipo mostrou que o talo é essencialmente ereto. Embora morfologicamente *L. aldingensis* e *L. catarinensis* do Brasil sejam separadas com facilidade pelo hábito muito distinto, as análises filogenéticas mostraram que elas são molecularmente próximas se agrupando em todas as análises realizadas. As porcentagens de identidade entre as sequências foram altas, 99,1 a 99,5% para o *rbcL* e 98,1 a 98,4% para o *cox1* (Tab. 14, pág. 250). Por outro lado, *Laurencia intricata* de Cuba, que representa a localidade-tipo, designada como Antilhas, e do Golfo do México mostrou alta divergência genética e não se agrupou com os espécimes brasileiros de *L. aldingensis* e *L. catarinensis*/*L. intricata*. Esses dados indicam que *L. intricata* não ocorre no Brasil.

Tabela 7. Comparação morfológica entre *Laurencia aldingensis* Saito et Womersley e espécies relacionadas.

Espécies/ Características	<i>L. aldingensis</i>	<i>L. catarinensis</i>	<i>L. intricata</i>
Localidade-tipo	Austrália	Brasil	Antilhas
Referências	Saito & Womersley (1974) Womersley (2003)	Este estudo	Cordeiro-Marino & Fujii (1985) Este estudo
Habitat	Epífita, crescendo em poças rasas do mesolitoral inferior	Epífita, crescendo em poças rasas do mesolitoral inferior	Epilítica ou epífita, crescendo do mesolitoral inferior até 3 m de profundidade
Hábito	Massas mais ou menos emaranhadas sobre os hospedeiros	Ereto	Emaranhado em forma de almofada
Fixação	Apressórios pequenos e râmulos recurvados	Apressórios discóides, ramos laterais basais e estoloníferos	Apressórios discóides e hapteras na porção apical de ramos
Ramificação	Irregular, radial, normalmente esparsa	Irregular, radial, normalmente esparsa	Irregular, radial ou unilateral
Número de <i>corps en cerise</i> por célula cortical	-	1-2 (3)	2-3
Diâmetro do eixo principal (µm)	400-600	670-790	690-850
Projeção das células corticais	Ligeiramente a distintamente projetadas	Não projetadas	Ligeiramente a distintamente projetadas
Espessamentos lenticulares	Ausente	Ausente	Ausente
Posição das células pericentrais tetrasporangiais	-	(2 ^a) 3 ^a e 4 ^a	3 ^a e 4 ^a

No Rio de Janeiro, *L. aldingensis* teve sua distribuição restrita ao litoral norte do estado, sendo encontrada apenas nos municípios de Búzios e Rio das Ostras. No Brasil, até o momento, a espécie é referida apenas para a região sudeste do país, ocorrendo nos litorais do RJ e ES. Embora haja semelhanças morfológicas entre os espécimes brasileiros e os da localidade-tipo, a identificação de *L. aldingensis* para o Brasil é apenas uma tentativa, pois faltam análises de sequências de DNA de *L. aldingensis* da localidade-tipo para a confirmação de sua ocorrência no litoral brasileiro.

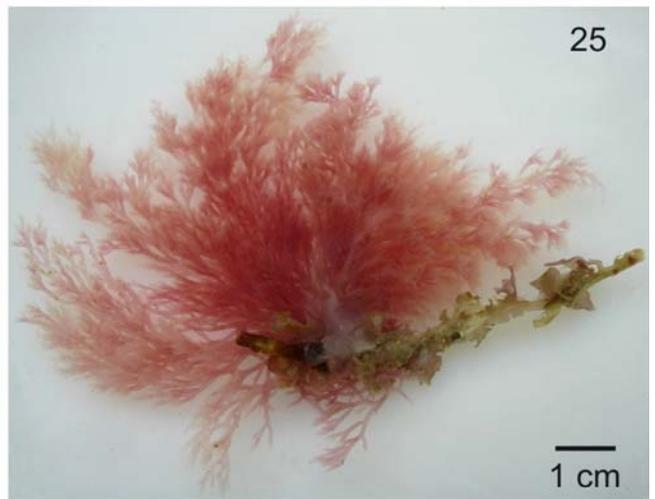
Figs 23-26. *Laurencia aldingensis* Saito et Womersley. Hábito das plantas.

Fig. 23. Planta masculina.

Fig. 24. Planta feminina.

Fig. 25. Planta tetraspórica epífita em *Cryptonemia seminervis* (C. Agardh) J. Agardh.

Fig. 26. Detalhe da base de um talo crescendo em *C. seminervis*. Note ramo aderido ao hospedeiro (seta).



Figs 27-32. *Laurencia aldingensis* Saito et Womersley.

Fig. 27. Vista superficial da porção mediana do talo mostrando células corticais com ligações secundárias (seta).

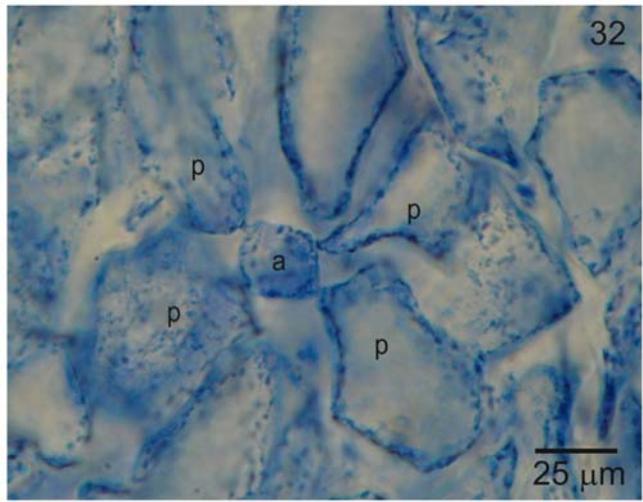
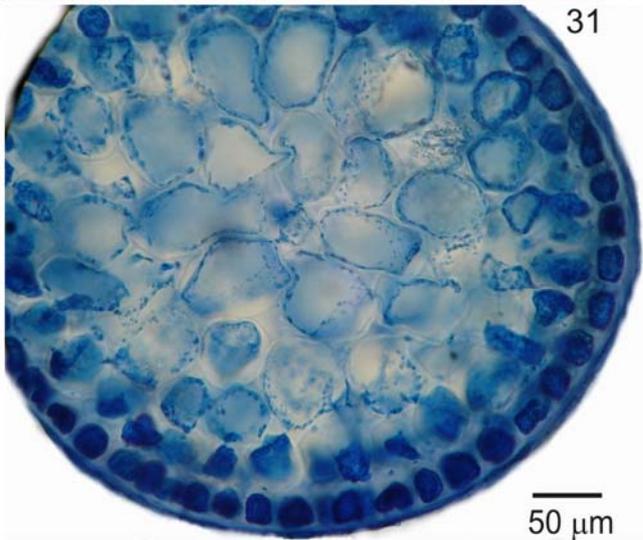
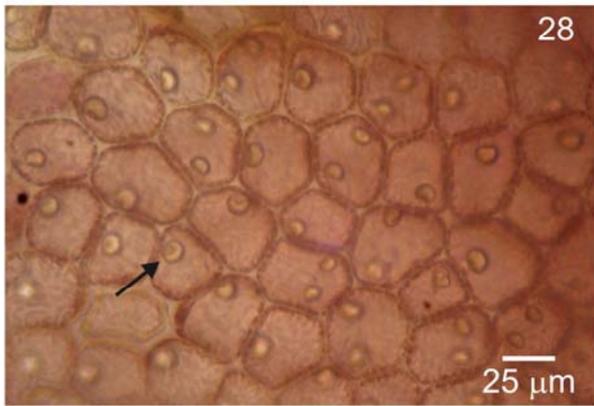
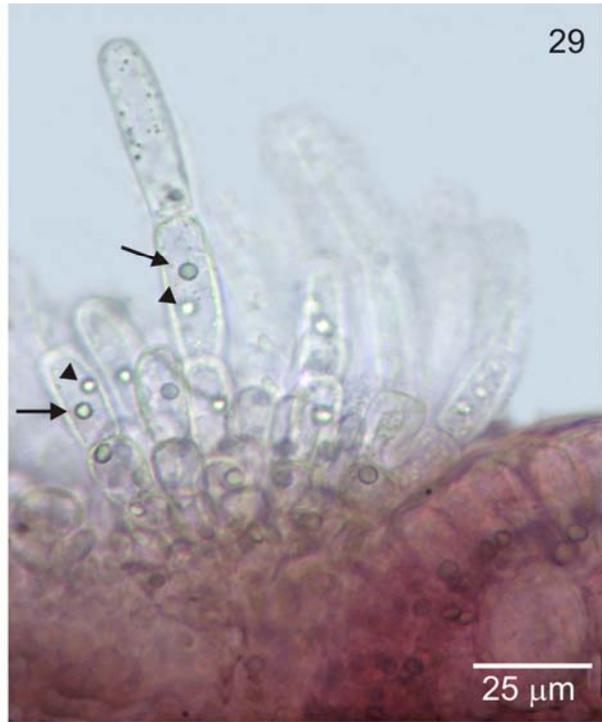
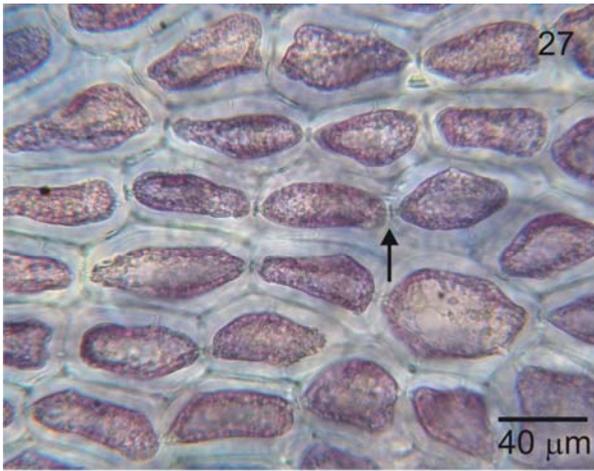
Fig. 28. Vista superficial das células corticais com 1 a 2 *corps en cerise* por célula (seta).

Fig. 29. Tricoblastos com um *corp en cerise* por célula (setas). Note núcleo da célula (ponta de setas).

Fig. 30. Corte longitudinal mediano do talo mostrando células corticais não projetadas próximo ao ápice dos ramos.

Fig. 31. Corte transversal do talo mostrando duas camadas de células corticais pigmentadas e três camadas de células medulares hialinas.

Fig. 32. Corte transversal da porção apical de um ramo mostrando célula axial cell (a) com quatro células pericentrais (p).



Figs 33-39. *Laurencia aldingensis* Saito et Womersley. Detalhe das plantas masculinas.

Figs 33-35. Porção apical com râmulos espermatangiais.

Fig. 33. Detalhe dos ramos espermatangiais.

Fig. 34. Ramos espermatangiais com crescimento contínuo.

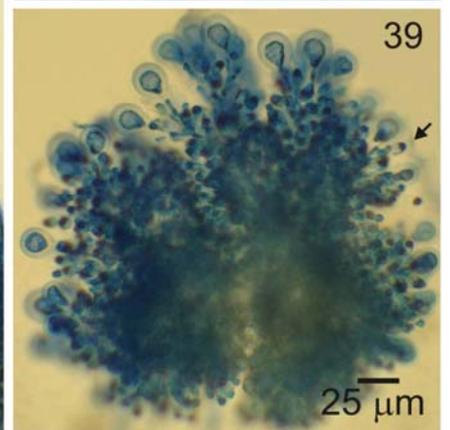
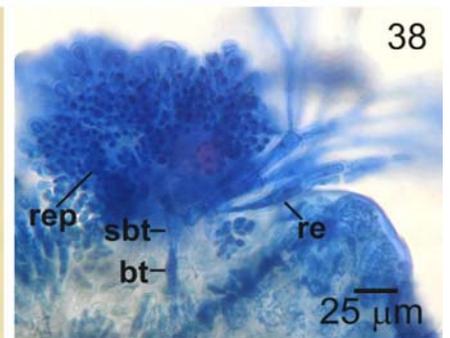
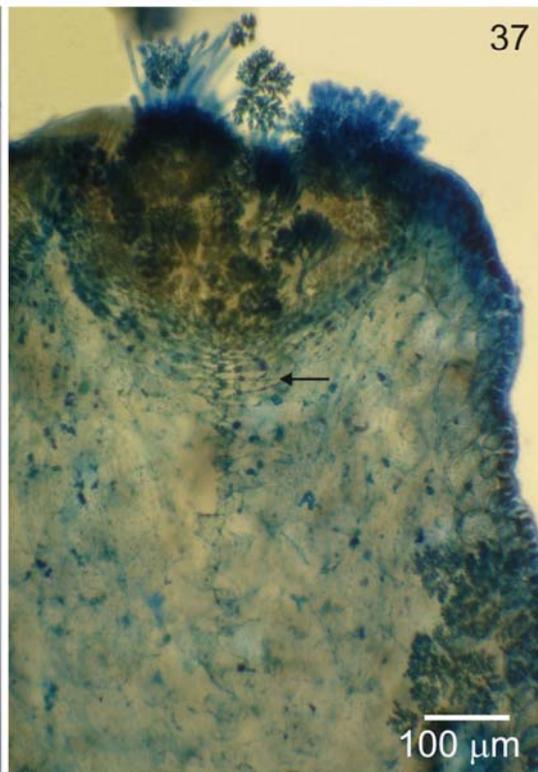
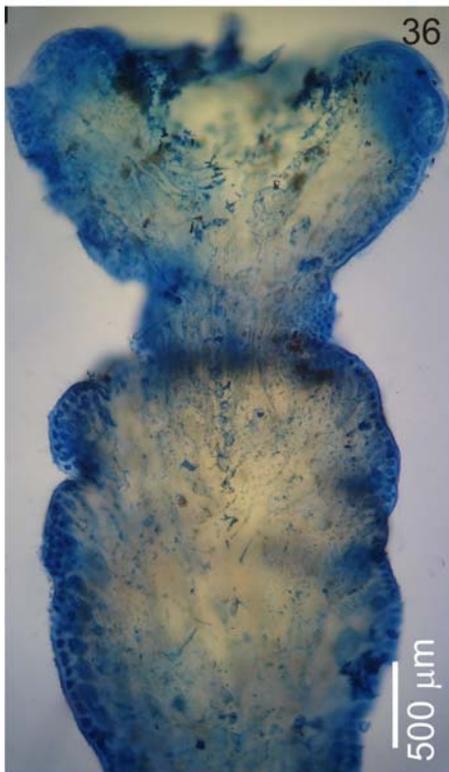
Fig. 35. Detalhe dos ramos espermatangiais com crescimento contínuo.

Fig. 36. Corte longitudinal de um râmulo espermatangial mostrando crescimento contínuo e depressão em forma de taça.

Fig. 37. Corte longitudinal de um râmulo com fileira de células axiais discerníveis na base da depressão espermatangial (seta).

Fig. 38. Detalhe do filamento espermatangial mostrando ramos férteis (rep) com espermatângios e ramos estéreis (re) originados da célula suprabasal do tricoblasto (sbt); célula basal do tricoblasto (bt).

Fig. 39. Detalhe dos filamentos espermatangiais com espermatângios portando espermácios com um núcleo na extremidade de cada célula (seta) e células vesiculares estéreis.



Figs 40-45. *Laurencia aldingensis* Saito et Womersley. Detalhe das plantas femininas.

Fig. 40. Detalhe de ramos com cistocarpos.

Figs 41-45. Sequência do desenvolvimento do procarpo.

Fig. 41a, b. Fases iniciais do desenvolvimento do procarpo.

Fig. 41a. Tricoblasto feminino que sustenta o procarpo com células pericentrais (1-4); célula central do segmento que origina o procarpo (c), célula basal do tricoblasto (bt).

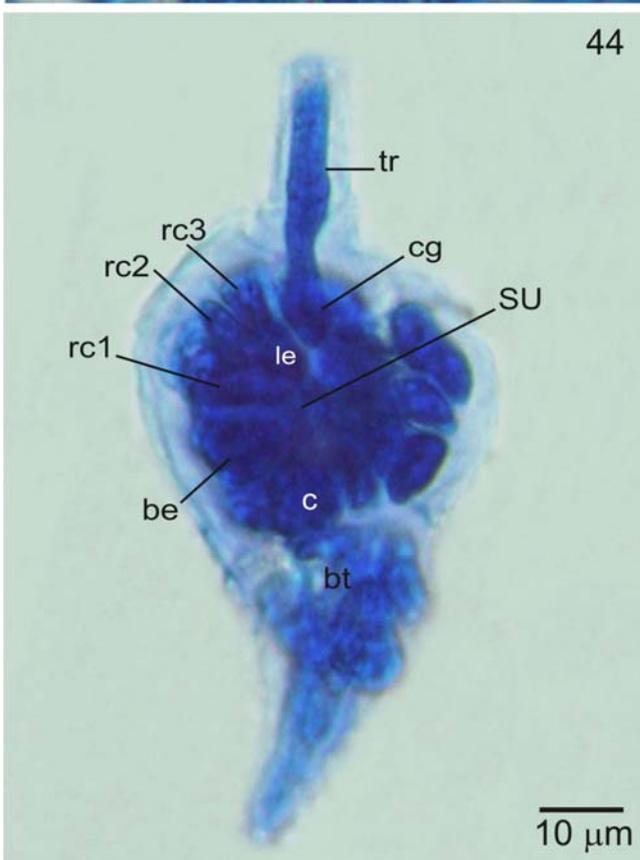
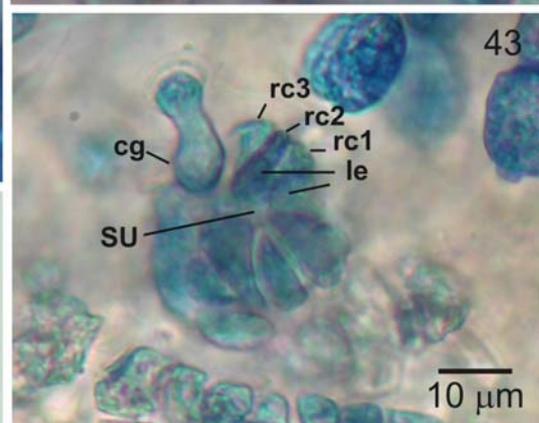
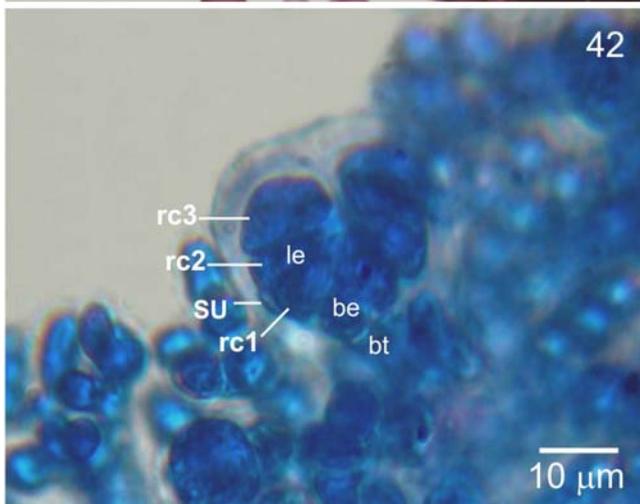
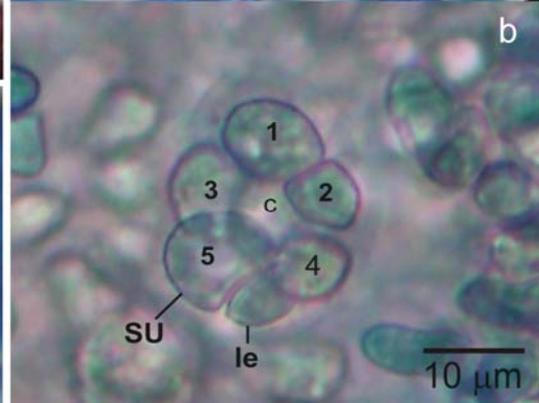
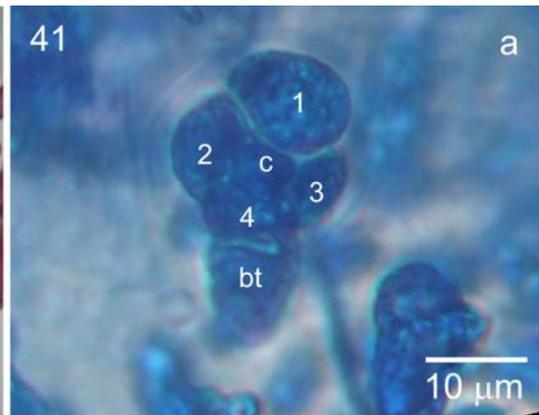
Fig. 41b. Fase subsequente mostrando procarpo com cinco células pericentrais, sendo a quinta a célula suporte (SU) do ramo carpogonial; célula inicial do grupo de células laterais estéreis (le).

Fig. 42. Início da formação do ramo carpogonial (rc1-3); célula inicial do grupo de células basais estéreis (be).

Fig. 43. Início da formação do carpogônio (cg).

Fig. 44. Procarpo desenvolvido antes da fertilização com ramo carpogonial com quatro células; tricogine (tr).

Fig. 45. Corte longitudinal de um râmulo feminino com cistocarpo proeminente.



Figs 46-52. *Laurencia aldingensis* Saito et Womersley. Detalhe das plantas tetraspóricas.

Fig. 46. Porção apical de ramo com râmulos tetrasporangiais.

Fig. 47. Detalhe dos râmulos com os tetrasporângios produzidos em espiral.

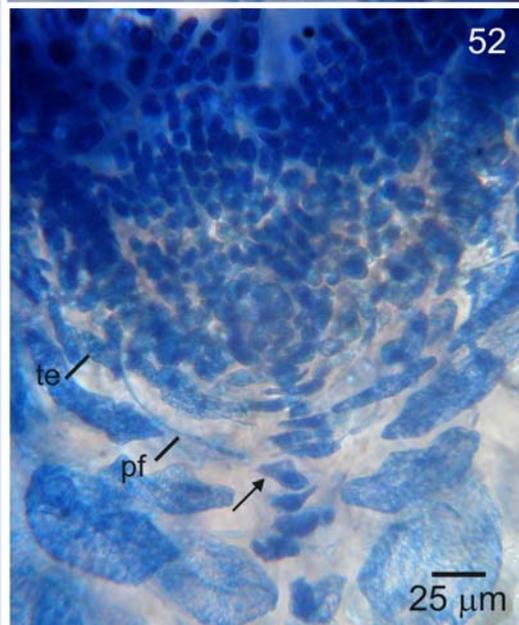
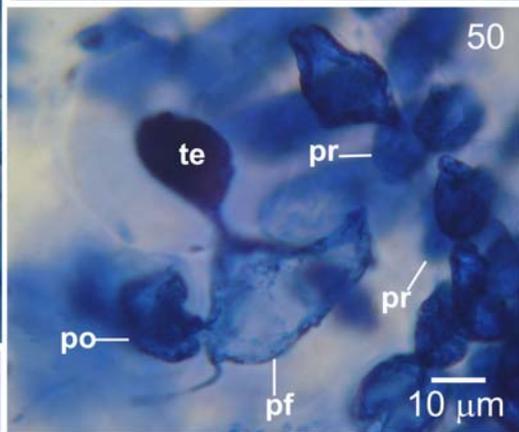
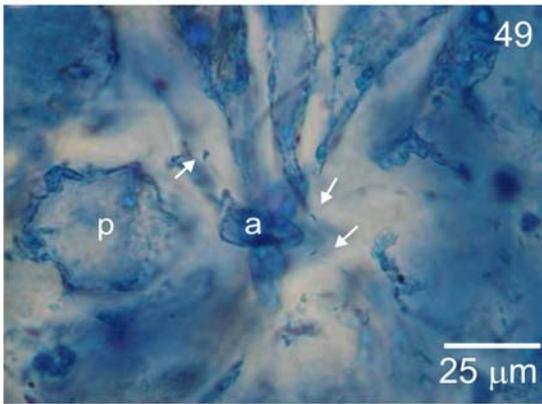
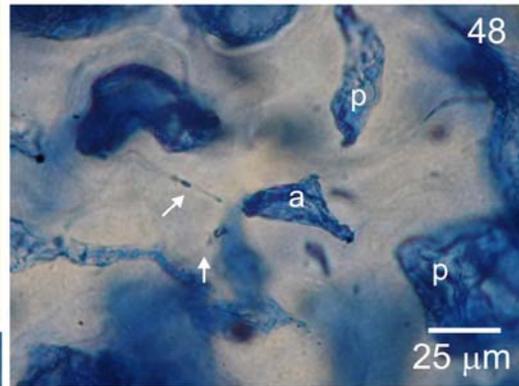
Fig. 48. Corte transversal do râmulo mostrando segmento axial com duas células pericentrais férteis (setas), células pericentrais vegetativas (p) e célula axial (a).

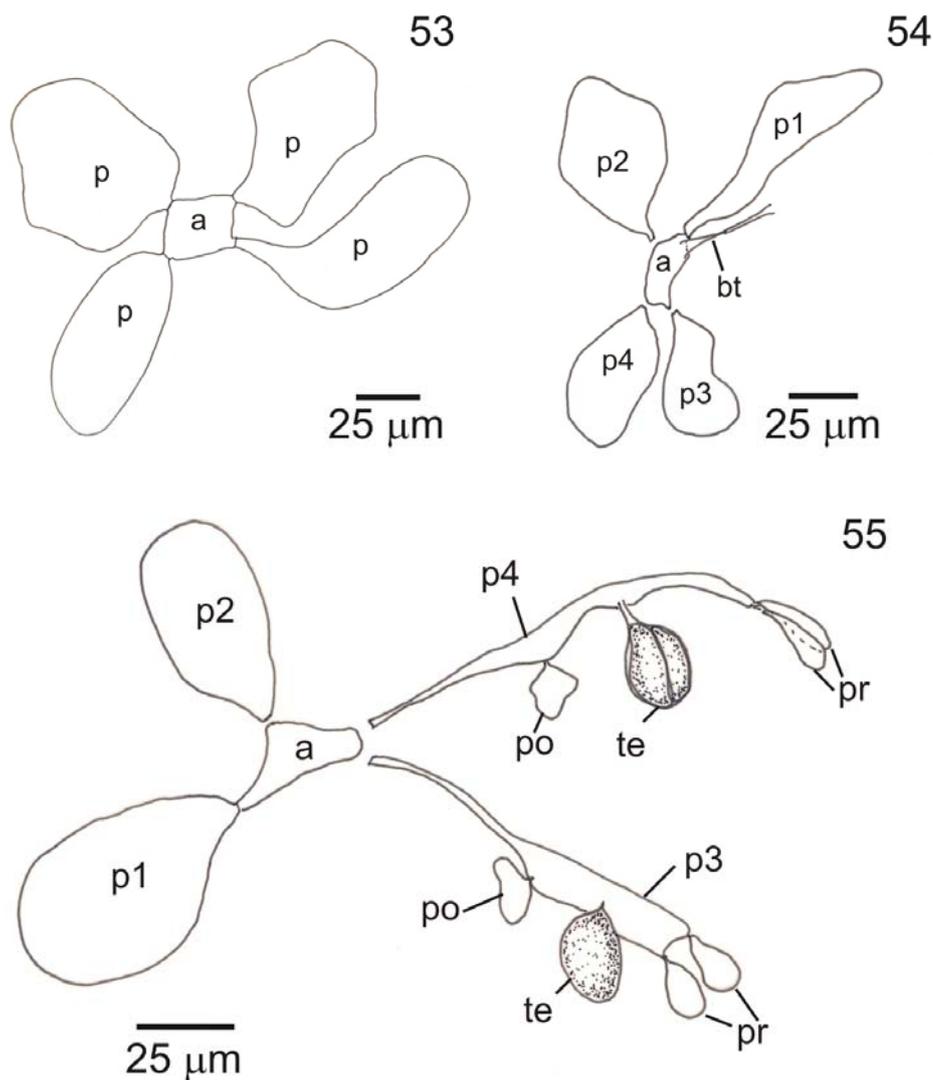
Fig. 49. Corte transversal do râmulo mostrando segmento axial com três células pericentrais férteis (setas), célula pericentral vegetativa (p) e célula axial (a).

Fig. 50. Detalhe da célula pericentral fértil (pf) com duas células pré-esporangiais de cobertura (pr), a inicial do tetrasporângio (te) e uma célula pós-esporangial de cobertura (po).

Fig. 51. Corte longitudinal do râmulo mostrando arranjo paralelo dos tetrasporângios em relação ao eixo do râmulo fértil.

Fig. 52. Detalhe do corte longitudinal mediano de um râmulo tetrasporangial mostrando o tetrasporângio (te) originado abaxialmente a partir da célula pericentral (pf); a seta está indicando a célula axial.



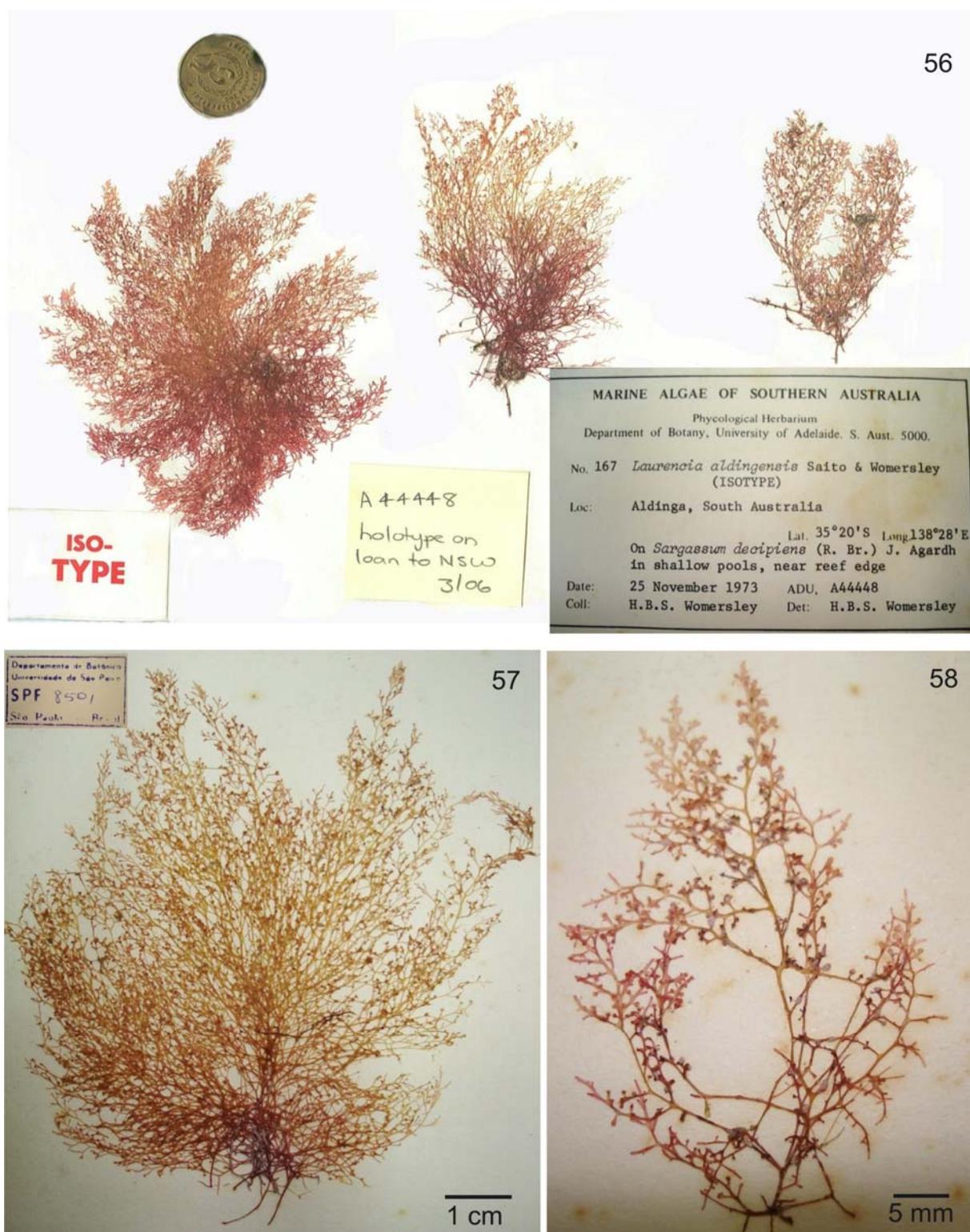


Figs 53-55. *Laurencia aldingensis* Saito *et* Womersley.

Fig. 53. Corte transversal da porção apical de um ramo mostrando segmento axial com quatro células pericentrais (p) e célula axial (a).

Fig. 54. Corte transversal próximo ao ápice de um râmulo mostrando segmento axial vegetativo com célula axial (a) e células pericentrais (p1-p4), com a primeira célula pericentral (p1) produzida abaixo da célula basal do tricoblasto (bt).

Fig. 55. Representação esquemática de um corte transversal próximo ao ápice de um râmulo tetrasporangial mostrando segmento axial com duas células pericentrais férteis, a terceira e a quarta (p3-p4) com tetrasporângios (te), duas células pré-esporangiais de abertura (pr) e uma pós-esporangial de cobertura (po); a primeira e a segunda células pericentrais permanecem vegetativas (p1-p2); célula axial (a).



Figs 56-58. *Laurencia aldingensis* Saito et Womersley. Material tipo.

Fig. 56. Isótipo (fotografia do tipo AD 44448) com três espécimes (tetraspórico, feminino e masculino). Figs. 57-58. Isótipo (SPF 8501). Fig. 57. Planta tetraspórica. Fig. 58. Planta masculina.

Figs 59- 64. *Laurencia aldingensis* Saito et Womersley (Isótipo SPF 8501).

Fig. 59. Detalhe dos ramos masculinos.

Fig. 60. Detalhe dos ramos femininos.

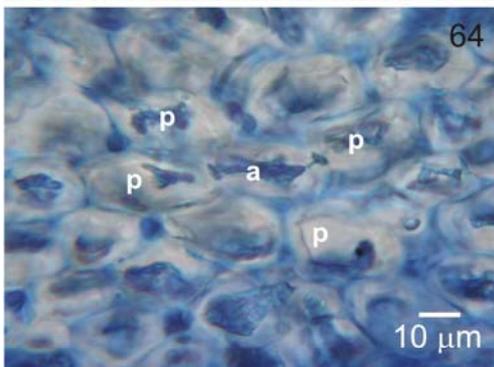
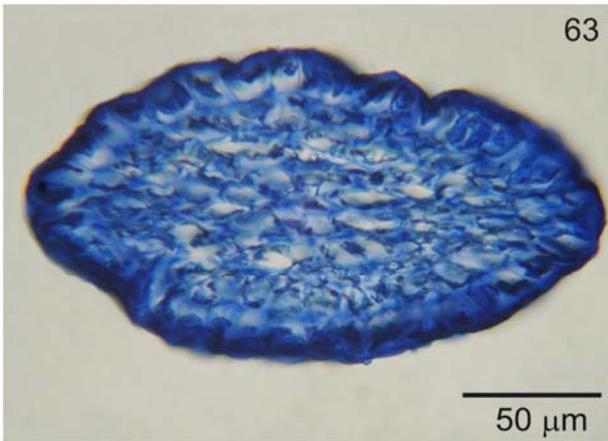
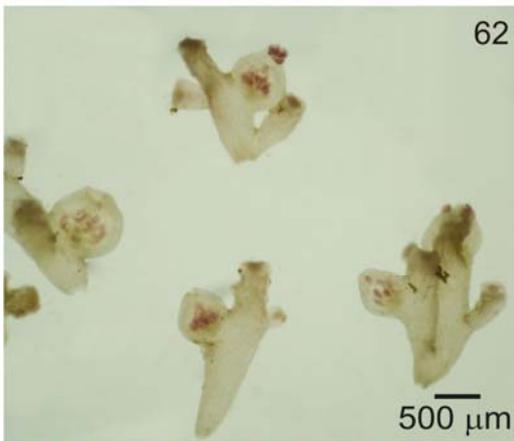
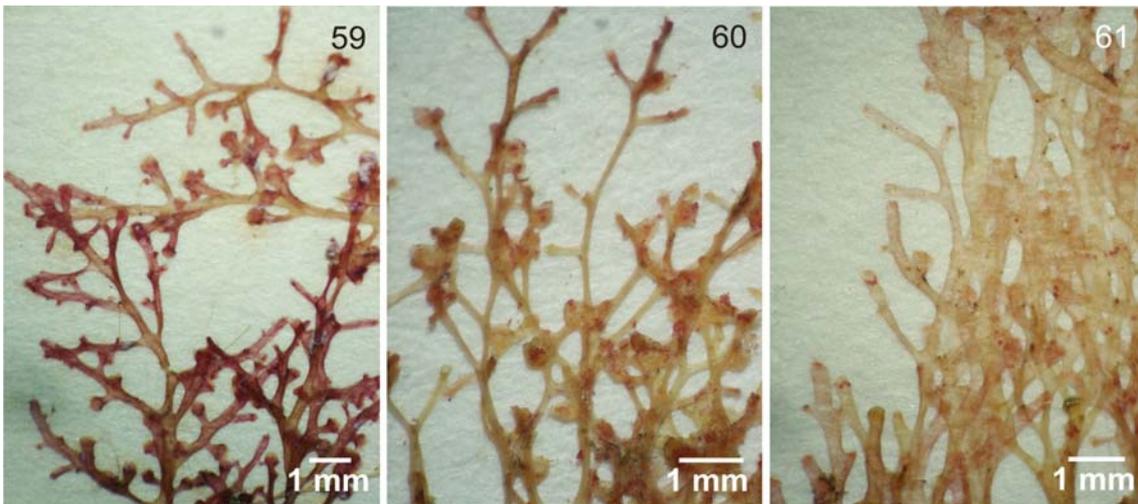
Fig. 61. Detalhe dos ramos tetrasporangiais.

Fig. 62. Ramos com cistocarpos proeminentes no talo.

Fig. 63. Corte transversal do talo.

Fig. 64. Corte transversal da porção apical de um ramo mostrando célula axial (a) com quatro células pericentrais (p).

Figs. 65-66. *Laurencia obtusa* var. *divaricata* [*L. divaricata*] (SPF 50657). Hábito de duas plantas.



ALGAE BRASILIENSES
 DISTRIBUIDAS PELO DEPARTAMENTO DE BOTANICA
 DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Laurência divaricata
 Pr. do Ubú - ES .
 Data: 07.07.1967
 Coll: E.C.de Oliveira
 Det: E.C.de Oliveira

Departamento de Botânica
 Universidade de São Paulo
 SPF 50657
 São Paulo - Brasil

Mod. 02 - 18 - 014 - 10.000 - 5-69

3.1.3.2 *Laurencia caduciramulosa* Masuda et Kawaguchi in Masuda et al (1997)
Cryptogamie, Algologie 18: 1-10.

Holótipo: Univerdade de Hokkaido, Japão (SAP 062086)!

Localidade-tipo: Ilha Hon Tre, Vietnam.

Figs 67-88.

Distribuição: Oceano Atlântico: Brasil: Rio de Janeiro: Baía da Ilha Grande: Angra dos Reis e Parati (Cassano *et al.* 2006), **Espanha:** Ilhas Canárias, Tenerife (Cassano *et al.* 2008a). **Mar Mediterrâneo: Itália** (Furnari *et al.* 2001, Gómez Garreta *et al.* 2001, Serio *et al.* 2006), **França** (Klein & Verlaque 2005), **Grécia** (Tsirika & Haritonidis 2005). **Oceano Pacífico: Vietnam** (Masuda *et al.* 1997a), **Malásia** (Masuda *et al.* 2001), **Indonésia** (Liao *et al.* 2004).

Plantas formando tufos marrom-avermelhados em forma de almofada, com até 5 cm de altura, crescendo epilíticamente ou como epífitas sobre outras macroalgas (Figs 67, 68). Talos de consistência flácida, aderindo bem ao papel de herbário quando secos. Eixos eretos originados de apressório discóide e de ramos estoloníferos bem desenvolvidos, formados a partir das porções inferiores do talo, fixos ao substrato por apressórios discóides menores (Figs 69, 70). Plantas epífitas com ramos estoloníferos bem desenvolvidos (Fig. 71), inconspícuos (Fig. 72) ou ausentes (Fig. 73). Eixos eretos, cilíndricos, esparsamente ramificados, principalmente nas porções inferiores do talo. Anastomoses entre os ramos frequentes. Eixos principais com 185-670 μm de diâm. nas porções medianas do talo. Ramificação irregularmente alterna e arranjada espiraladamente, com 2-3 (4) ordens de ramos. Râmulos de última ordem clavados e decíduos, destacando-se facilmente dos ramos, tornando os eixos desnudos com abundantes cicatrizes. Uma coroa de râmulos jovens é mantida nas porções superiores do talo (Figs 73, 74). Râmulos decíduos com 123-450 x 94-225 μm nos ápices; basalmente constrictos, medindo 60-128 μm de diâmetro nas constrictões. Após seu destacamento, os râmulos decíduos desenvolvem rizóides e geram novos talos, funcionando potencialmente como propágulos vegetativos (Figs 75, 76). Propágulos podem desenvolver longos tricoblastos terminados em gavinhas (Figs 77-79).

Em vista superficial, células corticais regularmente arrançadas em fileiras longitudinais e conectadas umas às outras por ligações secundárias orientadas longitudinalmente. Células corticais poligonais nas porções superiores do talo, longitudinalmente alongadas nas porções medianas com 27-80 x 15-47 μm (Fig. 80) e poligonais-alongadas nas porções inferiores (Fig. 81). Células corticais com um, raramente dois *corps en cerise* por célula (Fig. 82), e somente

um por célula do tricoblasto. Em corte longitudinal, células corticais projetadas próximo aos ápices dos ramos (Fig. 83). Em corte transversal, talo com uma a duas camadas de células corticais pigmentadas e duas a três camadas de células medulares hialinas (Fig. 84). Células corticais quadráticas com 10-30 x 10-35 µm nas porções superiores. Células medulares arredondadas a ligeiramente alongadas radialmente, aumentando gradativamente de tamanho em direção ao centro do talo, com 22-108 x 20-75 µm nas porções medianas dos eixos principais. Espessamentos lenticulares abundantes nas paredes das células medulares (Figs 84-85). Cada segmento axial vegetativo produz quatro células pericentrais (Figs 86, 87) que são ligeiramente maiores que as células medulares circunvizinhas. No ápice dos ramos, a primeira célula pericentral é produzida abaixo da célula basal do tricoblasto (Fig. 88). Plantas gametofíticas e esporofíticas não foram observadas.

Habitat: Espécimes epilíticos coletados do mesolitoral inferior ao infralitoral até uma profundidade de 5 m, normalmente associados com Corallinaceae articuladas, *Caulerpa fastigiata* Montagne e *Hypnea spinella* (C. Agardh) Kützing, em locais moderadamente expostos à ação das ondas. Alguns exemplares foram coletados como epífitos sobre *Sargassum* spp., *Palisada perforata* (Bory) K.W. Nam e *Laurencia dendroidea* J. Agardh, em locais protegidos da ação das ondas.

Material examinado: Holótipo (SAP 062086), **Vietnam:** Ilha de Hon Tre, Ilhas Tien Hai, Hatien, Província de Kien Giang, 7.ii.1993, *M. Masuda & S. Kawaguchi*; **Brasil:** Rio de Janeiro, Baía da Ilha Grande: Angra dos Reis, Baía de Angra dos Reis, Praia das Gordas, ii.2001, *M.T.M. Széchy* (HRJ10442), 22.iii.2004, *M.T.M. Széchy* (SP399.916), Baía da Ribeira, Saco de Piraquara de Dentro, Ilha de Itanhangá, 22.x.2004, 5 m de profundidade, *B.L. Ignácio* (SP365.238); Ponta do Caiobá, 19.iii.2005, sobre *Sargassum*, *A.P.A. Veloso* (HRJ10443); Ponta da Fortaleza, 22.viii.2004, sobre *Sargassum*, *M.T.M. Széchy* (SP356.408), 19.ix.2004, sobre *Sargassum*, *M.T.M. Széchy* (SP 365.409), 20.iii.2005, sobre *Sargassum*, *M.T.M. Széchy* (SP 356.410), Saco de Piraquara de Fora, Praia do Velho, 30.vii.2004, *M.T.M. Széchy* (SP356.411), 21.iii.2005, sobre *Sargassum*, *A.P.A. Veloso* (SP 356.400), 22.i.2006, *V. Cassano & J.C. De-Paula* (SP371.292), 19.iv.2006, *V. Cassano & J.C. De-Paula* (SP371.294), 13.xii.2006, sobre *Sargassum*, *V. Cassano, M.T.M. Széchy & M.T. Fujii* (SP371.772), 19.v.2007, *V. Cassano & D. Sudatii* (SP399.917), Ponta do Arame, iii.2006, *M.T.M. Széchy* (SP371.293), 22.i.2006, *V. Cassano & J.C. De-Paula* (SP399.918), 13.xii.2006, *V. Cassano, M.T.M. Széchy & M.T. Fujii* (HRJ10826); Ilha do Brandão, 04.ii.2003, *A.B. Ramos* (SP356.403), 18.v.2003, *D.N. Moysés*

(SP356.404), 10.x.2003, *D.N. Moysés* (SP356.405), ii.2004, *D.N. Moysés* (SP356.406), 20.vi.2004, *D.N. Moysés* (SP356.407), vii.2004, *D.N. Moysés* (HRJ10334); Ilha de Cataguazes, 13.xii.2006, *V. Cassano, M.T.M. Széchy & M.T. Fujii* (SP 371.770); Ilha de São João, 13.xii.2006, sobre *Laurencia dendroidea*, *V. Cassano, M.T.M. Széchy & M.T. Fujii* (SP371.771); Ilha do Bonfim, 13.xii.2006, *V. Cassano, M.T.M. Széchy & M.T. Fujii* (HRJ10825); Ilha Grande, Ilha da Lagoa Azul, 25.ii.2005, *V. Cassano & J.C. De-Paula* (SP365.401), 29.vii.2005, *V. Cassano & J.C. De-Paula* (SP 399.919), Ilha dos Macacos, 29.vii.2005, *V. Cassano & J.C. De-Paula* (SP399.920), Praia Preta, 25.ii.2005, *V. Cassano & J.C. De-Paula* (SP399.921), 29.vii.2005, *V. Cassano & J.C. De-Paula* (HRJ10456), Praia da Feiticeira, 25.ii.2005, *V. Cassano & J.C. De-Paula* (SP399.922), 29.vii.2005, *V. Cassano & J.C. De-Paula* (HRJ10861); Parati, Baía de Parati, Praia da Lula, 09.ii.2005, *V. Cassano* (SP 356.402), 25.ii.2007, sobre *Palisada perforata*, *V. Cassano* (HRJ10909), Praia Vermelha, 30.xii.2005, sobre *Palisada perforata*, *V. Cassano* (SP 371.773), Ilha Comprida, 09.ii.2005, *V. Cassano* (SP399.923), 25.ii.2007, *V. Cassano* (SP 399.809); **Espanha:** Ilhas Canárias, Tenerife, Punta del Hidalgo, 12.vii.2006, *M.T. Fujii, A. Sentés & M.C. Gil-Rodriguez* (TFC Phyc 13205).

Material adicional examinado para comparação:

Laurencia decidua **Dawson** Holótipo: D. 12044, Isla San Benedicto, Islas Revillagigedo, México, 17.xi.1953 (espécimes tetrasporofíticos); *Laurencia subcorymbosa* **Dawson** Parátipos: D. 3168, entre Cabo Pulmo e Punta Frailes, Baja California, México, 5.xi.1946; D. 3290, Punta Palmilla, Baja California, México, 7.xi. 1946 (espécimes tetrasporofíticos).

Observações dos materiais tipo:

Laurencia caduciramulosa

Holótipo: SAP 062086.

Figs 89-93.

O holótipo de *L. caduciramulosa* consiste em um talo com 5 cm de altura, fixo por apressório discóide e ramos estoloníferos (Fig. 89). Os eixos portam muitos râmulos decíduos que se destacam do talo, exceto nos ápices dos ramos onde uma coroa de râmulos é mantida (Figs 90, 91). Abundantes cicatrizes foram observadas deixadas pela queda dos râmulos (Figs 92, 93).

Laurencia decidua Dawson, 1954. A. Hancock Found. Publ., Occ. Paper 16: 8, pl. 4, fig.1.

Holótipo: D. 12044

Localidade-tipo: Isla San Benedicto, Islas Revillagigedo, México

Figs 94-104.

Os espécimes tipo analisados atingem até 1,2 cm de altura e possuem eixos esparsamente ramificados ou desnudos nas porções inferiores e medianas do talo e râmulos densos e imbricados próximo aos ápices (Figs 94, 96). Ramos rastejantes e ramificados formam um massivo e emaranhado sistema basal (Figs 95, 96). Células corticais não são projetadas além da superfície do talo (Fig. 97) e são regularmente arranjadas em fileiras longitudinais, conectadas umas às outras por ligações secundárias (Fig. 98). Cicatrizes produzidas pela liberação de râmulos decíduos não foram observadas nos ramos (Fig. 99). Em corte transversal, abundantes espessamentos lenticulares estão presentes nas paredes das células medulares (Fig. 100). Quatro células pericentrais são produzidas por cada segmento axial vegetativo, descritas pela primeira vez para essa espécie (Fig. 101). Tetrasporângios dispostos em arranjo paralelo (Fig. 102), originados a partir das células pericentrais (Figs 103, 104). Cada célula pericentral fértil corta distalmente duas células pré-esporangiais de cobertura, a célula-mãe do tetrasporângio, em posição abaxial, e uma célula pós-esporangial que se divide e contribui na formação da corticação em volta do tetrasporângio (Fig. 104).

Laurencia subcorymbosa Dawson, 1963. Nova Hedwigia 6: 467-468.

Parátipos: D. 3168 e D. 3290.

Localidade-tipo: Cabo Pulmo, Baja California del Sur, México.

Figs 105-112.

Nota: Holótipo extraviado.

Os espécimes analisados atingem até 6 mm de altura e crescem epifiticamente sobre *Sargassum* (Figs 105, 106). Talos fixos por um pequeno disco basal. Eixos esparsamente ramificados ou completamente desnudos nas porções inferiores do talo. Eixos e ramos originam râmulos decíduos que se destacam do talo produzindo abundantes cicatrizes, exceto nas porções superiores onde permanece uma coroa de râmulos (Fig. 107). Células corticais com paredes conspicuamente projetadas (Fig. 108) e conectadas umas às outras por ligações secundárias longitudinalmente orientadas (Fig. 109). Em seção transversal, abundantes espessamentos lenticulares estão presentes nas paredes das células medulares (Figs 110, 111). Cada segmento axial vegetativo produz quatro células pericentrais, descritas pela primeira vez para essa espécie

(Fig. 111). Somente dois ramos tetrasporangiais foram encontrados com tetrasporângios dispostos em arranjo paralelo em relação ao eixo do ramo fértil (Fig. 112).

Comentários

Laurencia caduciramulosa Masuda *et* Kawaguchi *in* Masuda *et al.* (1997a) foi originalmente descrita para o Vietnam. Desde a sua proposição, a espécie tem sido reportada para diferentes localidades tendo sua distribuição geográfica expandida para a Malásia (Masuda *et al.* 2001), Mar Mediterrâneo [Itália, França e Grécia (Furnari *et al.* 2001, Gómez Garreta *et al.* 2001, Serio *et al.* 2006, Klein & Verlaque 2005, Tsirika & Haritonidis 2005)], Indonésia (Liao *et al.* 2004), Brasil (Cassano *et al.* 2006) e Ilhas Canárias, Espanha (Cassano *et al.* 2008a). Klein & Verlaque (2005) discutiram a hipótese da introdução dessa espécie no Mar Mediterrâneo por água de lastro ou incrustação em cascos de navios. No Brasil e no Oceano Atlântico ocidental, *Laurencia caduciramulosa* foi encontrada pela primeira vez em 2001, na Baía de Ilha Grande, Rio de Janeiro, em baixa abundância. Mais tarde, entre 2003-2005, a espécie foi encontrada com maior biomassa em dez diferentes locais da Baía de Ilha Grande (Cassano *et al.* 2006). Coletas posteriores expandiram a sua distribuição para mais seis pontos de coleta, entre Parati e Angra dos Reis. Cassano *et al.* (2006) sugeriram a hipótese da introdução dessa espécie em águas brasileiras por navegação transoceânica, provavelmente via água de lastro. Recentemente, a espécie foi encontrada no Oceano Atlântico oriental (Tenerife, Ilhas Canárias, Espanha) (Cassano *et al.* 2008a).

Laurencia caduciramulosa é facilmente reconhecida pelo seu talo de pequeno tamanho, sistema basal com ramos estoloníferos bem desenvolvidos, especialmente em plantas epilíticas, e râmulos de última ordem decíduos que ao caírem tornam desnudo o terço superior dos ramos, os quais mantêm uma coroa de râmulos jovens no ápice, muito característico da espécie. Quando Masuda & Kawaguchi (*in* Masuda *et al.* 1997a) descreveram *L. caduciramulosa*, destacaram a presença de râmulos decíduos como a característica mais distintiva da espécie. Esses râmulos funcionam como propágulos vegetativos e seu destacamento do talo deixa abundantes cicatrizes nos ramos (Masuda *et al.* 1997a, 2001, Cassano *et al.* 2006). Além dos râmulos decíduos, os espécimes brasileiros estão de acordo com as descrições de Masuda *et al.* (1997a, 2001), Furnari *et al.* (2001) e Klein & Verlaque (2005) nos seguintes aspectos: 1) sistema basal formado por ramos estoloníferos bem desenvolvidos, especialmente em plantas epilíticas; 2) células corticais, em vista superficial, alongadas longitudinalmente nas porções medianas e inferiores do talo; 3) células corticais projetadas próximo às porções apicais dos

ramos, e 4) paredes das células medulares com abundantes espessamentos lenticulares, exceto nas porções mais superiores do talo.

Estruturas reprodutivas não são conhecidas para essa espécie. A ausência dessas estruturas parece ser substituída por um mecanismo eficiente de propagação vegetativa feita pelos râmulos decíduos. Esses râmulos e, conseqüentemente, as peculiares cicatrizes foram constantes em todas as amostras brasileiras. Muitos râmulos destacados foram observados crescendo sobre as plantas-mãe, produzindo conspícuos rizóides e apressórios. Esta observação confirma que esses râmulos são propágulos verdadeiros capazes de disseminar a espécie, conforme salientado por Masuda *et al.* (2001). Durante a análise de material vivo foram encontrados inúmeros propágulos com longos tricoblastos terminados em gavinhas. A formação de gavinhas em tricoblastos nunca foi descrita anteriormente para nenhuma espécie do complexo *Laurencia*. As gavinhas, emaranhadas entre si ou em talos de outras macroalgas, auxiliam na dispersão dos propágulos. Foi verificada a formação de rizóides após a mobilização dos propágulos por meio de gavinhas. Isso parece indicar que as gavinhas assumem a função de auxiliar a fixação inicial dos propágulos. Esta é a primeira vez que se observa tal estratégia de dispersão. A existência desses propágulos como um meio alternativo de reprodução é importante para entender o aparecimento e a dispersão de *L. caduciramulosa* na Baía da Ilha Grande e em outras regiões do mundo.

Laurencia decidua Dawson e *L. subcorymbosa* Dawson, ambas descritas para o Pacífico mexicano, são similares morfológicamente à *L. caduciramulosa* (Tabela 8). Dawson (1963) separou *Laurencia decidua* de *L. subcorymbosa* principalmente pela diferença de habitat, sendo *L. decidua* epilítica e *L. subcorymbosa* epífita, crescendo somente sobre *Sargassum*. Dawson (1963) descreveu ainda diferentes tipos de sistema basal para essas espécies com produção de ramos rastejantes, ramificados, densamente emaranhados em *L. decidua* e fixação por um pequeno disco basal em *L. subcorymbosa*. Outros caracteres diagnósticos utilizados por Dawson (1963) foram: o padrão de ramificação dos râmulos decíduos (densamente imbricados em *L. decidua*, e formando uma coroa subcorimbosa em *L. subcorymbosa*), e a presença ou ausência de células corticais projetadas (presente em *L. subcorymbosa* e ausente em *L. decidua*).

Masuda *et al.* (1997a) separaram *L. caduciramulosa* de *L. decidua* pelas seguintes características: 1) comprimento menor dos râmulos; 2) presença de células corticais projetadas; 3) ausência de sistema basal prostrado, ramificado e densamente emaranhado e 4) ausência de tetrasporângios, descritos em *L. decidua* por Dawson (1954, 1963) e Abbott & Hollenberg (1976). Por outro lado, esses autores distinguiram *L. subcorymbosa* de *L. caduciramulosa* pelos

eixos mais estreitos e esparsamente ramificados, presença de tetrasporângios e ausência de ramos estoloníferos em *L. subcorymbosa* (Tab. 8).

O exame dos espécimes tipo de *Laurencia caduciramulosa*, *L. subcorymbosa* e *L. decidua* confirmaram as afinidades entre esses três táxons. *Laurencia decidua*, entretanto, difere de *L. subcorymbosa* e de *L. caduciramulosa* pelo seu sistema basal massivo e prostrado, ramos imbricados sem células corticais projetadas próximas ao ápice e ausência de cicatrizes produzidas por râmulos decíduos. Essas diferenças justificam a manutenção de *L. decidua* como uma espécie independente, corroborando o ponto de vista de Dawson (1963) e de Masuda *et al.* (1997a). Por outro lado, a proximidade morfológica entre *L. caduciramulosa* e *L. subcorymbosa* é marcante, com a presença de râmulos decíduos, abundantes cicatrizes no talo, coroa de râmulos apicais, células corticais projetadas e espessamentos lenticulares nas paredes das células medulares em abundância. Além disso, o sistema basal nos espécimens brasileiros de *L. caduciramulosa* é variável. Plantas epilíticas sempre produzem ramos estoloníferos bem desenvolvidos, enquanto em plantas epífitas a fixação pode ser feita apenas por um pequeno apressório discóide ou por inconspícuos ou bem desenvolvidos ramos estoloníferos. As diferenças no sistema basal desses espécimes podem estar relacionadas ao habitat que ocupam. A sobreposição em relação ao tipo de sistema basal e habitats e as semelhanças morfológicas verificadas entre *L. caduciramulosa* e *L. subcorymbosa* levaram Cassano *et al.* (2006) a considerar a possibilidade de coespecificidade entre estas duas espécies. Entretanto, devido à falta de sequências de DNA disponíveis de *L. subcorymbosa* para comparação, optamos em considerá-las como entidades taxonômicas independentes até que dados moleculares confirmem sua possível coespecificidade.

A expansão geográfica de *Laurencia caduciramulosa* no mundo, desde a sua primeira citação para o Vietnã, está de acordo com a hipótese de introdução de espécies proposta por Ribera & Boudouresque (1995). De acordo com os critérios desses autores, *L. caduciramulosa* pode ser considerada uma espécie introduzida no Brasil por atender aos seguintes critérios: 1) quando a espécie foi descoberta, em 2001, foi encontrada em baixa abundância; 2) os locais da amostragem eram próximos de zonas potenciais da introdução de espécies, tais como portos; e 3) posteriormente, a espécie foi encontrada em maior abundância em torno do local original de coleta. Além disso, a espécie não foi encontrada em nenhum dos levantamentos florísticos realizados previamente na área de ocorrência da espécie, incluindo a Baía da Ribeira, sujeita ao efluente líquido da Usina Nuclear de Angra dos Reis “Central Nuclear Almirante Álvaro Alberto” (CNAAA) (Pedrini *et al.* 1994, Széchy & Nassar 2005), e a Baía de Parati (Figueiredo-Creed & Yoneshigue-Valentin 1997, Figueiredo *et al.* 2004), que podem ser

consideradas como as duas áreas mais bem estudadas dentre os ecossistemas da Baía da Ilha Grande. *Laurencia caduciramulosa* também não foi referida para as demais regiões do estado do Rio de Janeiro nem para a costa do estado do Espírito Santo (Horta 2000, Fujii & Senties 2005), que correspondem às floras ficológicas mais ricas do Brasil, reflexo de levantamentos taxonômicos mais completos (Horta *et al.* 2001, Guimarães 2006). Consequentemente, é improvável que esta macroalga tenha sido negligenciada nesses estudos.

Introduções recentes de organismos marinhos têm sido reportadas para a Baía da Ilha Grande, tais como os corais *Tubastraea coccinea* Lesson, 1829 e *T. tagusensis* Wells, 1982 (Paula & Creed 2004), além da macroalga *Caulerpa scalpelliformis* (Turner) C. Agardh, que até então era encontrada somente na região nordeste do Brasil (Falcão & Széchy 2005). Portanto, é provável que *L. caduciramulosa* seja uma espécie recentemente introduzida na área. A introdução local de *L. caduciramulosa* é difícil de ser determinada, uma vez que a espécie poderia ter chegado em outras áreas geográficas da costa brasileira antes da sua descoberta na Baía de Ilha Grande, como é explicado na avaliação de risco de introdução de espécies feita para a Baía de Sepetiba (Clarke *et al.* 2004).

Após a sua provável introdução acidental na Baía de Ilha Grande, *L. caduciramulosa* parece ter se estabelecido com sucesso no infralitoral raso de costões rochosos, considerando os dezesseis locais de coleta onde a espécie foi encontrada e o aumento considerável de biomassa observado.

Cassano *et al.* (2008b) analisaram os constituintes químicos de *Laurencia caduciramulosa* coletada em dois pontos onde foram detectadas as maiores biomassa da espécie (Praia do Velho, Baía da Ribeira e Ilha da Lagoa Azul, Ilha Grande, Angra dos Reis), com o intuito de compará-los com os compostos descritos por Masuda *et al.* (1997a) para os espécimes da localidade-tipo. Cinco sesquiterpenos foram identificados a partir dos espécimes brasileiros de *L. caduciramulosa*: pacifenol, filiformina, debromofiliformina, alolaurinterol e debromoalolaurinterol, todos reportados pela primeira vez em espécies de *Laurencia* da costa brasileira. Pacifenol foi identificado como o sesquiterpeno majoritário e foi o único previamente isolado a partir *Aplysia dactilomela* Rang, 1828, coletada na costa do Rio de Janeiro (Kaiser *et al.* 2001). Os compostos descritos por Masuda *et al.* (1997a) para *L. caduciramulosa* do Vietnam [aplasiadiol (diterpeno), deoxiprepacifenol (sesquiterpeno), laurenenina A e B (C15 acetogeninas)] não foram encontrados no material brasileiro. Os espécimes brasileiros de *L. caduciramulosa* produzem somente sesquiterpenos diferindo da mistura de sesquiterpenos e diterpenos reportada para os exemplares do Vietnam. Este fato sugere a possibilidade de haver mistura de material em *L. caduciramulosa* do Vietnam, uma vez

que a produção simultânea de sesquiterpenos e de diterpenos é um aspecto incomum dentro do complexo *Laurencia*. Atividade antiincrustante também foi avaliada por Cassano *et al.* (2008b) a partir dos extratos de *L. caduciramulosa* usando o molusco *Perna perna* Linnaeus, 1978, como descrito por Da Gama *et al.* (2003) e Epifanio *et al.* (2006). Os resultados revelaram que o extrato bruto desta espécie exibiu significativa atividade antiincrustante (77% de inibição) em relação ao controle. Isto é particularmente interessante dado que se trata de uma possível espécie introduzida, que poderia inibir com sucesso a colonização do habitat por outros organismos pela produção e liberação de compostos antiincrustantes, cuja natureza ainda precisa ser elucidada.

Tabela 8. Comparação das características morfológicas de *Laurencia caduciramulosa* Masuda et Kawaguchi e espécies relacionadas.

Espécies/ Características	<i>L. caduciramulosa</i>				<i>L. decidua</i>	<i>L. subcorymbosa</i>	
	Localidade/ Caracteres	Vietnam, Malásia*	Mar Mediterrâneo, Itália	Mar Mediterrâneo, França	Brasil	Ilhas Canárias, Espanha	México (Pacífico)
Referências	Masuda <i>et al.</i> (1997a, 2001*)	Furnari <i>et al.</i> (2001)	Klein & Verlaque (2005)	Cassano <i>et al.</i> (2006)	Cassano <i>et al.</i> (2008a)	Dawson (1963)	Dawson (1963)
Habitat	Mesolitoral inferior; epilítica	Mesolitoral inferior; epilítica	Infralitoral (4 - 8 m), epilítica	Mesolitoral inferior ao infralitoral (5 m), epilítica ou epífita em <i>Sargassum</i> ou outras macroalgas	Mesolitoral inferior; epilítica	Epilítica	Epífita em <i>Sargassum</i>
Altura do talo (cm)	2-5	até 5	até 1,5	até 5	até 0,5	-	2,5
Ramos estoloníferos	Presente	Presente	Presente	Presente ou ausente	Presente ou ausente	Presente	Ausente
Diâmetro do talo (porções inferiores a medianas, µm)	500-600 700-800*	-	360 - 440	185 – 670	384-608	500	200
Râmulos decíduos (comp. x diam., µm)	100-400 x 100-180 100-600 x 100-160*	-	500-560 x 240-260	123-450 x 94-225	128-520 x 95-384	1000	150
Número de <i>corps</i> <i>en cerise</i> por célula cortical	1*	-	-	1, raramente 2	1	-	-
Projeção das células corticais	Presente (ligeiramente projetadas)	Presente (ligeiramente projetadas)	Presente (ligeiramente projetadas)	Presente	Presente	Ausente	Presente

Figs 67-72. *Laurencia caduciramulosa* Masuda et Kawaguchi.

Figs 67-68. Hábito das plantas.

Fig. 67. Planta viva, epilítica.

Fig. 68. Planta epífita em receptáculo de *Sargassum*.

Figs 69-70. Porção basal de plantas epilíticas.

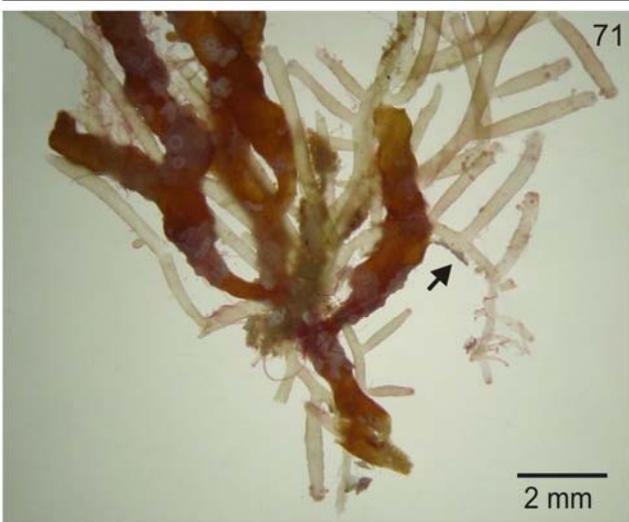
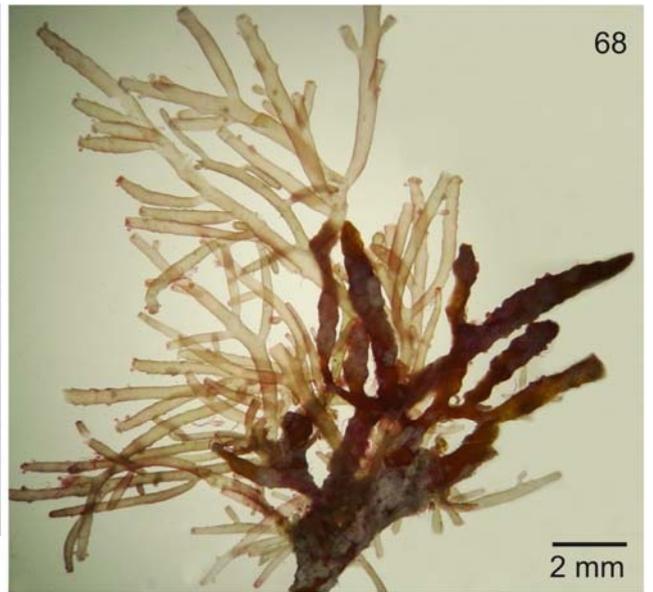
Fig. 69. Dois tufos com apressórios discóides e conectados por meio de ramos estoloníferos.

Fig. 70. Detalhe de um ramo estolonífero mostrando apressórios discóides menores (corado com vermelho de rutênio).

Figs 71-72. Porção basal de plantas epífitas em *Sargassum*.

Fig. 71. Porção basal de uma planta mostrando ramos estoloníferos (seta) sobre receptáculo de *Sargassum*.

Fig. 72. Porção basal com ramos estoloníferos inconspícuos (seta) sobre receptáculo de *Sargassum*.



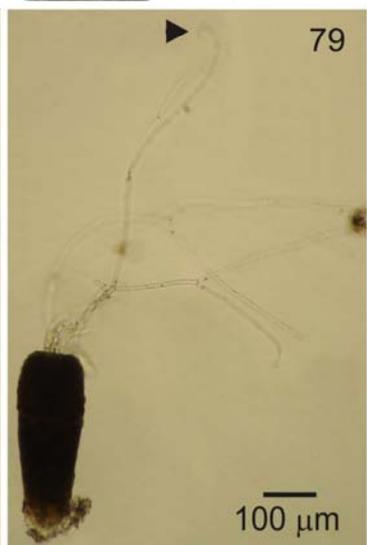
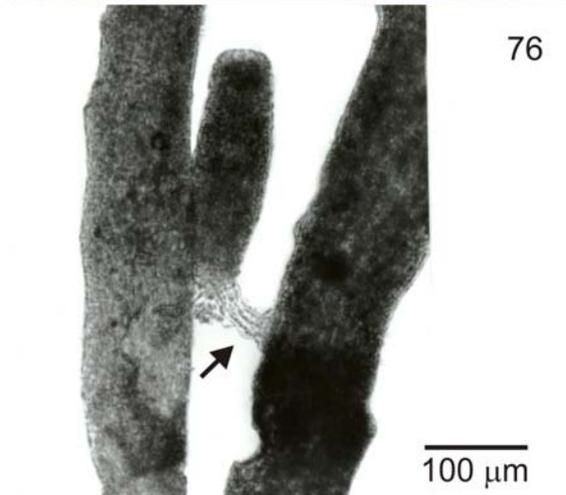
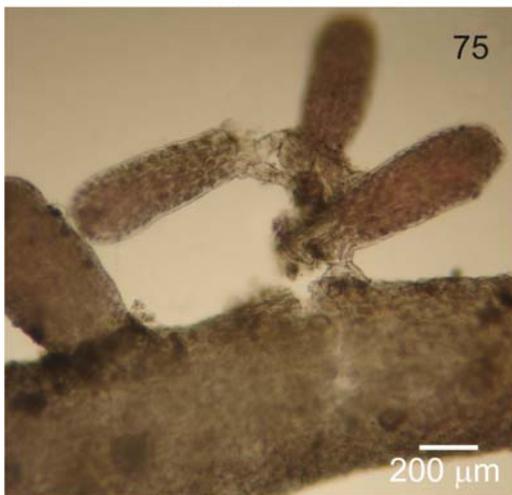
Figs 73-79. *Lanrenzia caduciramulosa* Masuda et Kawaguchi.

Fig. 73. Planta epífita, retirada de *Sargassum*, com um único apressório discóide (seta). Note coroa de râmulos decíduos nos ápices dos ramos (ponta de seta).

Fig. 74. Porção superior dos ramos mostrando pequenos râmulos decíduos e cicatrizes deixadas pela queda dos râmulos (setas).

Figs 75-76. Propágulos liberados, fixos aos eixos de *L. caduciramulosa*. Note rizóides conspícuos (seta).

Figs 77-79. Propágulos vivos com longos tricoblastos terminados em gavinhas (setas). Note ainda ausência de rizóides.



Figs 80-86. *Laurencia caduciramulosa* Masuda *et* Kawaguchi.

Fig. 80. Vista superficial da porção mediana do talo mostrando células corticais alongadas.

Fig. 81. Vista superficial da porção inferior do talo com células corticais poligonais mostrando ligações secundárias (seta).

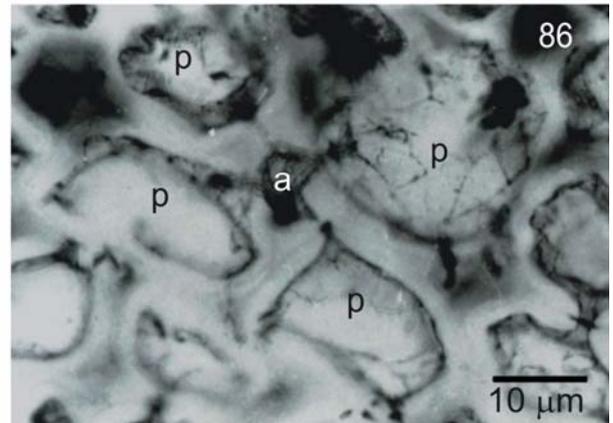
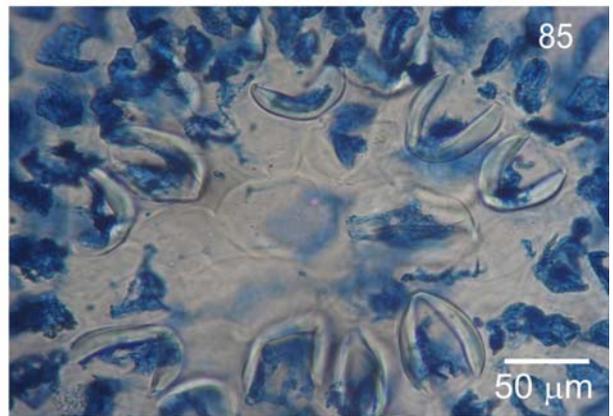
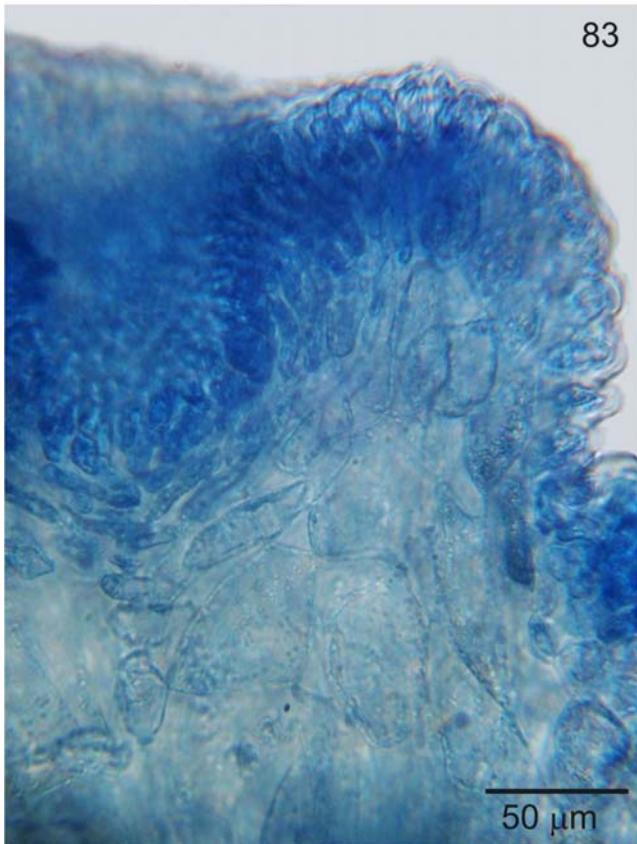
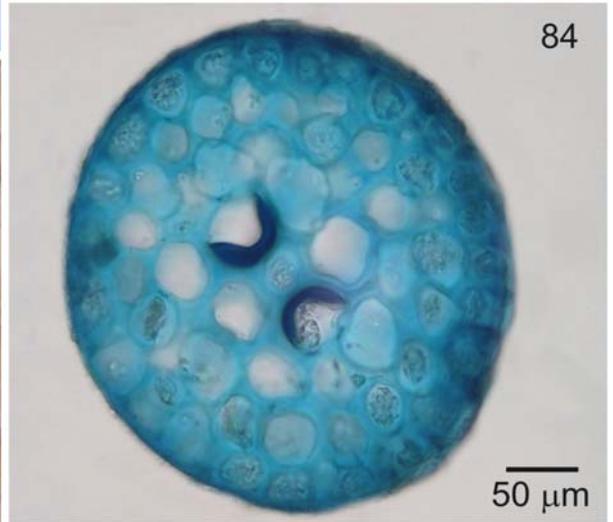
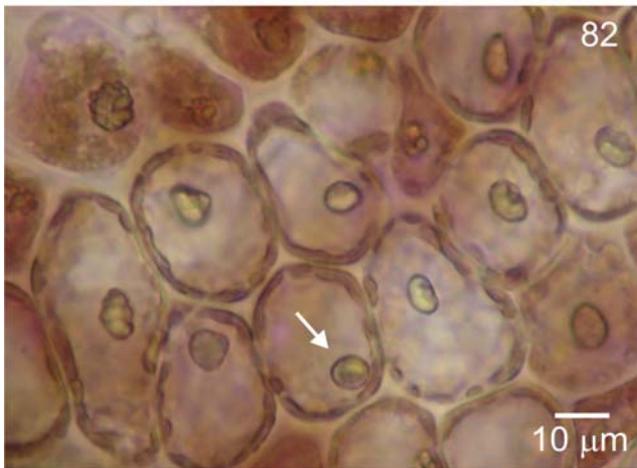
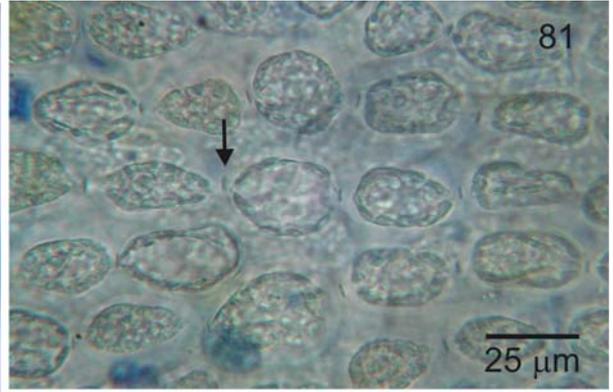
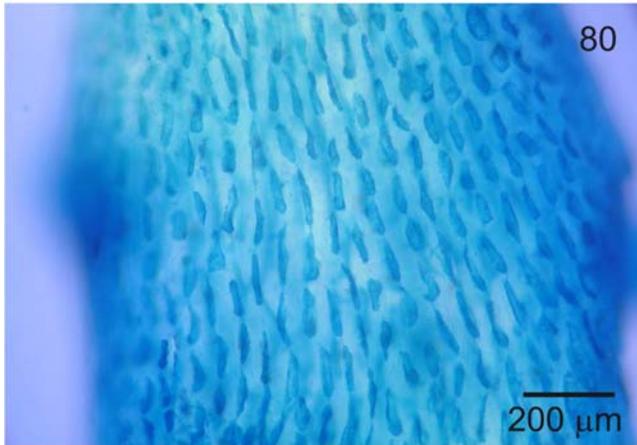
Fig. 82. Vista superficial de um exemplar vivo mostrando células corticais com *corps en cerise* (seta).

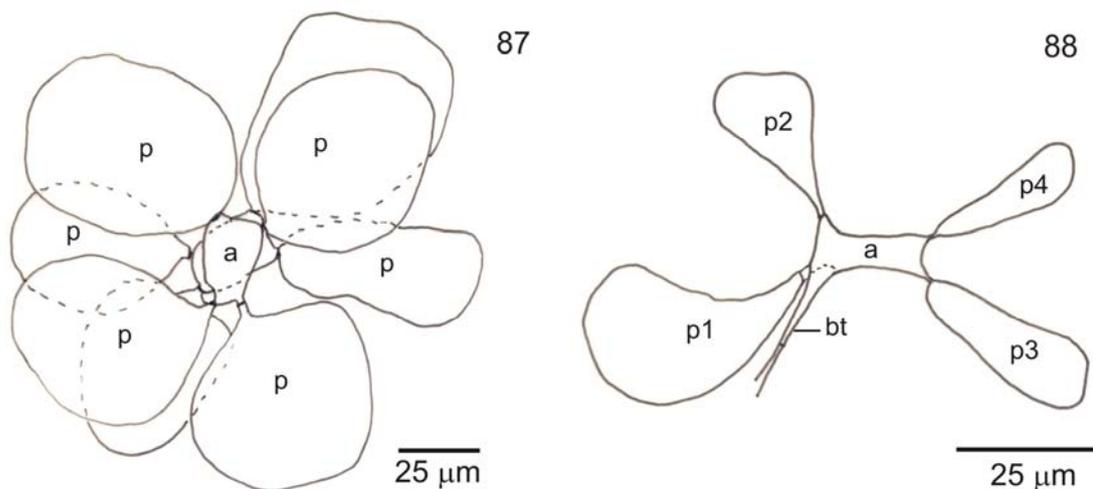
Fig. 83. Corte longitudinal de um ramo com células corticais projetadas próximas ao ápice.

Fig. 84. Corte transversal do talo mostrando uma camada de células corticais pigmentadas e duas camadas de células medulares. Note espessamentos lenticulares nas paredes das células pericentrais.

Fig. 85. Detalhe da região medular com abundantes espessamentos lenticulares.

Fig. 86. Corte transversal da porção apical de um ramo mostrando célula axial (a) com quatro células pericentrais (p).





Figs 87-88. *Laurencia caduciramulosa* Masuda et Kawaguchi.

Fig. 87. Corte transversal da porção apical de um ramo mostrando dois segmentos axiais sobrepostos com quatro células pericentrais (p) e célula axial (a).

Fig. 88. Corte transversal próximo ao ápice de um râmulo mostrando segmento axial com célula axial (a) e células pericentrais (p1-p4), com a primeira célula pericentral (p1) produzida abaixo da célula basal do tricoblasto (bt).

Figs 89-93. *Laurencia caduciramulosa* Masuda et Kawaguchi. Holótipo (SAP 062086).

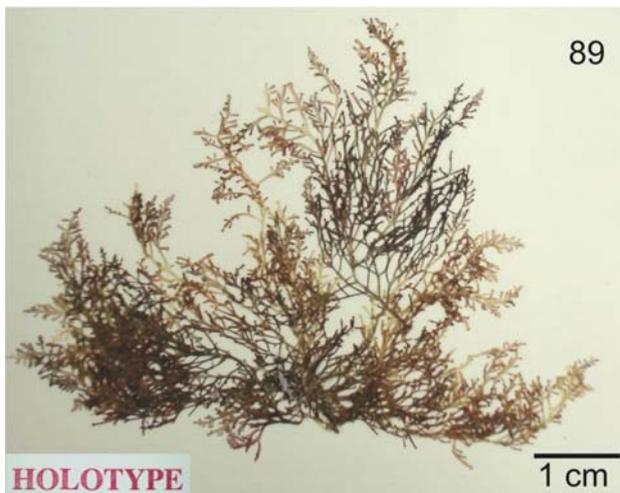
Fig. 89. Hábito da planta.

Fig. 90. Porção superior dos ramos mostrando coroa de pequenos râmulos decíduos nos ápices.

Fig. 91. Detalhe dos ápices dos ramos. Note coroa de râmulos (ponta de seta) e propágulo desprendido do talo (seta).

Fig. 92. Porção superior dos ramos mostrando cicatrizes dos râmulos liberados (ponta de setas).

Fig. 93. Detalhe do ramo com abundantes cicatrizes.



89

HOLOTYPE

1 cm



90

1 mm

HERBARIUM
 FACULTY OF SCIENCE, HOKKAIDO UNIVERSITY
 SAP 062086

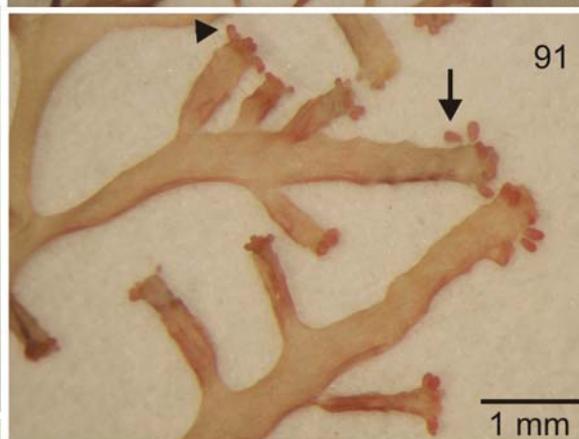
TYPUS

Laurencia caduciramulosa Masuda et Kawaguchi

Hon Tre Island, Tien Hai Islands, Hatien,
 Kien Giang Province, Vietnam

Lower intertidal, 7 Feb. 1993

leg. & det. M. Masuda & S. Kawaguchi



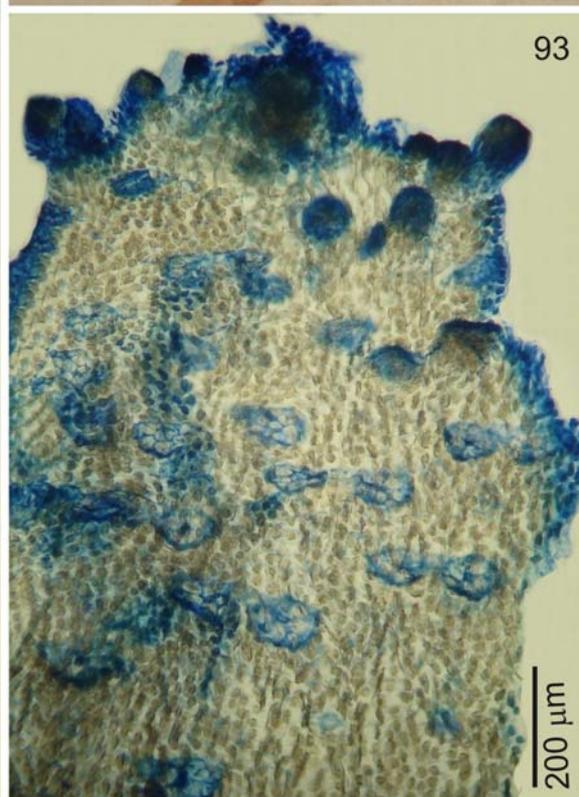
91

1 mm



92

200 μm



93

200 μm

Figs 94-99. *Laurencia decidua* Dawson. Holótipo (D. 12044).

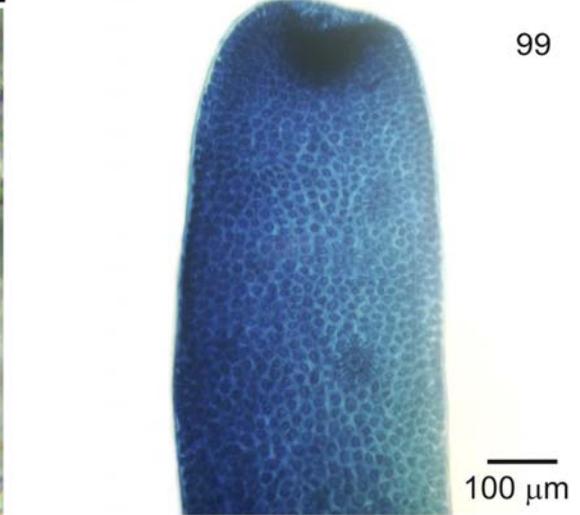
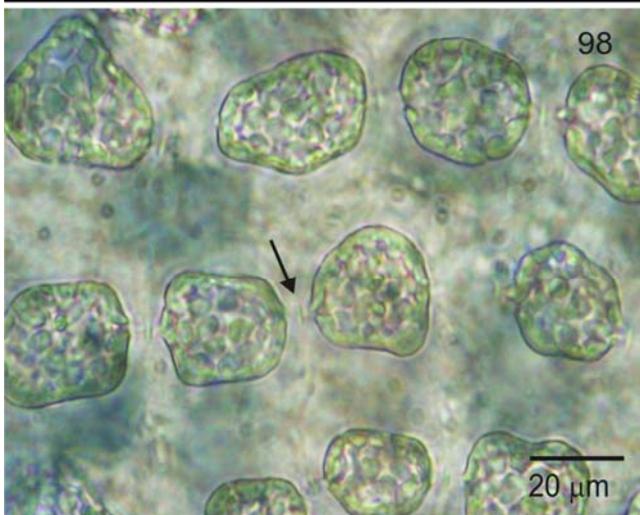
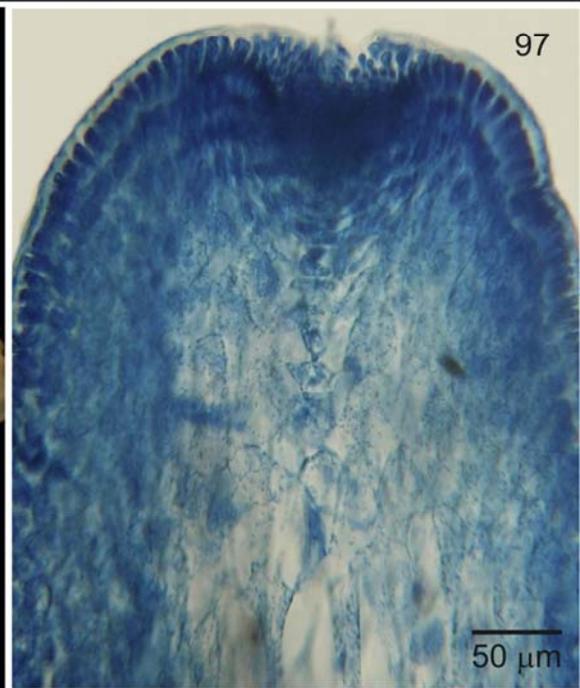
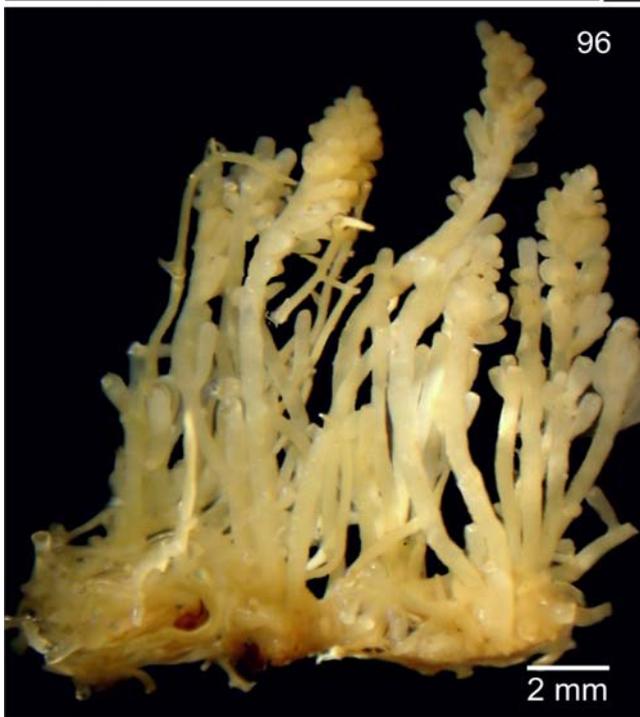
Figs 94-95. Hábito de dois espécimes. Note porção superior dos eixos com numerosos râmulos imbricados.

Fig. 96. Detalhe da base do talo mostrando ramos rastejantes e ramificados formando um massivo sistema basal.

Fig. 97. Corte longitudinal de um ramo com células corticais não projetadas além da superfície do talo.

Fig. 98. Vista superficial mostrando ligações secundárias entre as células corticais (seta).

Fig. 99. Vista superficial do ápice de um ramo mostrando que as cicatrizes estão ausentes.



Figs 100-104. *Laurencia decidua* Dawson. Holótipo (D. 12044).

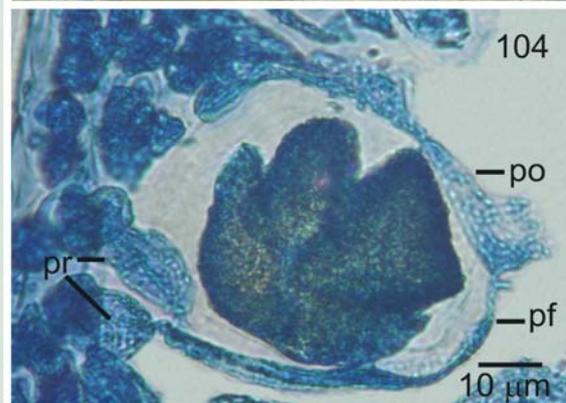
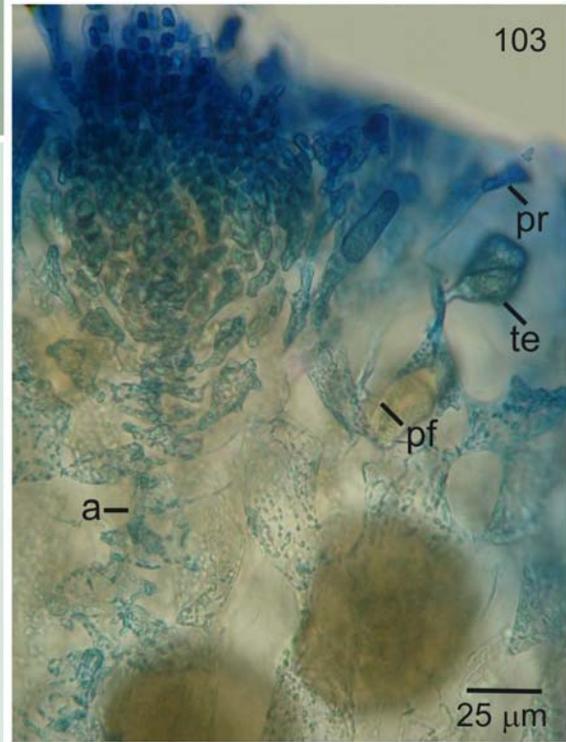
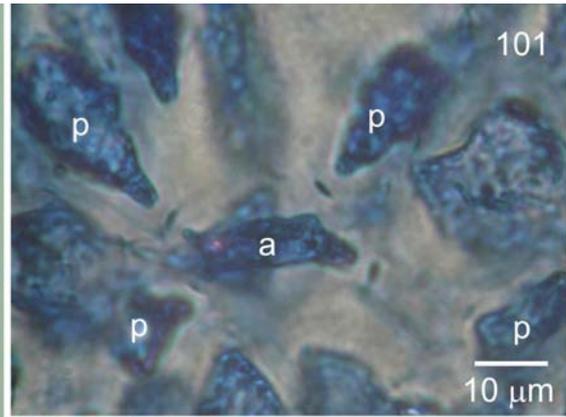
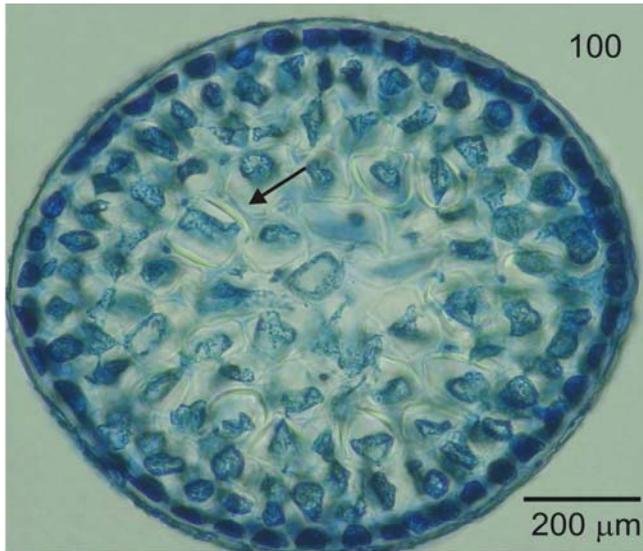
Fig. 100. Corte transversal do talo com espessamentos lenticulares na parede das células medulares (seta).

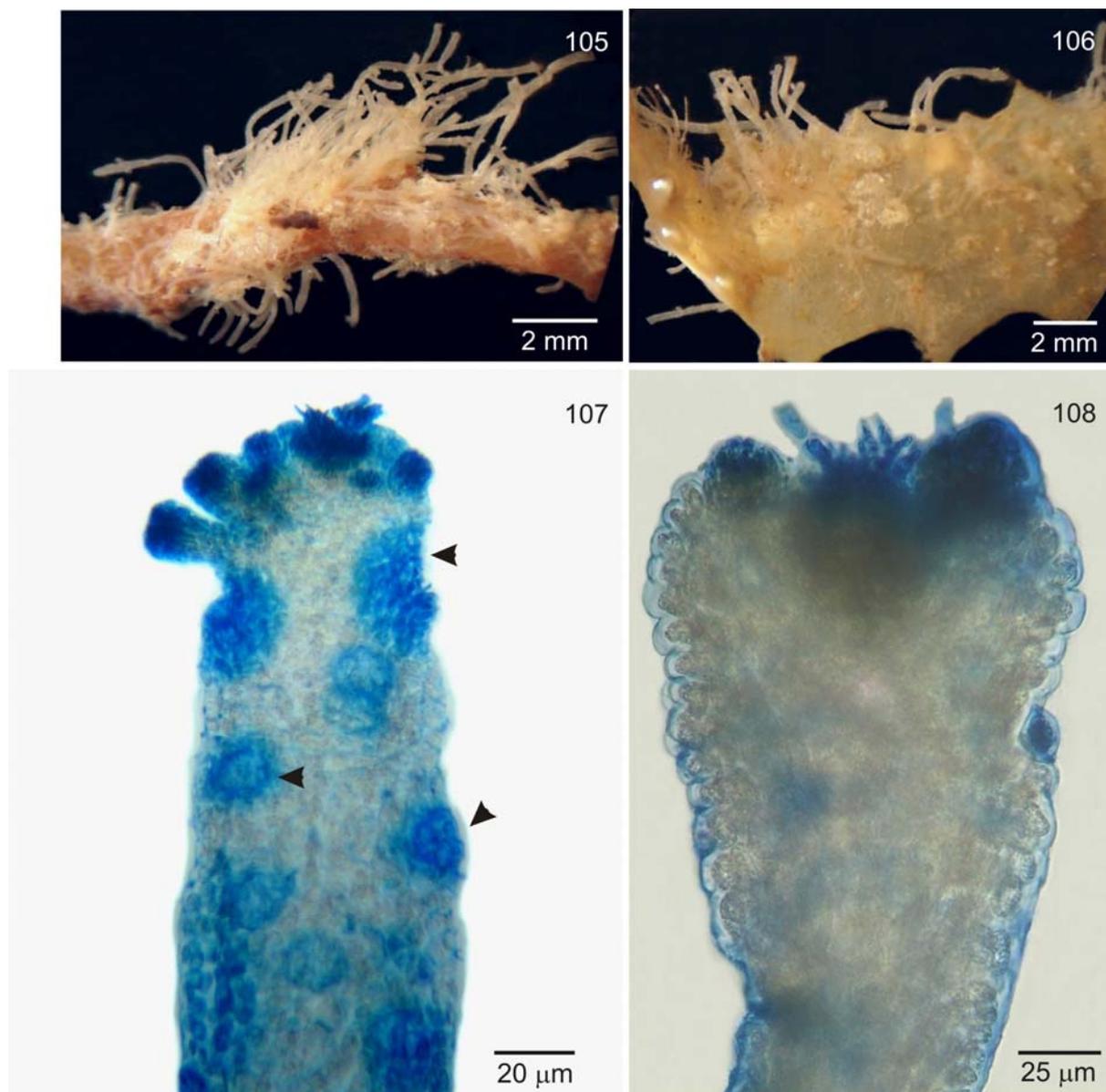
Fig. 101. Corte transversal da porção superior de um ramo mostrando célula axial (a) com quatro células pericentrais (p).

Fig. 102. Corte longitudinal de um ramo tetrasporangial mostrando arranjo paralelo dos tetrasporângios.

Fig. 103. Corte longitudinal de um râmulo tetrasporangial mostrando origem abaxial dos tetrasporângios (te) a partir das células pericentrais (pf); célula axial (a), células pré-esporangiais de cobertura (pr).

Fig. 104. Detalhe da célula pericentral fértil (pf) com duas células pré-esporangiais de cobertura (pr), a inicial do tetrasporângio (te) e célula pós-esporangial de cobertura (po) se dividindo para formação do sistema de corticação em volta do tetrasporângio.



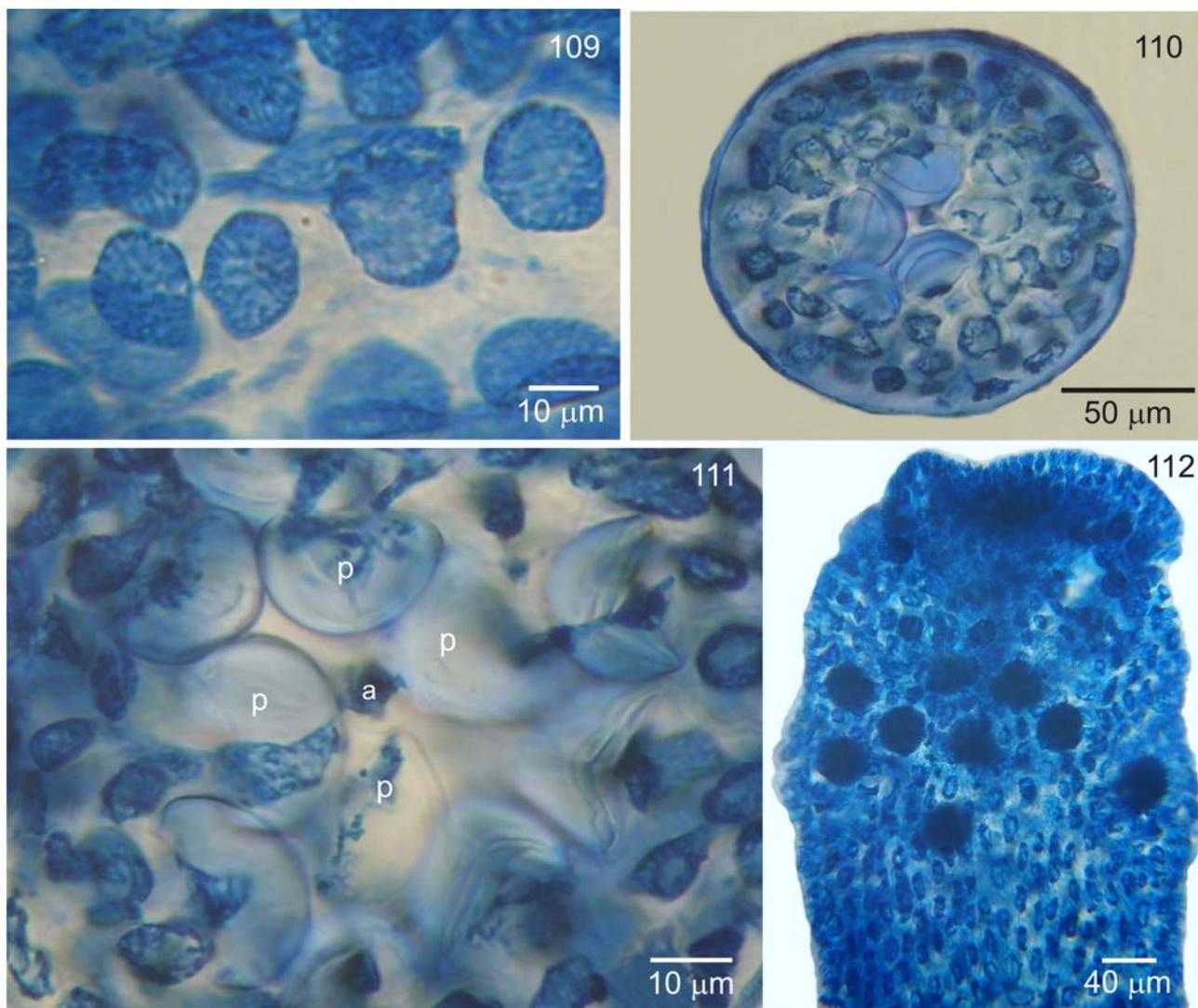


Figs 105-108. *Laurencia subcorymbosa* Dawson. Parátipo (D. 3290).

Figs 105-106. Hábito de espécimes crescendo sobre *Sargassum*.

Fig. 107. Porção superior de um ramo com pequenos râmulos decíduos no ápice e cicatrizes deixadas pela queda dos râmulos (pontas de seta).

Fig. 108. Vista superficial de um râmulo mostrando células corticais projetadas.



Figs 109-112. *Laurencia subcorymbosa* Dawson. Parátipo (D. 3290).

Fig. 109. Vista superficial mostrando células corticais com ligações secundárias.

Fig. 110. Corte transversal da porção mediana de um ramo mostrando espessamentos lenticulares nas paredes das células medulares.

Fig. 111. Corte transversal da porção superior de um ramo mostrando célula axial (a) com quatro células pericentrais (p). Note abundantes espessamentos lenticulares.

Fig. 112. Ápice de um ramo tetrasporangial mostrando arranjo paralelo dos tetrasporângios.

3.1.3.3. *Laurencia catarinensis* Cordeiro-Marino et M.T. Fujii, Revista Brasileira de Botânica 8: 47-53, figs 1-18. 1985.

Holótipo: Instituto de Botânica de São Paulo (SP164254)!

Localidade tipo: Praia Mole, Santa Catarina, Brasil

Figs 113-148.

Nomes mal aplicados para o Brasil: como *L. implicata* (Pedrini *et al.* 1994: 729, Széchy & Paula 1997: 6); como *L. intricata* (Széchy & Nassar 2005: 384, Széchy *et al.* 2005: 593).

Distribuição: Oceano Atlântico: Brasil: Santa Catarina (Cordeiro-Marino & Fujii 1985), Espírito Santo (Fujii & Senties 2005, este estudo), Rio de Janeiro (Pedrini *et al.* 1994, Széchy & Paula 1997, Széchy & Nassar 2005, Széchy *et al.* 2005).

Plantas de coloração marrom-esverdeada, frequentemente esverdeadas com ápices róseos, formando almofadas densamente intrincadas com até 8,5 cm de altura (Figs 113-116). Talos de consistência macia, aderindo bem ao papel de herbário quando secos. Eixos principais normalmente prostrados, fixos ao substrato por apressórios discóides (Fig. 117). Eixos eretos com 690-850 μm de diâmetro na porção mediana do talo. Talo cilíndrico com ramificação esparsa, alterna-espiralada, a irregular, às vezes unilateral em ângulo aberto a reto, com até três ordens de ramos. Anastomoses presentes entre os ramos. Râmulos de última ordem cilíndricos, simples ou com primódios de râmulos na porção apical, com 830-2600 x 300-580 μm . Em vista superficial, células corticais com dois a três *corps en cerise* por célula (Figs 118, 119), um por célula do tricoblasto. Células corticais regularmente arranjadas em fileiras longitudinais e conectadas entre si por ligações secundárias orientadas longitudinalmente (Fig. 120). Células corticais poligonais nas porções superiores do talo; longitudinalmente alongadas nas porções medianas, com 80-167,5 x 35-67,5 μm (Fig. 120) e poligonais-alongadas nas porções inferiores. Em corte longitudinal mediano do talo, células corticais ligeira a distintamente projetadas próximo ao ápice dos ramos (Figs 121, 122). Em corte transversal, talo com uma a duas camadas de células corticais pigmentadas e três a quatro camadas de células medulares hialinas (Fig. 123). Células corticais quadráticas a cuneiformes com 25-65 x 25-57,5 μm na porção mediana do talo. Células medulares arredondadas a ligeiramente alongadas radialmente e uniformemente espessadas, aumentando gradativamente de tamanho em direção ao centro do talo, com 77,5-140 x 55-122,5 μm . Espaços intercelulares presentes no eixo principal. Cada segmento axial vegetativo produz

quatro células pericentraes que são ligeiramente maiores do que as células medulares circunvizinhas (Figs 124 e 145). No ápice dos ramos, a primeira célula pericentral é produzida abaixo da célula basal do tricoblasto (Fig. 146). Espessamentos lenticulares ausentes.

Plantas masculinas com râmulos férteis claviformes, caracteristicamente mais intumescidos que os demais com 500-900 μm de diâm. simples ou compostos (Figs 125, 126). Em corte longitudinal, depressão espermatangial em forma de taça, com uma fileira de células axiais discerníveis na base da depressão (Fig. 127). Espermatângios produzidos por tricoblastos, originados da célula axial, formados em densos grupos de filamentos ramificados dicotomicamente. Dois ramos laterais são formados sobre a célula suprabasal do tricoblasto, um deles permanece estéril e o outro torna-se fértil, produzindo numerosos espermatângios. Ramos férteis (Fig. 128) terminados em uma única célula vesicular estéril com 12,5-30 x 15-22,5 μm (Fig. 129). Espermatângios com um único espermácio ovóide, com 7,5-10 x 3-7,5 μm , com um núcleo na extremidade de cada célula (Fig. 130).

Plantas femininas com procarpo desenvolvido a partir da célula basal do tricoblasto próximo a célula apical do râmulo. Ramo carpogonial com quatro células e dois grupos de células estéreis (basal e lateral) (Figs 133-135). Desenvolvimento do procarpo é semelhante ao descrito para *L. aldingensis*. Após a fertilização, a célula suporte produz uma célula auxiliar que se funde com as células do ramo carpogonial e com a própria célula suporte formando uma grande célula de fusão (Figs 136-137). A partir da célula de fusão formam-se filamentos gonimoblásticos que dão origem a carposporângios terminais, os quais liberam carpósporos por uma abertura apical, o ostíolo. Carposporângios cuneiformes alongados com 92,5-162,5 x 30-60 μm . Cistocarpos piriformes, proeminentes no talo, dispostos subapicalmente nos râmulos, com 490-810 μm de diâmetro, sem ostíolo proeminente (Figs 131-132, 138). Número de células pericentraes no segmento que origina o procarpo não observado.

Ramos tetrasporangiais cilíndricos, simples ou compostos, com 910-3400 x 440-650 μm (Fig. 139). No ápice dos râmulos, duas células pericentraes tornam-se férteis, a terceira e a quarta e as demais permanecem vegetativas (Fig. 140). Cada célula pericentral fértil corta distalmente duas células pré-esporangiais de cobertura, a célula-mãe do tetrasporângio, em posição abaxial, e uma célula pós-esporangial de cobertura (Figs 141-142, 147). A célula pós-esporangial se divide e contribui para a formação da corticação em volta do tetrasporângio. Em vista superficial do râmulo fértil, as células pré-esporangiais de cobertura permanecem indivisas, sem ligações secundárias entre elas e estão alinhadas transversalmente em relação ao eixo do râmulo fértil (Fig. 148). Os tetrasporângios são formados e deslocados da porção

apical, em espiral no sentido horário (Fig. 143), à medida que novos terasporângios são produzidos, conferindo um arranjo final do tipo paralelo em relação ao eixo do râmulo fértil (Fig. 144). Tetrasporângios tetraedicamente divididos, com 90-125 µm de diâm.

Habitat: Plantas crescendo do mesolitoral inferior até 3 m de profundidade, em locais protegidos a moderadamente expostos à ação das ondas, epilíticas ou epífitas em *Sargassum* spp. e *Laurencia dendroidea*.

Material examinado: Brasil: Rio de Janeiro: Baía da Ilha Grande: Angra dos Reis, Baía de Angra dos Reis, Ponta do Jangó, iii.2005, planta masculina, *M.T.M. de Széchy* (SP 399.891), Ilha do Bonfim, 13.xii.2006, *V. Cassano, M.T.M. de Széchy & M.T. Fujii* (SP399.892), Ilha de Cataguazes, 13.xii.2006, *leg. V. Cassano, M.T.M. de Széchy & M.T. Fujii*, planta tetraspórica (SP 399.893), Ilha Cavaco, 21.vi.2008, *V. Cassano* (SP399.808), Ilha Peregrino, 25.vi.2008, planta tetraspórica, *V. Cassano* (SP399.898), Baía da Ribeira, Saco de Piraquara de Fora, Praia do Velho, 15.xii.2006, *V. Cassano, M.T.M. de Széchy & M.T. Fujii* (SP399.894), 19.iii.2008, *M.T. Fujii* (SP399.895), Ponta do Arame, 22.i.2006, *V. Cassano & J.C. De-Paula*, planta masculina (SP399.896), Saco de Piraquara de Dentro, Ponta da Fortaleza, 24.x.2004, *V. Cassano*, planta masculina, feminina e tetraspórica (SP399.889), 14.xii.2006, *V. Cassano, M.T.M. de Széchy & M.T. Fujii*, planta masculina, feminina e tetraspórica (SP399.890), Ilha Grande, Praia do Bananal, 25.ii.2005, *V. Cassano & J.C. De-Paula*, planta tetraspórica (SP399.897), Parati, Baía de Parati, Ilha Comprida, 09.ii.2005, *V. Cassano*, planta tetraspórica (SP399.899), 25.ii.2007, *V. Cassano* (SP399.807); **como *Laurencia intricata* J.V. Lamouroux:** Mangaratiba, Ilha Guaíba, 21.xi.2001, 0,5 m (Globallast), *G.M. Amado Filho* (RB390323). **Espírito Santo:** Anchieta, Ponta dos Castelhanos, 05.x.2006, *M.T. Fujii & V. Cassano* (SP399.937).

Material adicional examinado: *Laurencia intricata* J.V. Lamouroux: Lesser Antilles: St. Kitts, Dieppe Bay, 25.xi.1995, *scattered tetrasporangia (parallel)*, *M.Edlund & M. Wynne 10593* (MICH s/n); **Cuba:** Isla de Pinos, Playa Colombo, 02.i.1952, *E.P. Killip 41675* (MICH s/n), Ciega de Ávila, Cayo Coco, 25.ix.2005, *M.T. Fujii* (SP365.669), 4.x.2007, 2 m depth, *R. Cabrera* (MICH s/n); **Flórida:** Miami, Biscayne Bay, east of Rickenbacker Causeway, 04.v.1949, *E.Y. Dawson 7309C* (MICH s/n); **como *Laurencia implicata* J. Agardh:** West Indies, St. Kitts, South Friar's Beach, 26.xi.1995, *M.Edlund & M. Wynne 10727* (MICH s/n), Dry Tortugas, Loggerhead Key, 06.xi.1924, *W.R. Taylor* no. 56 (MICH s/n), 1 ½ mi of

Loggerhead Key, dredged Sta. 227 at 45-40 ft., 19.vi.1925, *W.R. Taylor* no. 875 (MICH s/n), Content Keys, 19.vi.1994, 1-2 m depth, *M. Wynne* 9952 (MICH s/n); **México:** Quintana Roo, in front of Estacion Puerto Morelos, 29.v.1992, 2 m depth, *M. Wynne* 9787 (MICH s/n).

Figs 113-119. *Laurencia catarinensis* Cordeiro-Marino et M.T. Fujii.

Figs 113-116. Hábito de quatro plantas.

Fig. 113. Planta viva.

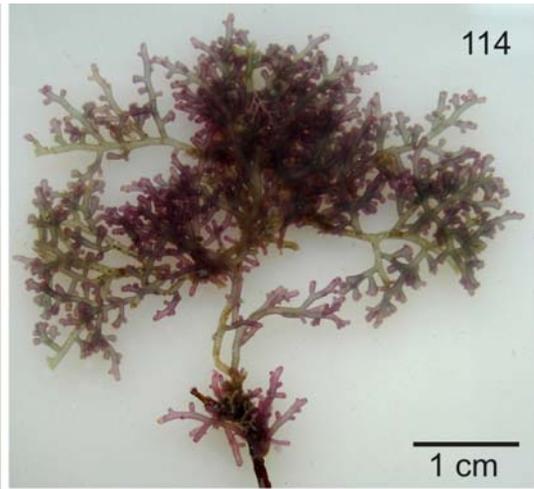
Fig. 114. Planta masculina.

Fig. 115. Planta feminina.

Fig. 116. Planta tetraspórica.

Fig. 117. Porção basal do talo com apressório discóide (seta).

Figs 118-119. Vista superficial das células corticais com 2 a 3 *corps en cerise* por célula (setas).



Figs 120-124. *Laurencia catarinensis* Cordeiro-Marino *et* M.T. Fujii.

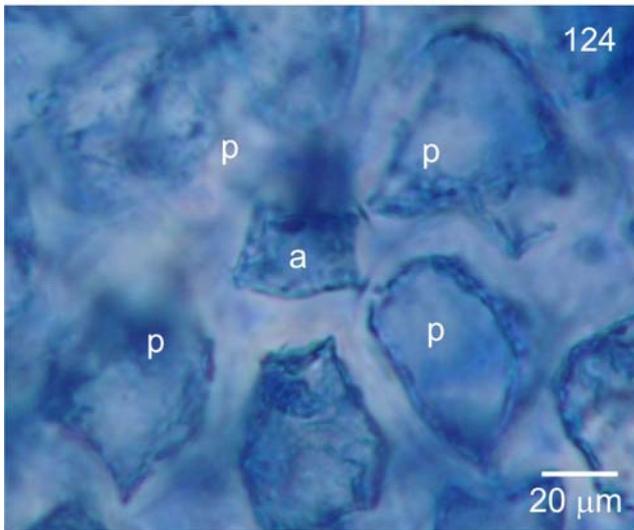
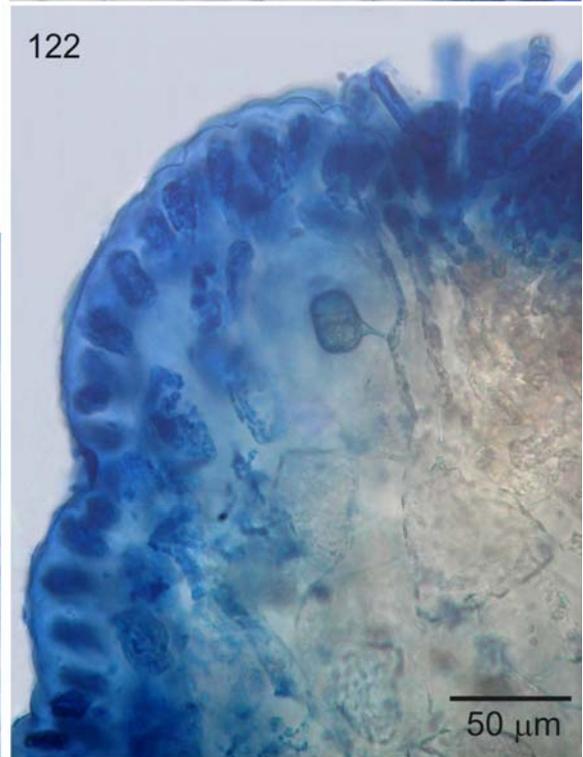
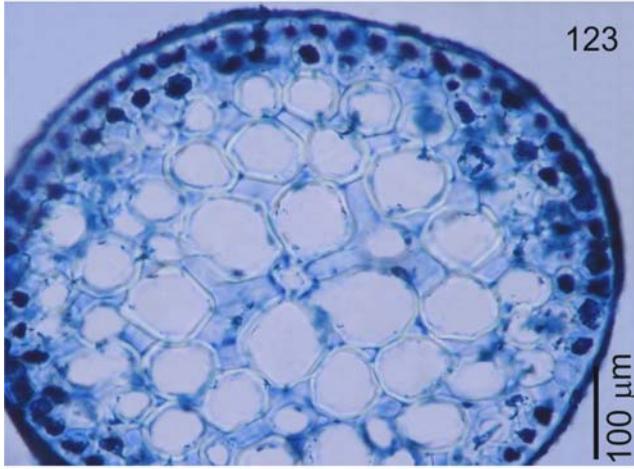
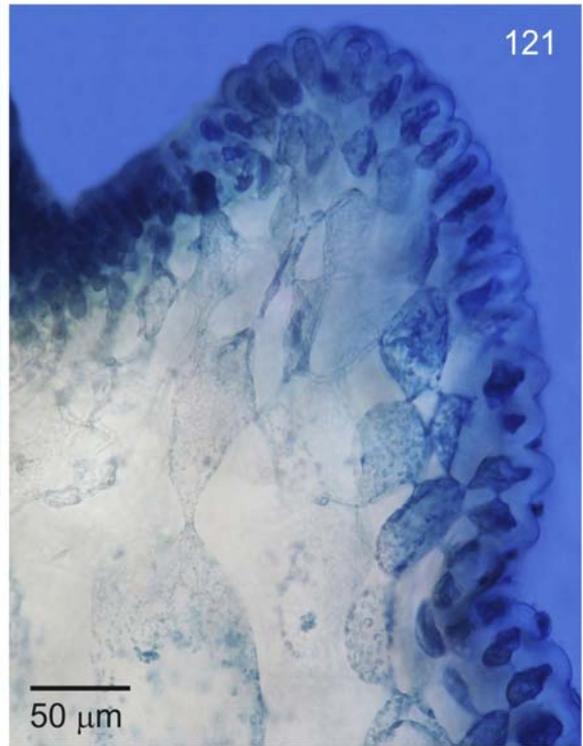
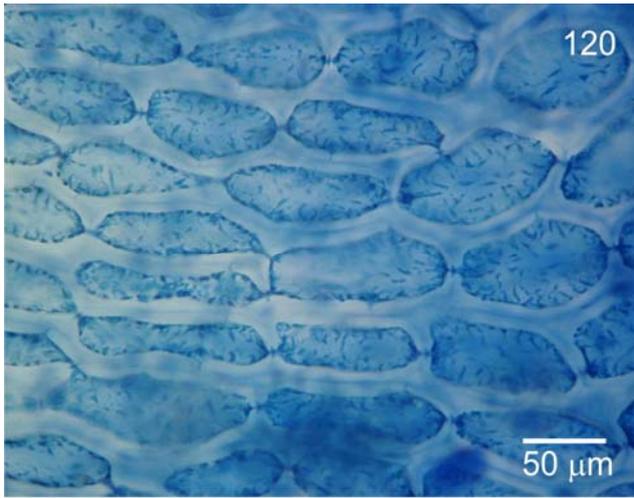
Fig. 120. Vista superficial da porção mediana do talo mostrando células corticais com ligações secundárias.

Fig. 121. Corte longitudinal mediano do talo com células corticais projetadas próximo ao ápice dos ramos.

Fig. 122. Corte longitudinal mediano com células corticais ligeiramente projetadas.

Fig. 123. Corte transversal do talo mostrando duas camadas de células corticais pigmentadas e três camadas de células medulares hialinas.

Fig. 124. Corte transversal da porção superior de um ramo mostrando célula axial (a) com quatro células pericentraes (p).



Figs 125-130. *Laurencia catarinensis* Cordeiro-Marino et M.T. Fujii. Detalhe das plantas masculinas.

Fig. 125. Porção apical do talo com râmulos espermatangiais.

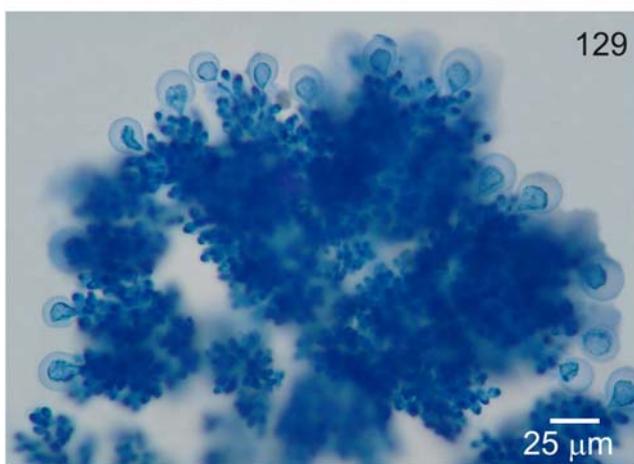
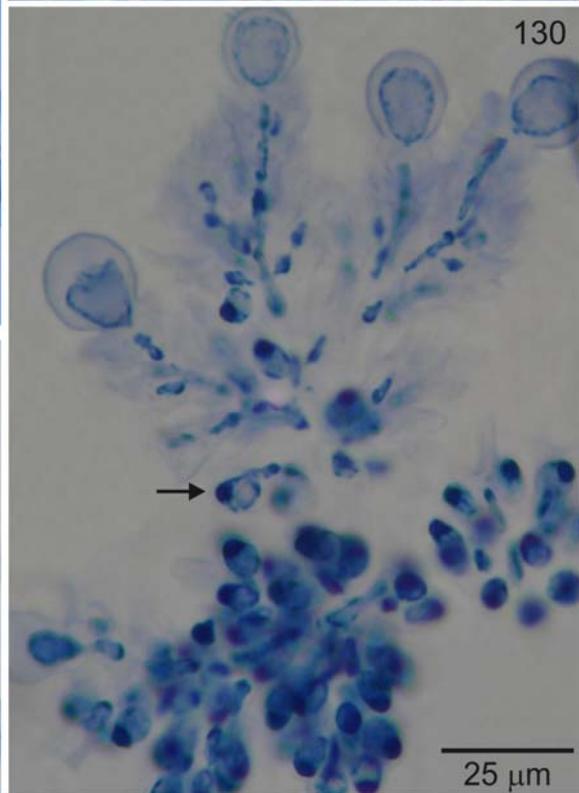
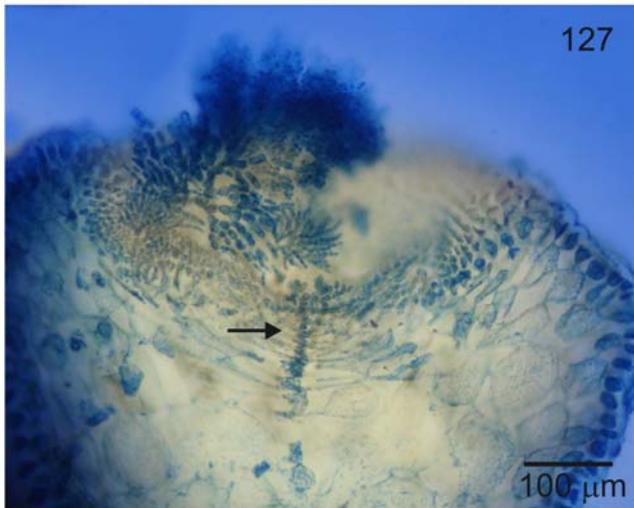
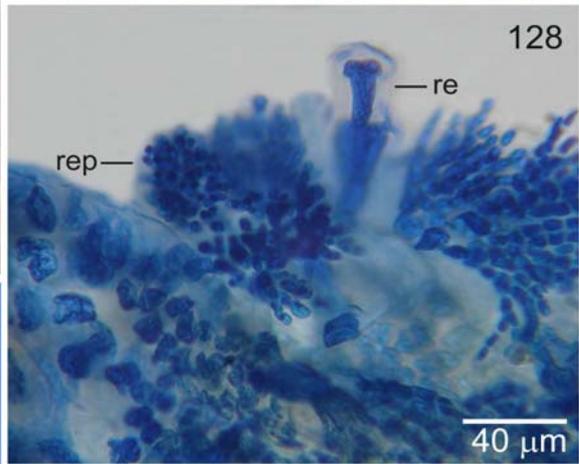
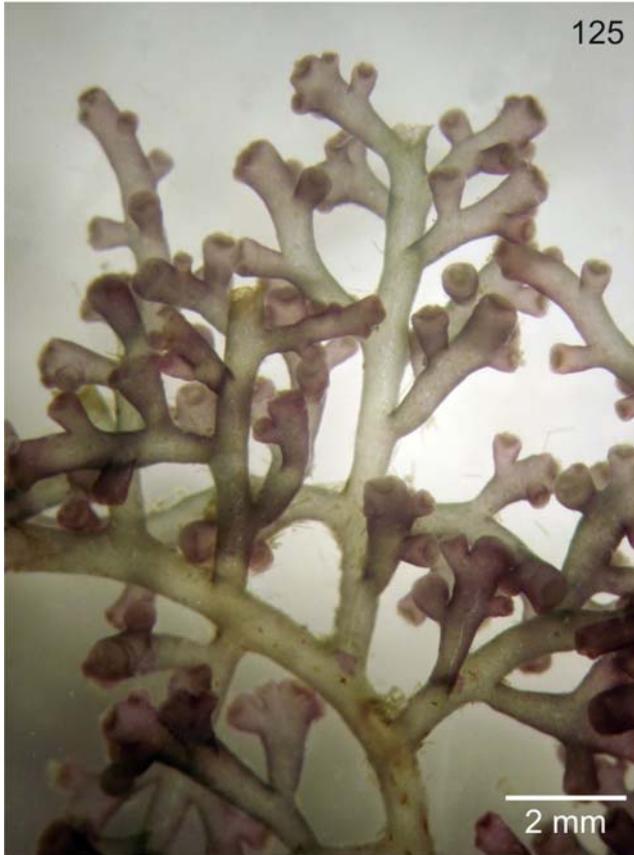
Fig. 126. Detalhe dos râmulos espermatangiais.

Fig. 127. Corte longitudinal de um râmulo espermatangial mostrando depressão em forma de taça e fileira de células axiais discerníveis na base da depressão (seta).

Fig. 128. Detalhe do filamento espermatangial mostrando ramos férteis (rep) e ramos estéreis (re).

Fig. 129. Filamentos espermatangiais com espermatângios e células vesiculares estéreis.

Fig. 130. Detalhe dos espermatângios mostrando espermácios com um núcleo na extremidade de cada célula (seta).



Figs 131-138. *Laurencia catarinensis* Cordeiro-Marino *et* M.T. Fujii. Detalhe das plantas femininas.

Fig. 131. Porção apical do talo mostrando râmulos com cistocarpos (seta).

Fig. 132. Detalhe dos cistocarpos.

Figs 133-135. Sequência do desenvolvimento do procarpo.

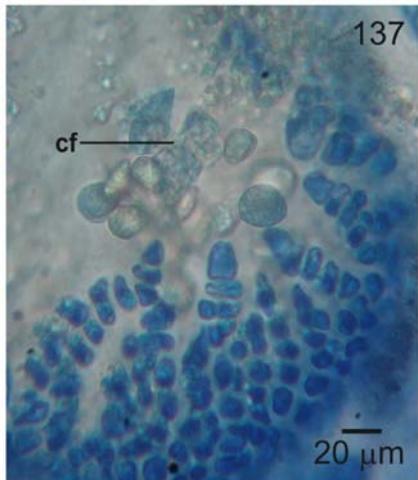
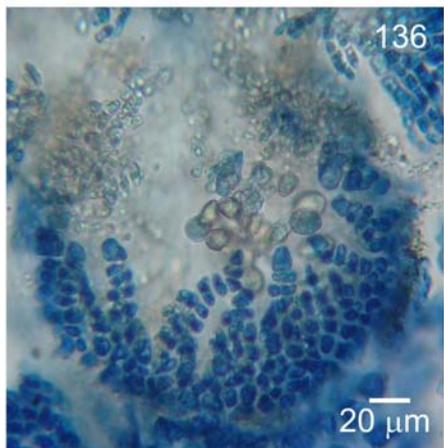
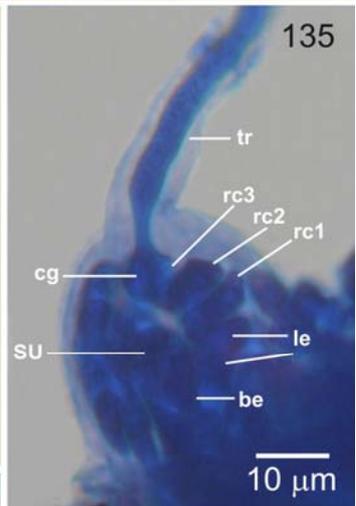
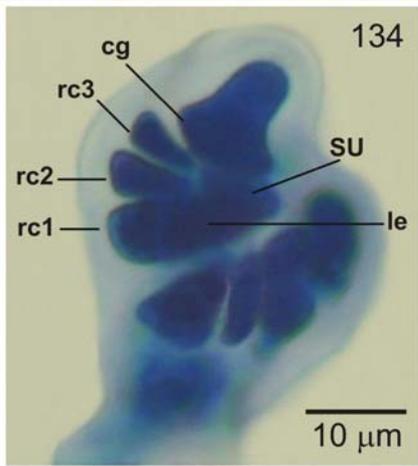
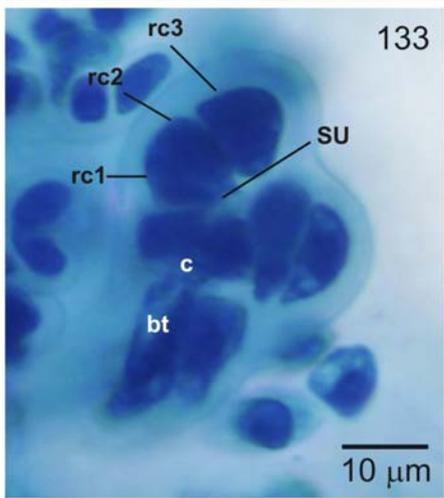
Fig. 133. Início da formação do ramo carpogonial (rc1-3); célula suporte do ramo carpogonial (SU); célula central do segmento que origina o procarpo (c), célula basal do tricoblasto (bt).

Fig. 134. Início da formação do carpogônio; grupo de células laterais estéreis (le).

Fig. 135. Procarpo antes da fertilização com ramo carpogonial com quatro células (rc1-3 e carpogônio, cg); tricogine (tr); grupo de células basais estéreis (be).

Figs. 136-137. Estádios pós-fertilização mostrando célula de fusão e início da formação dos gonimoblastos; célula de fusão (cf).

Fig. 138. Corte longitudinal de um râmulo feminino com cistocarpo proeminente.



Figs 139-144. *Laurencia catarinensis* Cordeiro-Marino *et* M.T. Fujii. Detalhe de plantas tetraspóricas.

Fig. 139. Porção apical do talo mostrando râmulos tetrasporangiais.

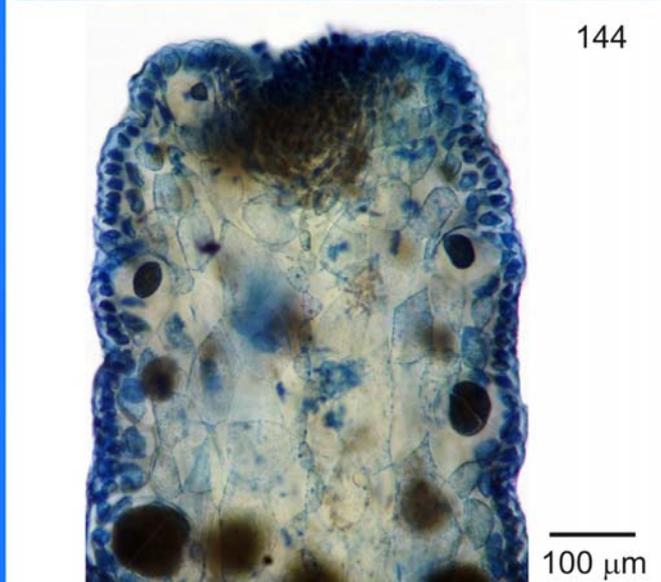
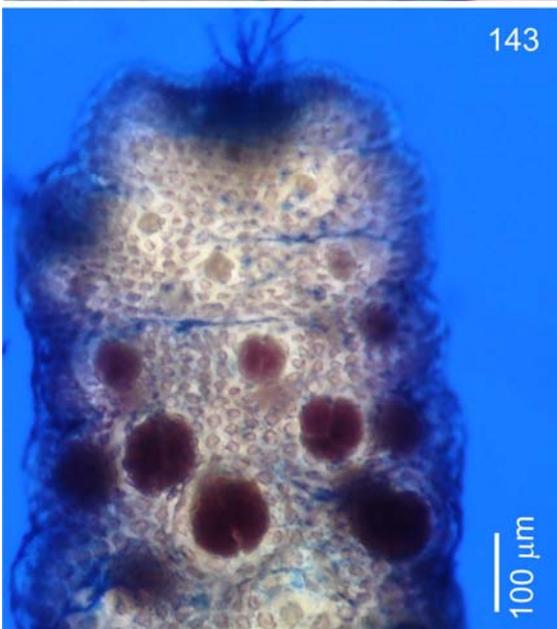
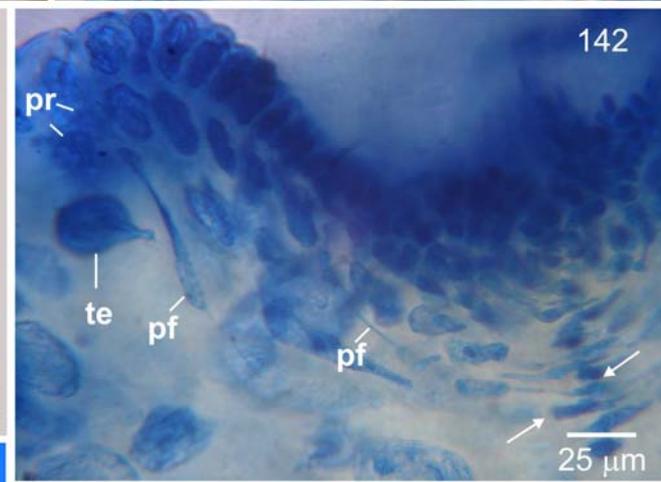
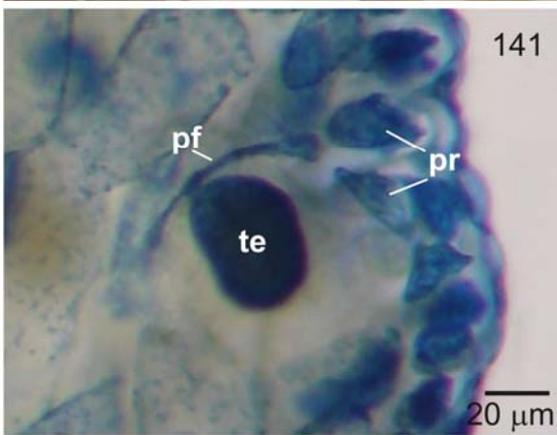
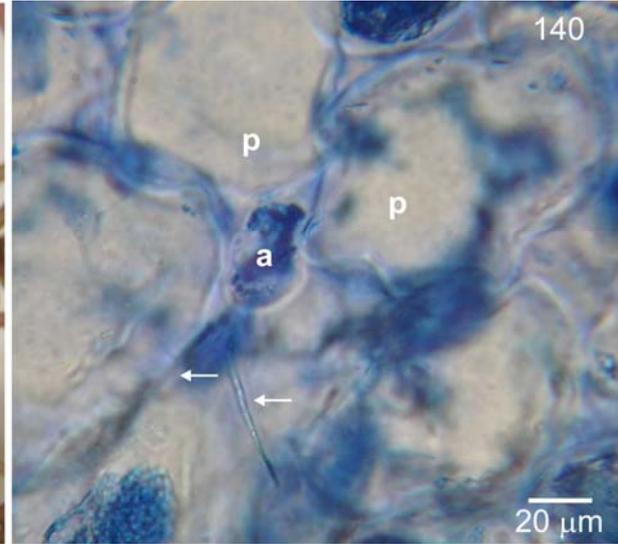
Fig. 140. Corte transversal mostrando segmento tetrasporangial com duas células pericentrais férteis (setas), células pericentrais vegetativas (p) e célula axial (a).

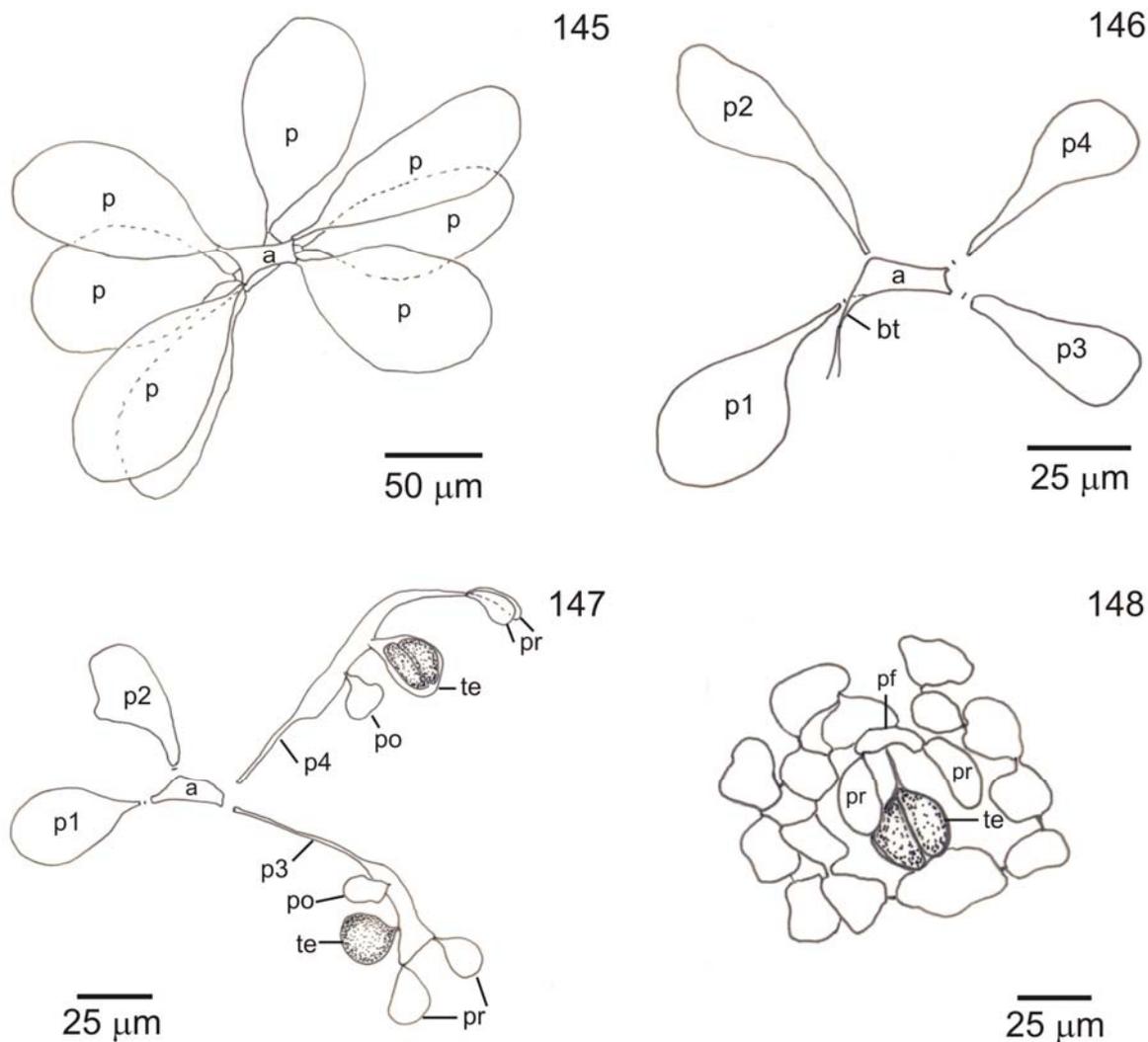
Fig. 141. Detalhe da célula pericentral fértil (pf) com duas células pré-esporangiais de cobertura (pr) e a inicial do tetrasporângio (te).

Fig. 142. Corte longitudinal de um râmulo tetrasporangial mostrando origem abaxial dos tetrasporângios (te) a partir das células pericentrais (pf), células pré-esporangiais de cobertura (pr), célula axial (setas).

Fig. 143. Vista superficial de um ramo tetrasporangial mostrando maturação dos tetrasporângios em espiral no sentido horário.

Fig. 144. Corte longitudinal mostrando arranjo paralelo dos tetrasporângios.





Figs 145-148. *Laurencia catarinensis* Cordeiro-Marino et M.T. Fujii.

Fig. 145. Corte transversal da porção apical de um ramo mostrando dois segmentos axiais sobrepostos com quatro células pericentrais (p) e célula axial (a).

Fig. 146. Corte transversal próximo ao ápice de um râmulo mostrando segmento axial vegetativo com célula axial (a) e células pericentrais (p1-p4), com a primeira célula pericentral (p1) produzida abaixo da célula basal do tricoblasto (bt).

Fig. 147. Representação esquemática de um corte transversal próximo ao ápice de um râmulo tetrasporangial mostrando segmento axial com duas células pericentrais férteis, a terceira e a quarta (p3-p4) com tetrasporângios (te), duas células pré-esporangiais de cobertura (pr) e uma pós-esporangial de cobertura (po); a primeira e a segunda células pericentrais permanecem vegetativas (p1-p2), célula axial (a).

Fig. 148. Vista superficial do talo mostrando duas células pré-esporangiais de cobertura (pr) com arranjo do tipo transversal; pericentral fértil (pf).

Comentários

Laurencia catarinensis foi descrita originalmente por Cordeiro-Marino & Fujii (1985) para a localidade de Santa Catarina, Brasil (Fig. 149). A espécie foi caracterizada por seu talo de coloração esverdeada, hábito fortemente entrelaçado formando densas almofadas com coralináceas articuladas, células corticais ligeiramente projetadas próximo ao ápice dos ramos e ausência de espessamentos lenticulares nas paredes das células medulares. Fujii (1990) e Fujii & Senties (2005) discutiram a proximidade dessa espécie com *L. caraibica*, *L. intricata* e *L. oliveirana* por compartilharem talo de tamanho reduzido e hábito intricado formando densas almofadas. As espécies foram diferenciadas entre si por uma combinação de características envolvendo cor, padrão de ramificação e estruturas anatômicas do talo, como projeção das células corticais e presença ou ausência de espessamentos lenticulares. *Laurencia intricata* foi separada de *L. catarinensis* por apresentar talo de coloração rósea e células corticais distintamente projetadas. *Laurencia oliveirana* distingue-se de *L. catarinensis* pela ramificação predominantemente unilateral pectinada, raros espessamentos lenticulares (observados pela primeira vez neste estudo) e por seus longos ramos claviformes, enquanto *L. caraibica* apresenta talo de menor porte com aspecto dorsi-ventral, ramificação geralmente unilateral, presença de anastomoses entre ramos e abundantes espessamentos lenticulares (Yoneshigue 1985, Fujii 1990, Senties & Fujii 2002, Fujii & Villaça 2003, Fujii & Senties 2005).

Morfologicamente, *Laurencia caraibica* e *L. oliveirana* são facilmente diferenciadas de *L. catarinensis*, entretanto a distinção entre esta espécie e *L. intricata* com base na coloração dos talos e no grau de projeção das células corticais é muito tênue. Os espécimes de *L. catarinensis* analisados neste estudo provenientes do Rio de Janeiro apresentaram talos predominantemente esverdeados, porém com células corticais distintamente projetadas, o que nos levou a identificá-los inicialmente como *L. intricata*. As análises moleculares realizadas com espécimes do Rio de Janeiro, Espírito Santo e Rio Grande do Norte, designados como *L. intricata*, e de *L. catarinensis* da localidade-tipo, revelaram que todos devem ser tratados como uma única entidade taxonômica: *L. catarinensis* (figs 437-440, págs 262-268). Esses espécimes apresentam variação na cor dos talos, de esverdeado a róseo-púrpura, e no grau de projeção das células corticais, de ligeira a distintamente projetadas, mas mantêm o mesmo hábito intricado. Os espécimes identificados como *L. intricata* das Ilhas Canárias, Espanha se agruparam com os espécimes brasileiros com altos valores de bootstrap. Entretanto, os provenientes de Cuba, região da localidade-tipo (Antilhas), México e Flórida formaram um

grupo distinto também com alto suporte (Fig.437, pág. 262). Esses resultados mostram que os espécimes do Caribe e do Golfo do México formam uma entidade taxonomicamente distinta daquela que ocorre no litoral brasileiro e nas Ilhas Canárias.

Laurencia intricata foi proposta por Lamouroux (1813) sem uma descrição original e foi considerada uma espécie inválida por Silva *et al.* (1987) que adotaram o nome *L. implicata* J. Agardh, em substituição a *L. intricata*, baseados na coespecificidade dos táxons proposta por Howe (1918). Entretanto, Silva *et al.* (1996) revalidaram o nome *L. intricata* com base no CINB (art. 44.2) que considera para nomes de plantas não vasculares publicadas antes de 1º de janeiro de 1908, uma ilustração suficiente para validar uma publicação, como a fornecida por Lamouroux (1813, pl. 8, figs 8 e 9). O material tipo, depositado na Universidade de Caen (CN) França, não pôde ser consultado para esclarecer os aspectos morfológicos desse táxon (materiais depositados em CN não são enviados em empréstimo), mas a fotografia do material tipo é reproduzida aqui (Fig. 150). A exsicata consta de três espécimes e alguns fragmentos de talo. O talo é intricado na base com ramos eretos esparsos, ramificados irregularmente em ângulo aberto a reto. As ilustrações fornecidas por Lamouroux (1813) não apresentam detalhes suficientes para um melhor entendimento da espécie.

Após o estabelecimento de *Laurencia intricata*, a espécie foi citada para diferentes localidades, sendo amplamente distribuída em regiões tropicais e temperadas quentes do mundo (Masuda *et al.* 1998). A comparação entre *L. catarinensis* e *L. intricata* é mostrada na Tabela 9. Com base nos dados da literatura não há características morfológicas diagnósticas capazes de separar esses dois táxons. O exame dos materiais de *L. intricata* depositados no herbário da Universidade de Michigan, EUA (MICH) procedentes de Cuba, México, Flórida e Pequenas Antilhas mostrou que esses espécimes são semelhantes entre si, apresentando hábito intricado e ramificação frouxa com ramos dispostos em ângulo aberto a reto (Figs 151-180). Os espécimes de Cuba (Cayo Coco e Isla de Pinos) (Figs 151-158), do México (Quintana Roo, Puerto Morelos) (Figs. 159-163) e da Flórida (Biscayne Bay, Content Keys e Dry Tortugas, n.º. 56) (Figs 164-173) possuem células corticais com paredes distintamente projetadas e células medulares espessadas com abundantes espessamentos lenticulares, exceto no material de Puerto Morelos, cujas paredes das células medulares são mais finas e os espessamentos lenticulares menos frequentes (Figs 162-163). Espessamentos lenticulares foram facilmente observados nesses materiais, embora eles não constem nas descrições dessa espécie fornecidas por diferentes autores (Saito 1967, Nam & Saito 1995, Masuda *et al.* 1998, Furnari *et al.* 2001, Senties & Fujii 2002, Dawes & Mathieson 2008). Em contrapartida, espessamentos lenticulares não foram observados nos espécimes da Flórida (Dry Tortugas,

no. 875) (Figs 174) e das Pequenas Antilhas (St. Kitts) (Figs 175-180), embora as paredes das células medulares sejam bastante espessadas (Figs 176-177). Nesses materiais as paredes das células corticais não são projetadas ou são ligeiramente projetadas (Fig. 180). A discrepância entre as descrições de *L. intricata* da literatura e as nossas observações indica a necessidade de uma revisão crítica dessa espécie, incluindo um estudo molecular mais amplo com amostragens de diferentes localidades, pois há possibilidade de espécies distintas estarem sendo citadas sob o mesmo epíteto específico.

A distinção morfológica entre *Laurencia catarinensis* e *L. intricata* é extremamente difícil devido às espécies apresentarem o mesmo hábito e compartilharem a maioria das características anatômicas vegetativas e reprodutivas. Com base na observação de materiais de diferentes procedências, nós consideramos que *Laurencia catarinensis* pode ser separada de *L. intricata* do Caribe e do Golfo do México pela ausência de espessamentos lenticulares, nunca observados nos espécimes da localidade-tipo (Cordeiro-Marino & Fujii 1985), Rio de Janeiro (este estudo) e Ilhas Canárias (Masuda *et al.* 1998, como *L. intricata*). Embora o emprego da presença ou ausência de espessamentos lenticulares como caráter diagnóstico seja problemático para a separação de algumas espécies do complexo *Laurencia*, pois pode variar entre indivíduos de uma mesma espécie, nós consideramos como um critério útil para a separação desses dois táxons.

A inferência filogenética e a divergência verificada entre as sequências do *rbcL* e do *cox1* apóiam a identificação de *Laurencia catarinensis* e *L. intricata* como espécies distintas, mas a convergência morfológica indica que esses táxons formam um complexo de espécies.

Os espécimes descritos como *L. intricata* para o estado de São Paulo e Bahia não foram transferidos para *L. catarinensis* por falta de material disponível para comparação de sequências de DNA. O táxon designado como *Laurencia* sp.3, sequenciado neste estudo, procedente da Ilha Vitória, norte do estado de São Paulo, foi inicialmente identificado como *L. intricata*, porém os dados moleculares mostraram que se trata de uma espécie distinta. O mesmo foi verificado para o táxon *Laurencia* sp.2, previamente identificado como *L. intricata*, procedente do Espírito Santo (Figs 438-440, págs 264-268). Novas amostragens nos locais de ocorrência desses dois táxons em São Paulo, Bahia e Espírito Santo são necessárias para esclarecer as posições taxonômicas dessas entidades.

Tabela 9. Comparação morfológica entre *Laurencia catarinensis* Cordeiro-Marino et M.T. Fujii e *L. intricata* J.V. Lamouroux.

Espécies/ Referências	<i>L. catarinensis</i> Cordeiro- Marino & Fujii (1985) Fujii & Senties (2005) Presente estudo	<i>L. intricata</i> Taylor (1928, 1960) Dawes & Mathieson (2008) Presente estudo	<i>L. intricata</i> Saito (1967) Nam & Saito (1995)	<i>L. intricata</i> Masuda et al. (1998)	<i>L. intricata</i> Furnari et al. (2001)	<i>L. intricata</i> Senties & Fujii (2002) Presente estudo
Localidade / Características	Brasil	Flórida, México, Ilhas do Caribe	Japão	Ilhas Canárias, Espanha	Mar Mediterrâneo, Mar Adriático	México (Caribe)
Habitat	Epilítica ou epífita, crescendo do mesolitoral inferior até 3 m, associada a coralináceas articuladas	Epífita ou epilítica crescendo de 9,2 a 36,6 m	Epilítica ou epífita em <i>Sargassum</i>	Epilítica ou epífita em coralináceas ou outras macroalgas, crescendo no mesolitoral inferior	-	Epífita em algas e fanerógamas aquáticas crescendo do mesolitoral até 1 m
Hábito / Altura do talo	Emaranhado em forma de almofada; até 8,5 cm	Solitário ou formando tapetes frouxos ou em tufo emaranhados na porção basal; 5-25 cm	Densos tufo emaranhados nas porções basais	Densamente emaranhado, ramos coalescidos na porção basal; 3-10 cm	Densamente emaranhado, ramos coalescidos na porção basal	Emaranhado ou em densas almofadas intricadas
Cor do talo	Esverdeada, rósea ou rósea-púrpura, às vezes esverdeada com ápices róseos	Amarelada a rósea avermelhada	Rósea-púrpura em talos jovens; esverdeados com ápices róseos em talos velhos	Vermelho-esverdeada, normalmente com ápices róseos	-	Rósea-púrpura
Ramificação	Irregular, radial ou unilateral, em ângulo aberto a reto	Irregular, alterna ou oposta, esparsa, em ângulo reto	Irregular na base; alterna, oposta ou subverticilada acima	Irregular, radial	Irregular	Irregular, radial
Número de <i>corps en</i> <i>cerise</i> por célula cortical	2 (3)	-	-	2-4	2-4	2-3
Projeção das células corticais	Presente (ligeira a distintamente projetadas)	-	Ausente/ presente (ligeiramente projetadas)	Presente (ligeiramente projetadas)	Presente (ligeiramente projetadas)	Presente (distintamente projetadas)
Espessamentos lenticulares	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente
Posição das células pericentrais tetrasporangiais	3ª e 4ª	-	3ª e 4ª	3ª e 4ª	3ª e 4ª	3ª e 4ª

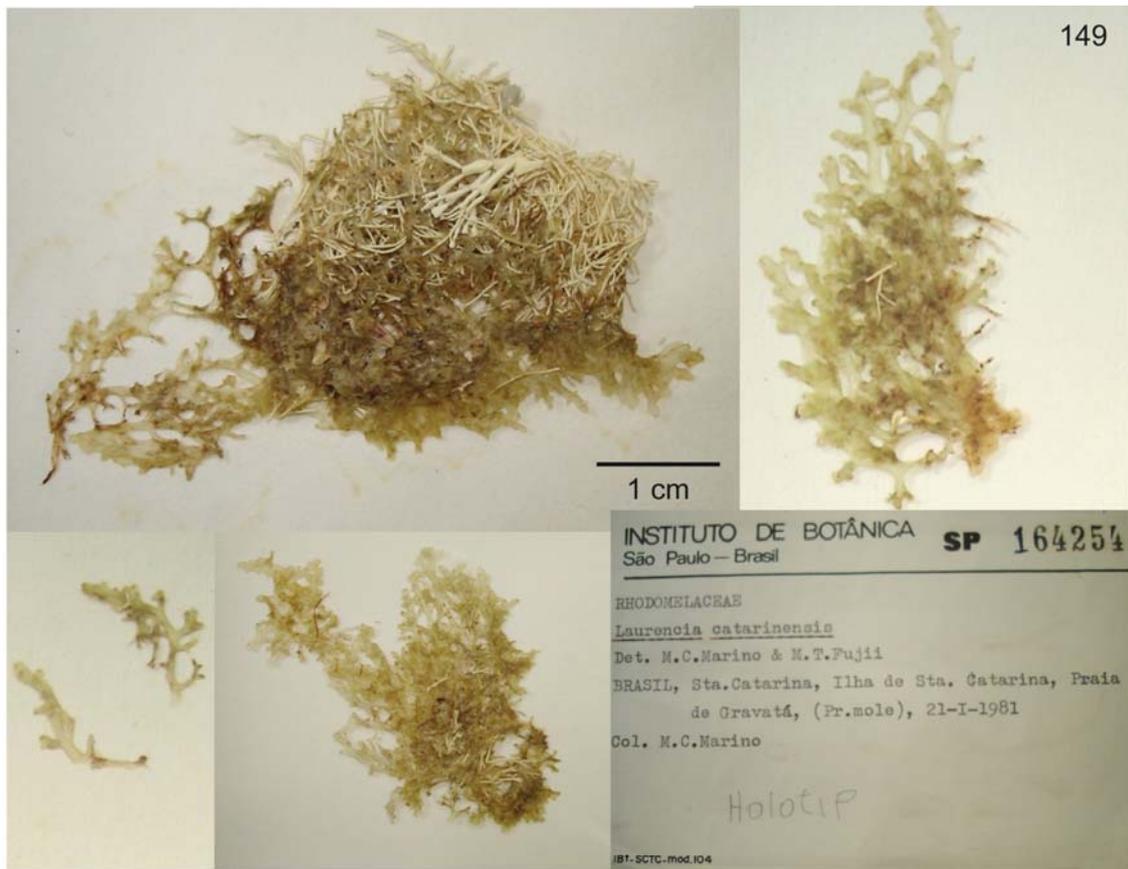


Fig. 149. *Laurencia catarinensis* Cordeiro-Marino et M.T. Fujii. Holótipo (SP164.254).

Fig. 150. *Laurencia intricata* J.V. Lamouroux. Holótipo (CN s/n).

Figs 151-158. *Laurencia intricata* J.V. Lamouroux.

Figs 151-156. Cuba, Cayo Coco (MICH s/n).

Fig. 151. Hábito da planta.

Fig. 152. Detalhe dos ramos com ramificação esparsa em ângulo aberto a reto.

Fig. 153. Corte transversal do talo com espessamentos lenticulares (seta).

Fig. 154. Detalhe da região medular com abundantes espessamentos lenticulares.

Fig. 155. Corte transversal da porção superior de um ramo mostrando célula axial (a) com quatro células pericentraes (p).

Fig. 156. Corte longitudinal mostrando células corticais projetadas.

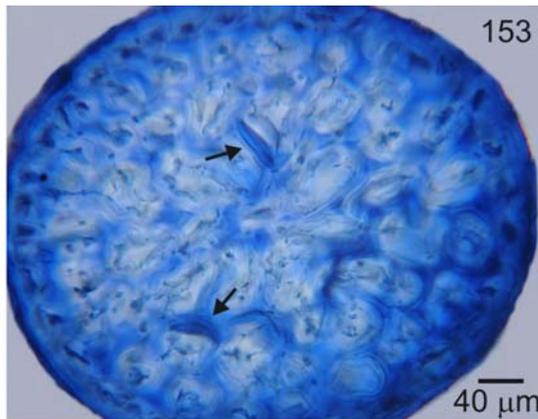
Fig. 157. Cuba, Cayo Coco (SP365.669). Hábito da planta.

Fig. 158. Cuba, Isla de Pinos (no. 41675, MICH s/n). Hábito da planta.



151

R. Cabrera 4 Oct. 2007



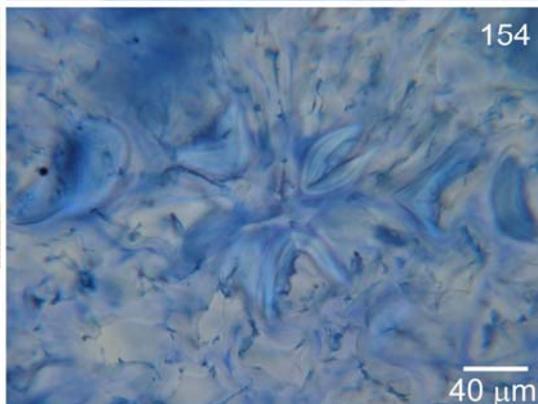
153

40 μm

UNIVERSITY OF MICHIGAN HERBARIUM
 MARINE ALGAE OF CUBA
Laurencia intricata J.V. Lamouroux
 CUBA. In front of Melia Cayo Coco Hotel, Ciego de Ávila
 [north coast of central Cuba]
 4 October 2007
 2 m. depth
 leg. Rubén Cabrera
 det. M. J. Wynne



152



154

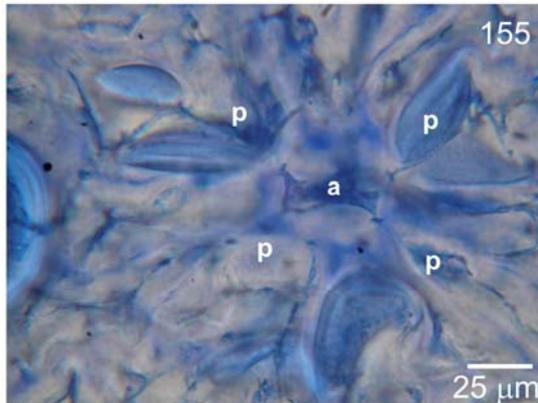
40 μm



157

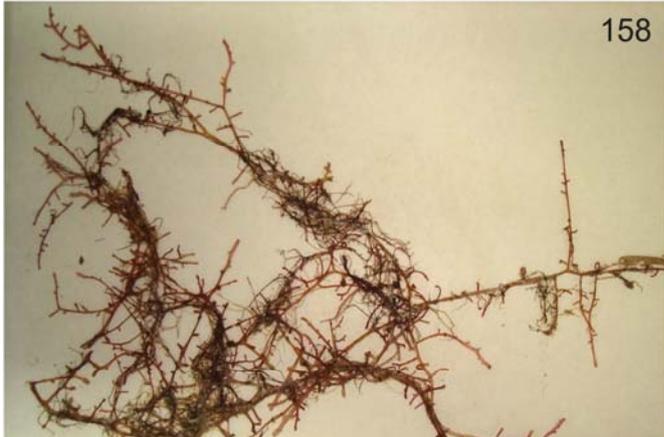
SP 365.669

Laurencia intricata
 Cuba, Cayo Coco, 25/09/2005
 M.T. Fujii



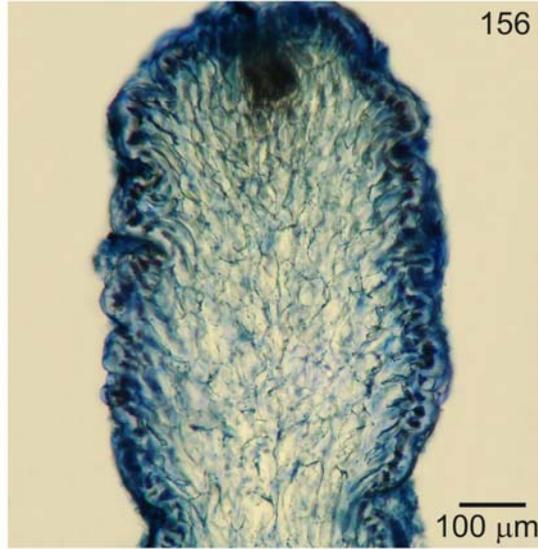
155

25 μm



158

PLANTS OF CUBA
Laurencia intricata Lamouroux
 Playa Ocolombo,
 Isle of Pines
 No. 41675 E. P. KILLIP, Collector Jan. 2, 1952



156

100 μm

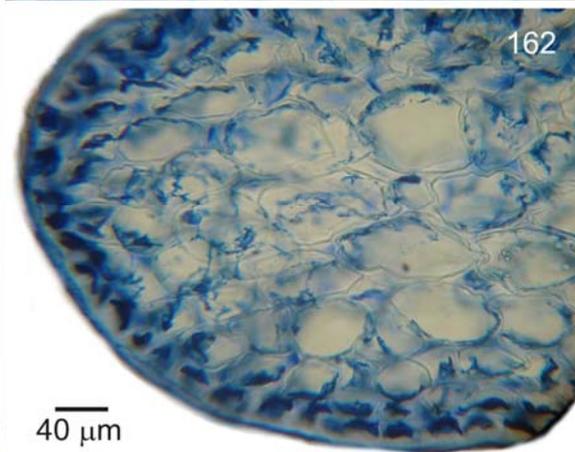
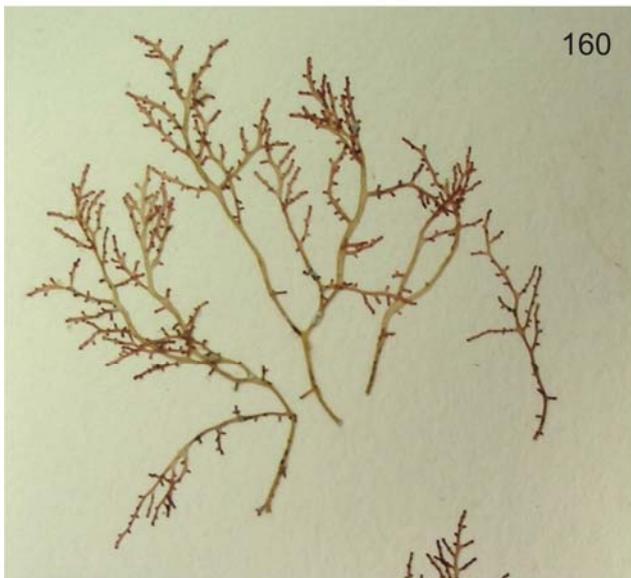
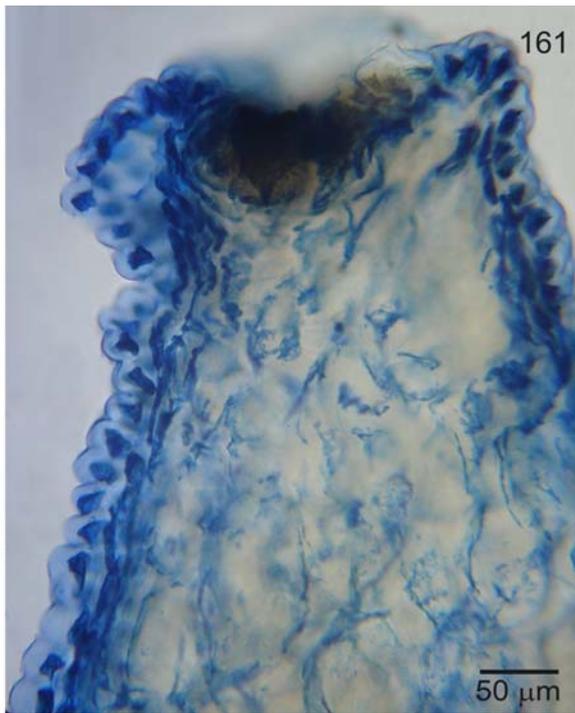
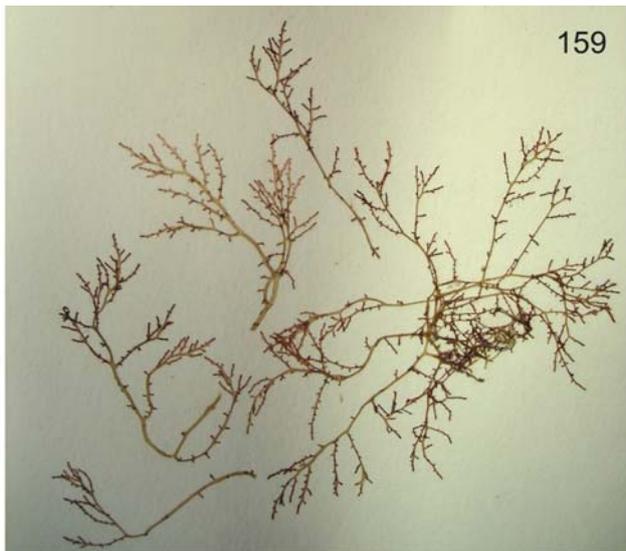
Figs 159-163. *Laurencia intricata* J.V. Lamouroux. Puerto Morelos, México (MICH s/n).

Figs 159-160. Hábito de duas plantas.

Fig. 161. Corte longitudinal mostrando células corticais projetadas.

Fig. 162. Corte transversal do talo.

Fig. 163. Corte transversal da porção superior de um ramo mostrando célula axial (a) com quatro células pericentrais (p). Note espessamento lenticular (seta).



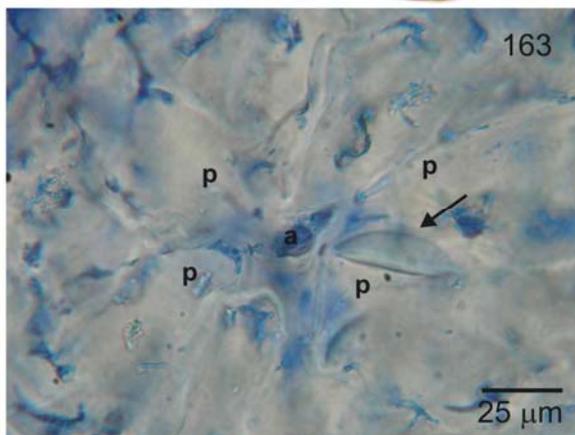
HERBARIUM OF THE UNIVERSITY OF MICHIGAN

Laurencia implicata J. Ag.

MEXICO: in front of Estacion Puerto
Morelos, Q. Roo

29.v.1992
2 m ; second. pits betw. epiderm.cells

COLLECTED BY. M. Wynne 9787
DETERMINED BY MW



Figs 164-171. *Laurencia intricata* J.V. Lamouroux.

Figs 164-167. Biscayne Bay, Flórida (MICH s/n).

Fig. 164. Hábito da planta.

Fig. 165. Detalhe dos ramos com ramificação esparsa em ângulo aberto a reto.

Fig. 166. Corte transversal do talo com espessamentos lenticulares (seta).

Fig. 167. Corte longitudinal mostrando células corticais projetadas.

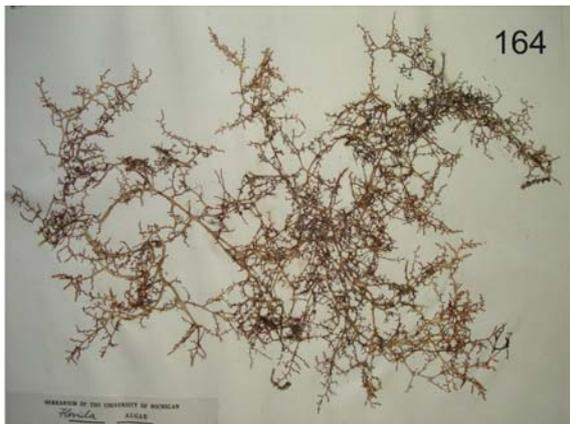
Figs 168-171. Content Keys, Flórida (9952 MICH s/n)

Fig. 168. Hábito da planta.

Fig. 169. Corte transversal do talo com abundantes espessamentos lenticulares.

Fig. 170. Corte longitudinal mostrando células corticais projetadas.

Fig. 171. Corte longitudinal mostrando espessamentos lenticulares (setas).



164



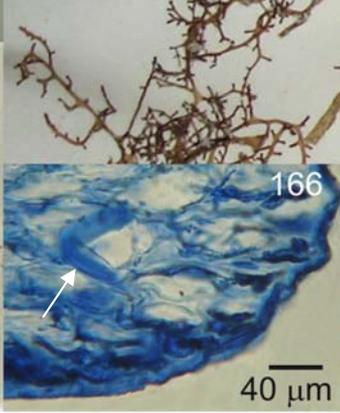
165

HERBARIUM OF THE UNIVERSITY OF MICHIGAN
Florida ALGAE

Laurencia intricata Lamour.

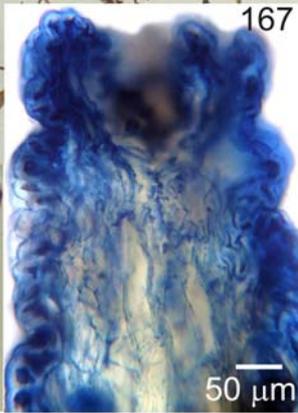
Biscayne Bay, east of Rickenbacker Causeway, Miami. On oolite reef and sand.

Legit Eysenhardson 7309 C
 Fide. JSI 4 V 49



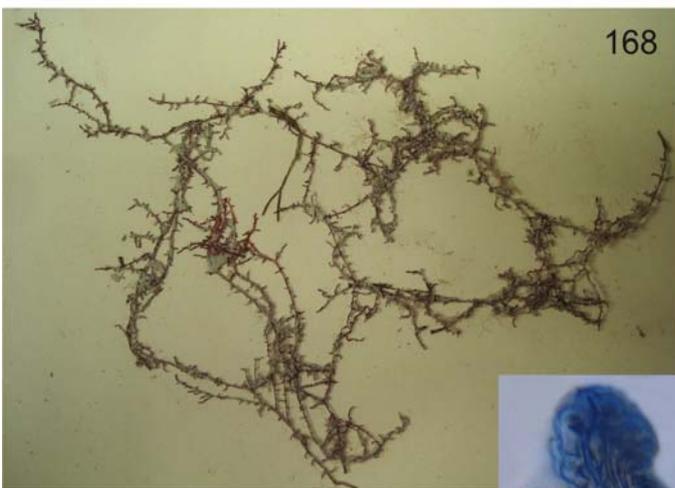
166

40 μm



167

50 μm



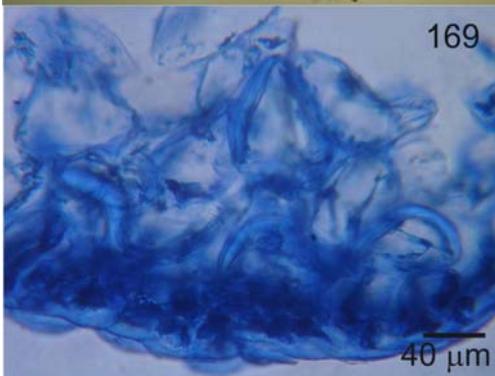
168

HERBARIUM OF THE UNIVERSITY OF MICHIGAN

Laurencia implicata J. Ag.

FLORIDA: Content Keys, lee side of Florida Keys
 19.vi.1994
 1-2 m depth

COLLECTED BY M. Wynne 9952
 DETERMINED BY MW



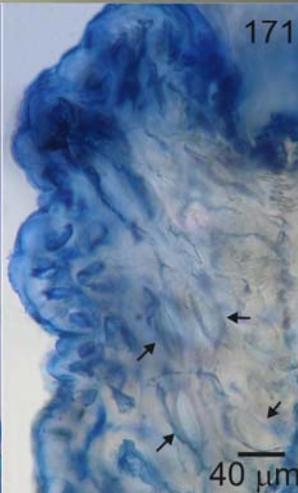
169

40 μm



170

50 μm



171

40 μm

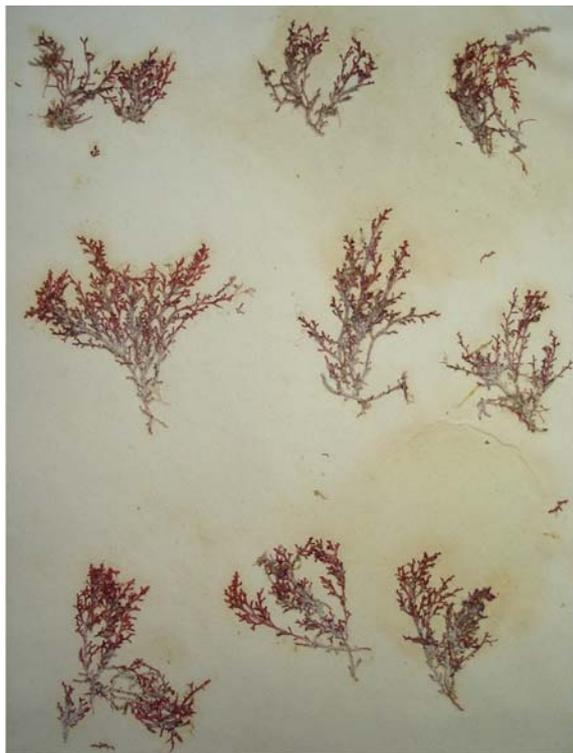
Figs 172-174. *Laurencia intricata* J.V. Lamouroux. Dry Tortugas, Flórida.

Figs 172-173. Exsicata n.º. 56 (MICH s/n).

Fig. 172. Hábito das plantas.

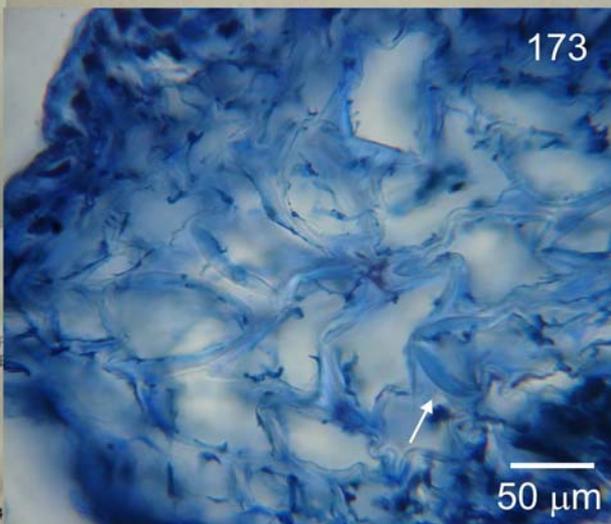
Fig. 173. Corte transversal do talo com espessamentos lenticulares (seta).

Fig. 174. Exsicata n.º. 875 (MICH s/n). Hábito das plantas.



172

9244
 Herbarium of Wm. Randolph Taylor
 ALGAE OF THE DRY TORTUGAS, FLORIDA
 No. 56 *Laurencia implicata* J. Ag.
 Loggerhead Key Rocks near bathing beach, E. side.
 Very shallow water, dense matted growth.
 Coll. W. R. T. 6/11 1924



173

50 µm



174

11361
 Herbarium of Wm. Randolph Taylor
 ALGAE OF THE DRY TORTUGAS, FLORIDA
 No. 875
Laurencia
 Dredged Sta. 227 at 45-40ft. 1/2 mi. n.n.w. of
 Loggerhead Key
 Coll. W. R. T. 19 June, 1925
 HERBARIUM OF
 WM. RANDOLPH TAYLOR
 PRESENTED 1981
 UNIVERSITY OF MICHIGAN

Figs 175-180. *Laurencia intricata* J.V. Lamouroux. St. Kitts, Pequenas Antilhas (MICH s/n).

Fig. 175. Hábito das plantas.

Fig. 176. Corte transversal do talo.

Fig. 177. Detalhe da região medular mostrando células com paredes uniformemente espessadas, sem espessamentos lenticulares.

Fig. 178. Corte transversal mostrando segmento tetrasporangial com duas células pericentrais férteis (setas), células pericentrais vegetativas (p), célula axial (a).

Fig. 179. Corte longitudinal de um ramo tetrasporangial com arranjo paralelo dos tetrasporângios.

Fig. 180. Corte longitudinal com mostrando células corticais não projetadas.



175

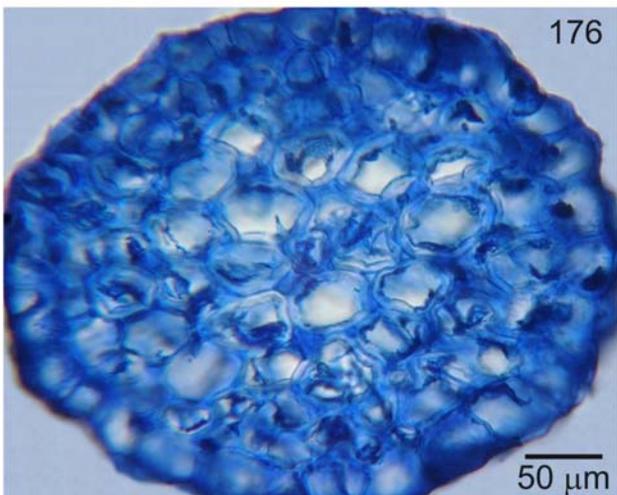
HERBARIUM OF THE UNIVERSITY OF MICHIGAN

Laurencia intricata Lamour.

ST. KITTS, LESSER ANTILLES: Dieppe Bay
25.xi.1995
scattered tetrasporangia (parallel)

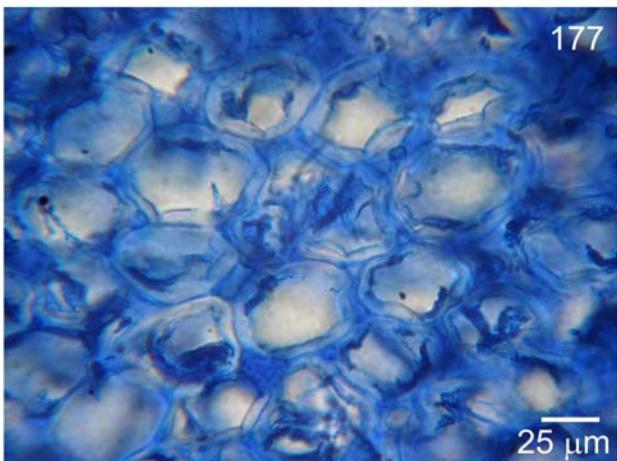
COLLECTED BY M. Edlund & M. Wynne 10593

DETERMINED BY MW



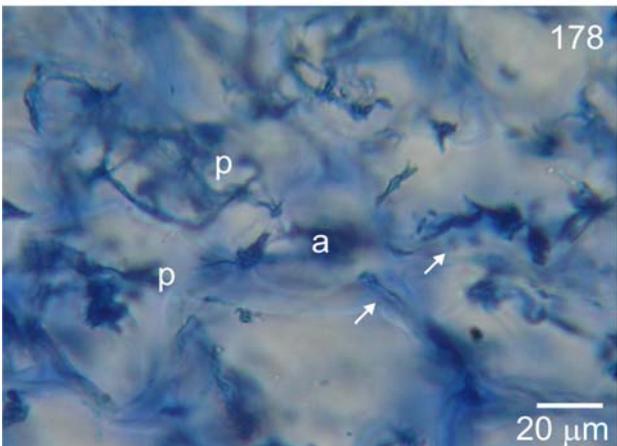
176

50 μ m



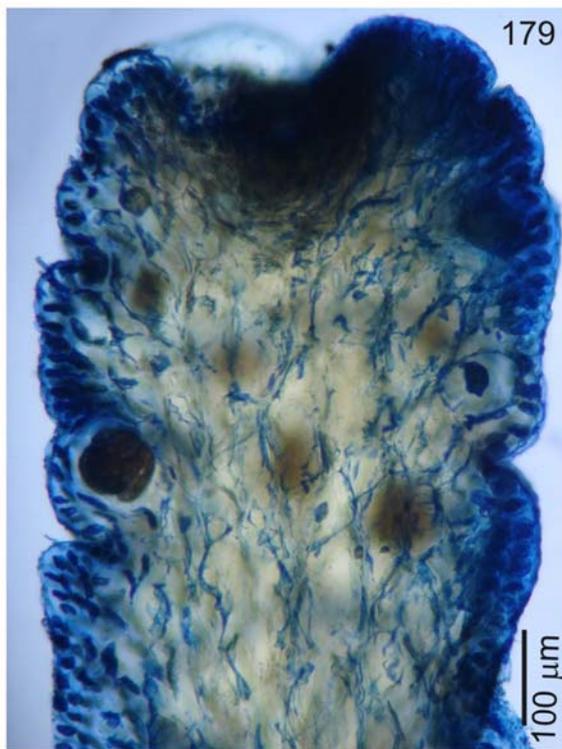
177

25 μ m



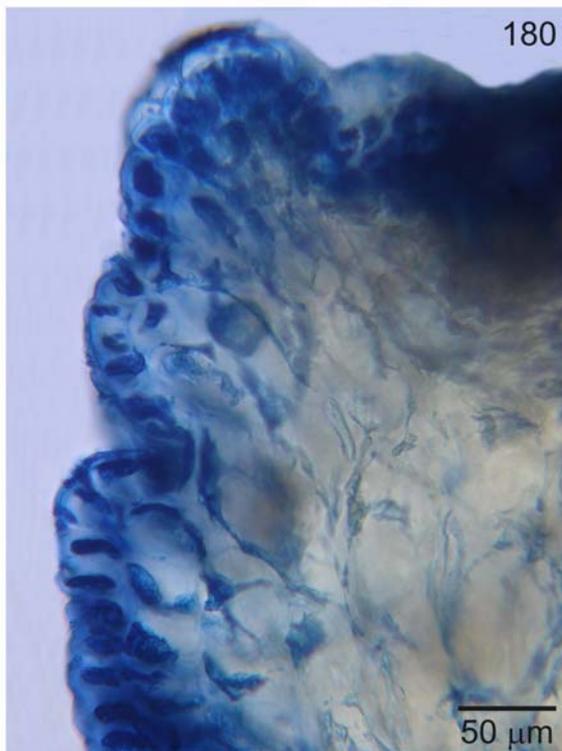
178

20 μ m



179

100 μ m



180

50 μ m

***Laurencia dendroidea* J. Agardh, Species genera et ordines algarum 1852, vol. 2: 753.**

Lectótipo: Museu Botânico, Lund, Suécia (LD 36668, 36669)!

Localidade tipo: Brasil

Figs 181-244.

Nomes mal aplicados para o Brasil: *Laurencia filiformis* (Fujii 1998: 26-29, figs 3-33; Pinheiro-Joventino *et al.* 1998: 35; Pereira *et al.* 2002: 122; Fujii & Senties 2005: 84-85, figs 26-35; Széchy & Nassar 2005: 384; Pereira *et al.* 2005: 80; como *Laurencia* sp.4, Fujii 1990: 101-102, figs 140-149), *Laurencia filiformis* f. *dendritica* (Fujii 1998: 29; Pereira *et al.* 2002: 122; Fujii & Senties 2005: 85; como *Laurencia* sp.2, Fujii 1990: 87-88, figs 119-129; Széchy & Paula 1997: 6), *Laurencia filiformis* f. *heteroclada* (Fujii 1998: 29; Fujii & Senties 2005: 86; como *Laurencia* sp.3., Fujii 1990: 94-95, figs 130-139), *Laurencia heteroclada* (Oliveira-Filho 1969: 178-179, pr. XXIX, figs 167-168), *Laurencia arbuscula* (Cordeiro-Marino *et al.* 1983: 29-39, figs 1-13; Fujii 1990: 36-38, figs 48-58; Figueiredo 1989: 173-174, fig. 131; Figueiredo-Creed & Yoneshigue-Valentin 1997: 36; Gustinari *et al.* 1998: 73; Pedrini *et al.* 1994: 729; Nunes 1998: 13; Széchy & Nassar 2005: 384), *Laurencia composita* (Oliveira-Filho 1969: 176-177, prancha D, fig. 1, *pro parte*), *Laurencia majuscula* (Széchy & Nassar 2005: 384), *Laurencia microcladia* (Joly 1965: 234, pr. LVI, LVIII, LIX, figs 670, 688, 695; Cordeiro-Marino 1978: 130, figs 395-396; Pinheiro-Joventino *et al.* 1998: 35; Figueiredo *et al.* 2004: 13), *Laurencia obtusa* (Joly 1965: 244, pr. 56, figs 671-672, pr. 58, fig. 689, pr. 59, figs 696-697; Pedrini 1980: 232-233; Yoneshigue 1985: 328-329; Figueiredo 1989: 176-177, fig. 133, *pro parte*; Figueiredo-Creed & Yoneshigue-Valentin 1997: 36; Pinheiro-Joventino *et al.* 1998: 35); *Laurencia obtusa* var. *densa* [*L. densa*] (Oliveira-Filho 1969: 180, pr. XXXI, fig. 180; Pedrini 1980: 233), *Laurencia scoparia* (Joly 1965: 242-243, pr. LVIII, LIX, figs 687, 693, 694; Fujii 1990: 76-77, figs 101-110; Pedrini *et al.* 1994: 729; Széchy & Nassar 2005: 384; Amado Filho *et al.* 2006: 228).

Distribuição: Brasil: Santa Catarina (Cordeiro-Marino 1978, Fujii & Senties 2005), **São Paulo** (Joly 1965, Fujii 1990, 1998, Fujii & Senties 2005), **Rio de Janeiro** (Pedrini 1980, Yoneshigue 1985, Figueiredo 1989, Figueiredo-Creed & Yoneshigue-Valentin 1997, Pedrini *et al.* 1994, Gustinari *et al.* 1998, Fujii 1998, Fujii & Senties 2005, Széchy & Nassar 2005), **Espírito Santo** (Oliveira Filho 1969, Fujii 1998, Fujii & Senties 2005), **Bahia** (Fujii 1998, Nunes 1998, Fujii & Senties 2005), **Pernambuco** (Cocentino 1994, como *Laurencia* sp., Fujii

1998, Pereira *et al.* 2002), **Ceará** (Pinheiro-Joentivo *et al.* 1998), **Arquipélago de São Pedro e São Paulo** (Pereira *et al.* 2005).

Plantas eretas formando tufo densos com coloração marrom-vinácea, violácea a esverdeada, comumente esverdeada nos eixos principais e ramos laterais primários e violácea no restante da planta, com 4 a 20 cm de altura (Figs 181-195). Talos de consistência cartilaginosa flácida, aderindo bem ao papel de herbário quando secos. Eixos principais fixos ao substrato por um único apressório ou pela agregação de apressórios discóides, ramos estoloníferos e ramos laterais basais descendentes, fixos secundariamente por apressórios terminais (Figs 196, 197). Eixos principais com 925-2750 μm de diâmetro na porção mediana do talo. Eixos cilíndricos com ramificação variando de uniformemente densa desde a base da planta a esparsa, alterna-espiralada a irregular com 3 a 5 ordens de ramos. Ramos de primeira ordem longos atingindo até 17 cm de comprimento com o mesmo padrão de ramificação dos eixos principais. Râmulos de última ordem cilíndricos com ápice truncado a afilados com aspecto espinescente, retos ou sinuosos (Figs 199-202), disposto em ângulo aberto até muito fechado, às vezes paralelos ao eixo, simples ou compostos, com ápices leve a marcadamente voltados para fora ou recurvados em direção ao seu eixo, com (350) 620-3200 (6300) x (175) 370-640 (740) μm . Ramos de 2^a, 3^a e 4^a ordens e râmulos, às vezes, decíduos com eixos exibindo cicatrizes após o destacamento dos ramos (Figs 198,199 e 201, 202). Eixos principais e ramos de primeira ordem com abundantes ramos adventícios que podem produzir tetrasporângios (Fig. 184).

Em vista superficial, células corticais regularmente arranjadas em fileiras longitudinais e conectadas entre si por ligações secundárias orientadas longitudinalmente (Figs 203, 204), com (1) 2-3 *corps en cerise* por célula (Fig. 205), um por célula do tricoblasto. Células corticais poligonais, isodiamétricas nas porções superiores do talo; arredondadas a longitudinalmente alongadas nas porções medianas, com (27,5) 42,5-150 (187,5) x (25) 32,5-62,2 (82,5) μm e poligonais-alongadas nas porções inferiores. Em corte longitudinal mediano do talo, células corticais variando de não projetadas a distintamente projetadas além da superfície do talo (Figs 206-209). Em corte transversal, talo com uma camada de células corticais pigmentadas e quatro a cinco camadas de células medulares incolores (Fig. 210). Células corticais quadráticas, cuneiformes a retangulares, não arranjadas como paliçada, com (20) 27,5-50 (77,5) x (20) 30-42,5 (65) μm na porção mediana do talo. Células corticais adicionais presentes nas porções velhas dos eixos principais (Figs 211-213). Células medulares arredondadas a ligeiramente alongadas radialmente, aumentando gradativamente

de tamanho em direção ao centro do talo, com (55) 80-150 (182,5) x (40) 55-100 (125) μm na porção mediana do talo. Espaços intercelulares presentes nas porções jovens e inúmeras células de enchimento presentes nas porções velhas dos eixos principais (Fig. 214). No ápice dos ramos, a primeira célula pericentral é produzida abaixo da célula basal do tricoblasto (Fig. 215, 242). Cada segmento axial vegetativo origina quatro células pericentrais ligeiramente maiores que as células medulares circunvizinhas (Figs 216, 217 e 241). Espessamentos lenticulares abundantes, raros ou ausentes (Figs 217-221). Quando presentes, ocorrem nas paredes das células medulares de eixos principais ou de ramos laterais, especialmente próximo às regiões apicais e na saída de ramos, ou ainda na base do cistocarpo (Fig. 233).

Plantas masculinas com râmulos férteis claviformes, caracteristicamente mais intumescidos que os demais, com (850) 960-1280 (1360) μm de diâmetro, simples ou compostos (Figs 222, 223). Em corte longitudinal, depressão espermatangial em forma de taça (Fig. 224), com uma fileira de células axiais discerníveis na base da depressão espermatangial (Fig. 225). Espermatângios produzidos por tricoblastos derivados da célula axial próxima à célula apical, formados em densos grupos de filamentos ramificados dicotomicamente. Dois ramos laterais são formados sobre a célula suprabasal do tricoblasto, um deles permanece estéril, o outro se torna fértil com numerosos espermatângios (Figs 226, 227). Ramos férteis terminados em uma única célula vesicular estéril com 17,5-30 x 12,5-22,5 μm (Fig. 226). Espermatângios com um único espermácio ovóide, com 7,5-10 x 5-7,5 μm , com um núcleo na extremidade de cada célula.

Plantas femininas com procarpo desenvolvido a partir da célula basal do tricoblasto, próximo à célula apical do râmulo. Procarpo com cinco células pericentrais, sendo que a quinta torna-se a célula suporte (Fig. 230) do ramo carpogonial com quatro células e dois grupos de células estéreis (basal e lateral) (Fig. 231). Desenvolvimento do procarpo é semelhante ao descrito para *L. aldingensis*. Filamentos gonimoblásticos formam inúmeros carposporângios terminais, cuneiformes alongados, com 112,5-245 x 20-80 μm , os quais liberam carpósporos por uma abertura apical, o ostíolo. Cistocarpos piriformes, proeminentes no talo, dispostos subapicalmente nos râmulos, com 570-1120 μm de diâmetro, sem ostíolo proeminente (Figs 228, 229 e 232).

Ramos tetrasporangiais cilíndricos, simples ou compostos, com (650) 1300-4560 (7500) x 300-660 μm (Figs 234-236). No ápice dos râmulos, apenas a quarta célula pericentral torna-se fértil, as demais células pericentrais permanecem vegetativas (Figs 237, 243). Cada célula pericentral fértil corta distalmente duas células pré-esporangiais de cobertura, a célula-mãe do tetrasporângio, abaxialmente, e uma célula pós-esporangial de

cobertura (Fig. 238, 243). A célula pós-esporangial se divide e contribui para a formação da corticação em volta do tetrasporângio (Fig. 244). Em vista superficial do râmulo fértil, as células pré-esporangiais de cobertura permanecem indivisas, sem ligações secundárias entre elas e estão alinhadas transversalmente em relação ao eixo do râmulo fértil (Fig. 244). Os tetrasporângios são formados e deslocados da porção apical, em espiral no sentido horário, à medida que novos tetrasporângios são produzidos, conferindo um arranjo final do tipo paralelo em relação ao eixo do râmulo fértil (Fig. 240). Tetrasporângios tetraedicamente divididos, com 60-170 μm de diâm.

Habitat: Plantas epilíticas crescendo do mesolitoral inferior até 3m de profundidade em locais protegidos, como enseadas e baías de águas calmas, moderadamente expostos ou expostos à forte arrebentação das ondas.

Material examinado: Lectótipo (LD 36668, 36669), Brasil (em local não especificado).

Rio de Janeiro: Arraial do Cabo, Prainha, 27.vii.2005, V. Cassano & M.B. Barros-Barreto (SP399.800), Rio das Ostras, Areias Negras, 03.viii.2005, V. Cassano & M.B. Barros-Barreto (SP399.801), Armação dos Búzios, Praia Rasa, 24.vii.2005, V. Cassano (SP365.436), 01.ii.2006, V. Cassano (SP399.802), 27.vi.2006, V. Cassano (SP399.887), 07.vii.2008, planta tetraspórica, V. Cassano & J.C. De-Paula (SP399.888), Praia do Forno, 13.i.2005, V. Cassano & J.C. De-Paula (SP399.901), 10.03.2008, A. Oliveira (SP399.790), Baía da Ilha Grande: Angra dos Reis, Baía de Angra dos Reis, Praia das Gordas, 22.iii.2004, planta tetraspórica, M.T.M. de Széchy (SP399.867), Tanguá, 13.vi.2004, planta tetraspórica e masculina, V. Cassano & M.T.M. de Széchy (SP399.869), Tanguazinho, 26.vi.2004, planta tetraspórica e feminina, V. Cassano & M.T.M. de Széchy (SP399.870), Praia da Baleia, 23.vi.2004, V. Cassano & M.T.M. de Széchy (SP399.871), Ilha de Cataguazes, 13.xii.2006, planta tetraspórica, V. Cassano, M.T.M. de Széchy & M.T. Fujii (SP365.427), Ilha do Bonfim, 13.xii.2006, planta tetraspórica, V. Cassano, M.T.M. de Széchy & M.T. Fujii (SP365.428), Ilha de São João, 13.xii.2006, planta tetraspórica, V. Cassano, M.T.M. de Széchy & M.T. Fujii (SP365.429), Ilha Cavaco, 21.vi.2008, planta tetraspórica, V. Cassano (SP399.805), Baía da Ribeira, Saco de Piraquara de Dentro, Ponta da Fortaleza, 24.x.2004, planta masculina, feminina e tetraspórica, V. Cassano (SP365.430), 14.xii.2006, planta masculina, feminina e tetraspórica, V. Cassano, M.T.M. de Széchy & M.T. Fujii (SP365.431), Ponta do Caiobá, 24.x.2004, planta masculina, feminina e tetraspórica, V. Cassano (SP365.432), Saco de Piraquara de Fora, Ilha do Brandão, ii.2004, planta masculina, M.T.M. de Széchy (SP399.866),

Praia do Velho, 24.x.2004, planta masculina, feminina e tetraspórica, *V. Cassano* (SP399.872), 15.vii.2005, planta masculina, feminina e tetraspórica, *V. Cassano & J.C. De-Paula* (SP399.879), 22.i.2006, planta masculina, feminina e tetraspórica, *V. Cassano & J.C. De-Paula* (SP399.882), 19.iv.2006, planta feminina e tetraspórica, *V. Cassano & J.C. De-Paula* (SP 399.883), 20.vii.2006, planta tetraspórica, *V. Cassano & J.C. De-Paula* (SP399.883), 12.xii.2006, planta masculina e tetraspórica, *V. Cassano, M.T.M. de Széchy & M.T. Fujii* (SP365.426), 19.v.2007, planta tetraspórica, *V. Cassano & D. Sudatti* (SP399.884), Ponta do Arame, 22.i.2006, planta masculina, feminina e tetraspórica, *V. Cassano & J.C. De-Paula* (SP399.881), Ilha Grande, Ilha dos Macacos, 25.ii.2005, planta tetraspórica, *V. Cassano & J.C. De-Paula* (SP399.874), 29.vii.2005, planta masculina, feminina e tetraspórica, *V. Cassano & J.C. De-Paula* (SP399.875), Enseada do Abraão, Praia Preta, 19.v.2004, planta tetraspórica, *V. Cassano & J.C. De-Paula* (SP399.868), 25.ii.2005, planta masculina e tetraspórica, *V. Cassano & J.C. De-Paula* (SP399.876), Lagoa Azul, 25.ii.2005, planta tetraspórica, *V. Cassano & J.C. De-Paula* (SP399.877), Saco do Céu, 25.ii.2005, planta tetraspórica, *V. Cassano & J.C. De-Paula* (SP399.878), Praia da Feiticeira, 25.ii.2005, planta masculina, feminina e tetraspórica, *V. Cassano & J.C. De-Paula* (SP399.873), 29.vii.2005, planta masculina e tetraspórica, *V. Cassano & J.C. De-Paula* (SP399.880), Enseada da Praia Longa, 29.viii.1998, 12-6m, *P.A. Horta* (SP399.925) Parati, Baía de Parati, Ilha Comprida, 09.ii.2005, planta masculina e tetraspórica, *V. Cassano* (SP399.900), 25.ii.2007, *V. Cassano* (SP399.803), Praia da Lula, 09.ii.2005, planta masculina, feminina e tetraspórica, *V. Cassano* (SP399.885), 25.ii.2007, planta masculina, feminina e tetraspórica, *V. Cassano* (SP399.804), Praia da Sapeca, 30.xii.2005, planta masculina, *V. Cassano* (SP399.886). **Espírito Santo:** Anchieta, Ponta dos Castelhanos, 03.vi.2008, *M.T. Fujii & E. Stein* (SP399.806). **Bahia:** Lauro de Freitas, Praia Vilas do Atlântico, 08.i.2008, *A. Oliveira* (SP300.927); **como *Laurencia arbuscula* Sonder:** **Rio de Janeiro:** Parati, Praia de Trindade, 15.viii.1985, *M.O. Figueiredo* (RB281834), Praia de Fora, 16.xi.1984, *M.O. Figueiredo* (RB281835); **como *Laurencia obtusa* (Hudson) J.V. Lamouroux:** **Rio de Janeiro:** Parati, Praia de Trindade, 15.viii.1985, *M.O. Figueiredo* (RB281839); **como *Laurencia obtusa* (Hudson) J.V. Lamouroux var. *densa* Yamada [*Laurencia densa*]:** **Espírito Santo:** Anchieta, Praia de Ubu, 07.vii.1967, *E.C. Oliveira* (SPF50661, SPF50663); **como *Laurencia composita* Yamada:** **Espírito Santo:** Peracanga, 09.vii.1967, *E.C. Oliveira et al.* (SPF50654).

Material adicional examinado: Lectótipo: *Chondria filiformis* C. Agardh, Herb. Agardh, Lund n.º. 23 ‘Cotê occid. N. Holl.’ (LD 36488). South Australia: Saint Vincent Gulf,

Marino, cast ashore, 23.i.1972, tetrasporophyte, *Y. Saito* A41955; Saint Vincent Gulf, West Beach, cast up, 23.i.1972, male, *Y. Saito* A41956, Nora Creina, 13.v.1972, 3-6m deep, *G.T. Kraft* A42238, Kangaroo Island, American River, 07.iv.1972, 2-3m deep attached on shells, calm area form?, *G.T. Kraft* A41989; ***Laurencia heteroclada* Harvey: South Australia:** Cape Lannes on rocks at low tide, 12.ii.1972, tetrasporophyte, *Y. Saito* AD 41610; Port Elliot, 30.i.1972, on pebbles at sheltered upper sublittoral tetrasporophyte, *Y. Saito* AD 41953; Victor Harbour, 30.i.1972, Petrel cove down eulittoral level in pools, tetrasporophyte, *Y. Saito* AD 41953; Kangaroo Island, inside of Ellen Point, 06.iv.1972, near low tide on rocks, *Y. Saito* A41,968; ***Laurencia arbuscula* Sonder: South Australia,** Coffin Bay, Crinolin Point, uppermost sublittoral, 30.xi.1975, *H.B.S. Womersley* ADU A46813 (SPF8500); ***Laurencia majuscula* (Harvey) Lucas: South Australia,** Port Lincoln, Billy Lights Point, uppermost sublittoral, 12.i.1984, *H.B.S. Womersley* ADU A54734 (SPF52012), Victor Harbour, Encounter Bay 30.i.1972 uppermost sublittoral pools, tetrasporophyte, *Y. Saito* A41941, Aldinga, 16.i.1972 in shallow pool at reef flat, sterile, *Y. Saito* A41963, Aldinga, 27.ii.1972 on an intertidal rock, tetrasporophyte, *Y. Saito* A41964, Saint Vincent Gulf, West Beach, cast up, 23.i.1972, tetrasporophyte, *Y. Saito* A41961, Port Noarlunga, 3.ii.1972, 0-2 m below low tide on inner side of rock, *Y. Saito* A41962; ***Laurencia obtusa* (Hudson) J.V. Lamouroux: France:** Guernsey, Channel Islands *off the coast of France*, xi.1990, *C. Maggs* (SP 400.116).

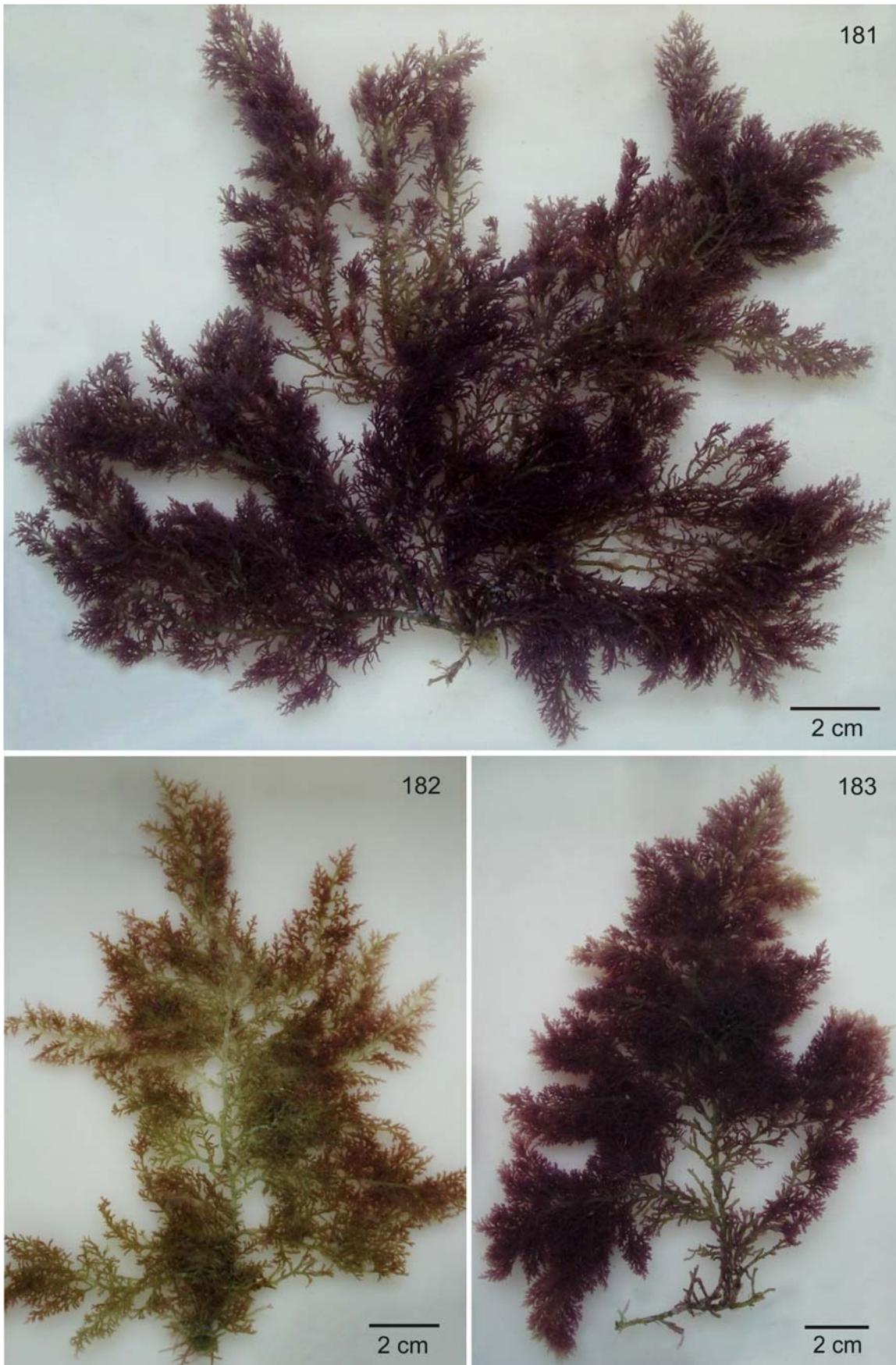
Observações do material-tipo:

Laurencia dendroidea

Lectótipo: LD 36668, 36669.

Figs 245-252.

O espécime (LD 36668) consiste em uma planta com 14 cm de altura apresentando ramificação densa, irregularmente espiralada desde a base do talo. Ramos adventícios foram observados distribuídos ao longo do talo, desde a base até o seu terço superior. Os ramos laterais atingem até 4 cm de comprimento e são distribuídos ao longo da planta com o mesmo padrão de ramificação do eixo principal. Os râmulos de última ordem são longos, na sua maioria simples. O espécime tetraspórico (LD 36669) apresenta talo de menor porte, com até 8 cm de altura, ramificação irregularmente espiralada e râmulos de última ordem mais curtos e predominantemente compostos. Em corte transversal do talo, porção basal com pouco crescimento secundário e células de enchimento. Foram observados espessamentos lenticulares em pequena quantidade nos râmulos de última ordem (Fujii 1990).



Figs 181-183. *Laurencia dendroidea* J. Agardh. Hábito de plantas tetraspóricas crescendo em locais calmos, como baías e enseadas.

Figs 184-186. *Laurencia dendroidea* J. Agardh. Variação no hábito de plantas tetraspóricas.

Figs 184-185. Plantas de locais calmos. Note eixo principal com ramos adventícios na Fig. 184.

Fig. 186. Planta de local exposto à arrebentação de ondas. Note detalhe de ramos de última ordem voltados sobre o eixo.



Figs 187-191. *Laurencia dendroidea* J. Agardh. Variação no hábito de plantas tetraspóricas.

Figs 187-189. Plantas de locais calmos a moderadamente expostos à arrebentação das ondas.

Figs 190-191. Plantas de locais expostos à arrebentação das ondas.



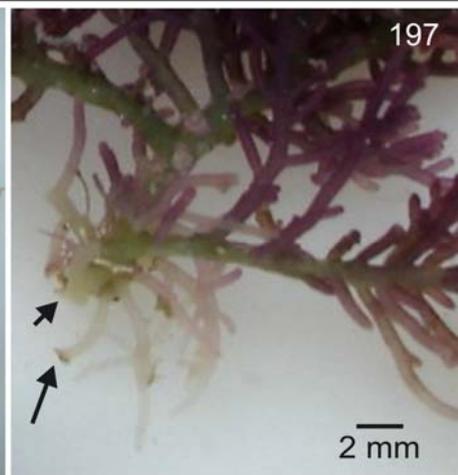
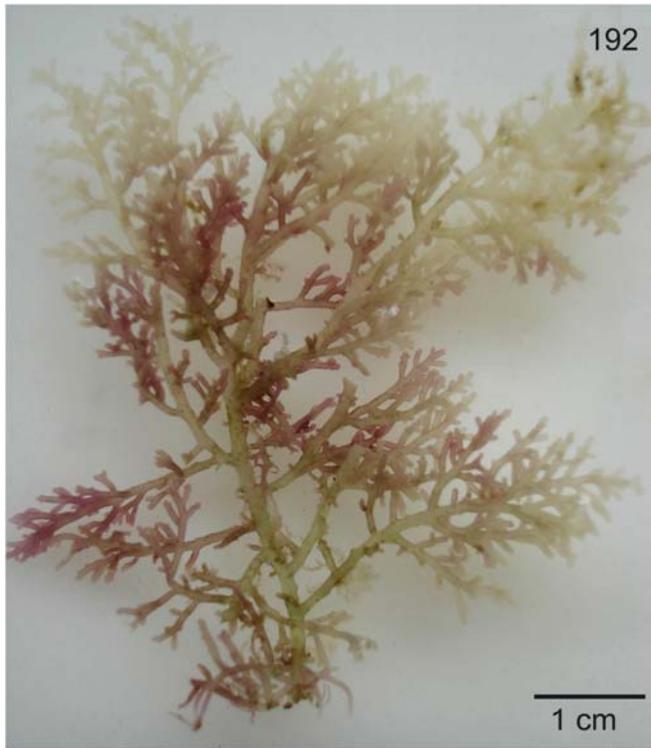
Figs 192-196. *Laurencia dendroidea* J. Agardh.

Figs 192-195. Hábito de plantas femininas e masculinas.

Figs 192-193. Plantas femininas.

Figs 193-194. Plantas masculinas.

Figs 196-197. Detalhe das porções basais do talo com ramos laterais descendentes. Note apressório discóide (seta menor) e ramo terminado em apressório menor (seta) na Fig. 197.



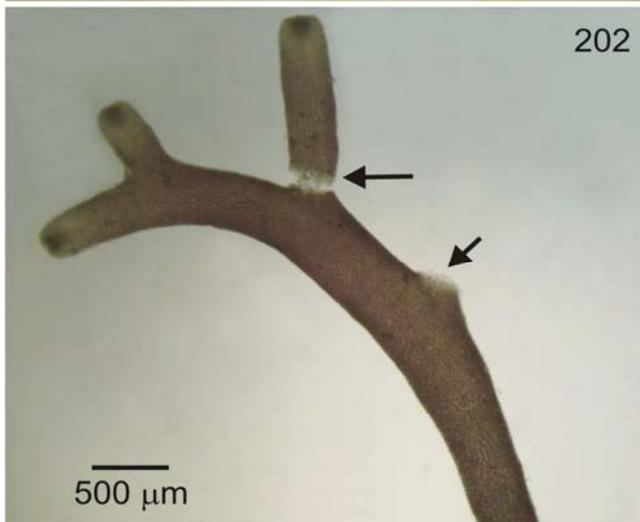
Figs 198-202. *Laurencia dendroidea* J. Agardh.

Fig. 198. Porção inferior de um talo com ramos desnudos pela queda de ramos e râmulos decíduos.

Fig. 199. Porção apical mostrando ramos afilados e cicatrizes deixadas pelos ramos decíduos (setas).

Fig. 200. Detalhe de râmulos de última ordem longos.

Figs 201-202. Detalhe de ramos com cicatrizes (setas). Note râmulo destacado na Fig. 202 (seta maior).



Figs 203-208. *Laurencia dendroidea* J. Agardh.

Figs 203-204. Vista superficial das células corticais mostrando ligações secundárias.

Fig. 203. Porção mediana do talo (ligações secundárias, seta).

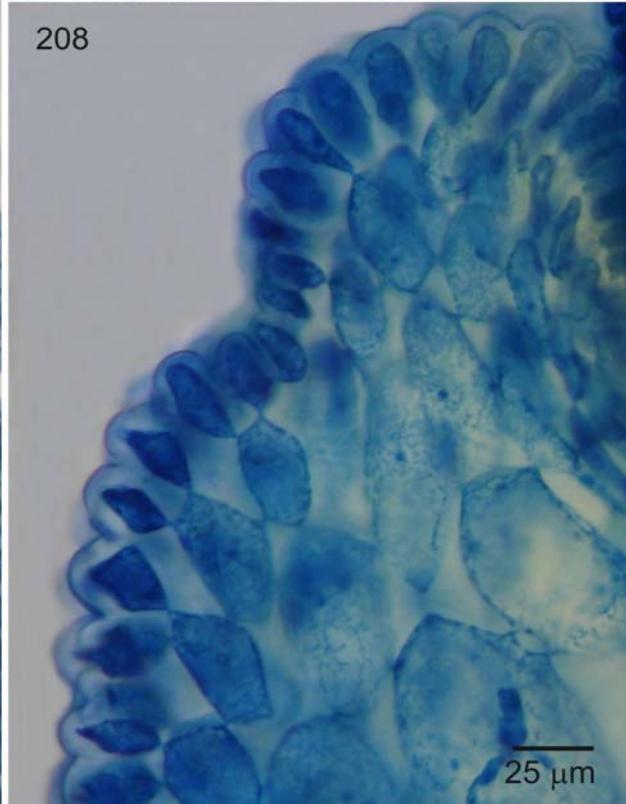
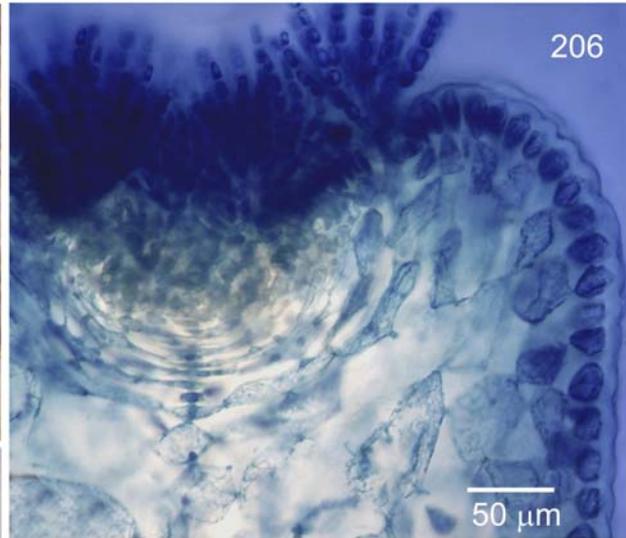
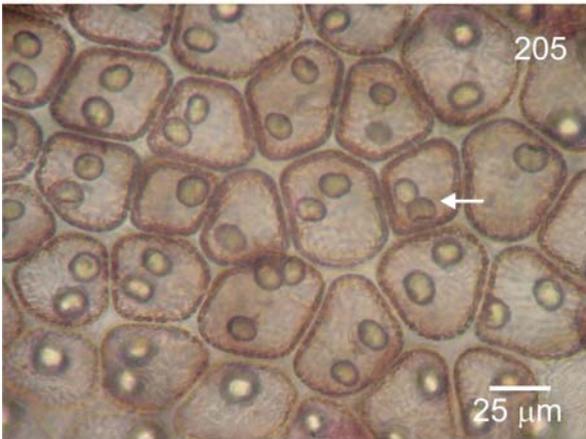
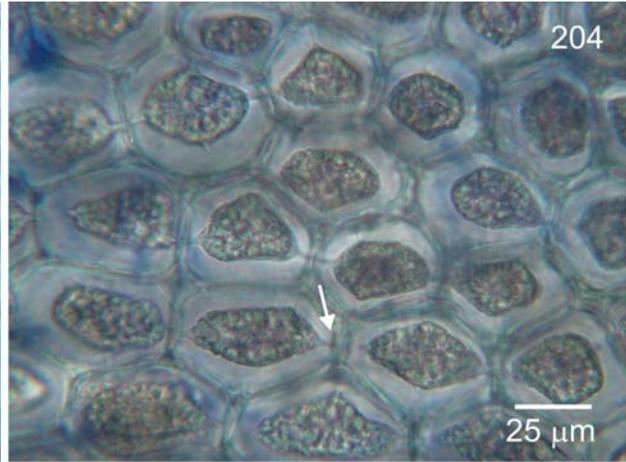
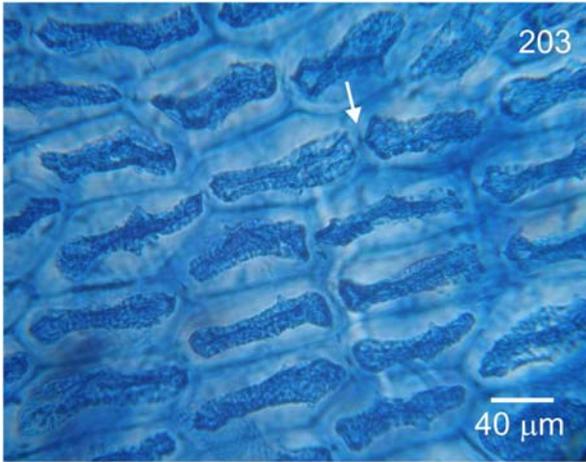
Fig. 204. Porção apical do talo (ligações secundárias, seta).

Fig. 205. Vista superficial das células corticais com 1 a 3 *corps en cerise* por célula (seta).

Fig. 206. Corte longitudinal mediano do talo mostrando células corticais ligeiramente projetadas próximo ao ápice dos ramos.

Fig. 207. Corte longitudinal mediano mostrando células corticais projetadas.

Fig. 208. Detalhe das células corticais projetadas.



Figs 209-214. *Laurencia dendroidea* J. Agardh.

Fig. 209. Corte longitudinal mediano mostrando células corticais não projetadas.

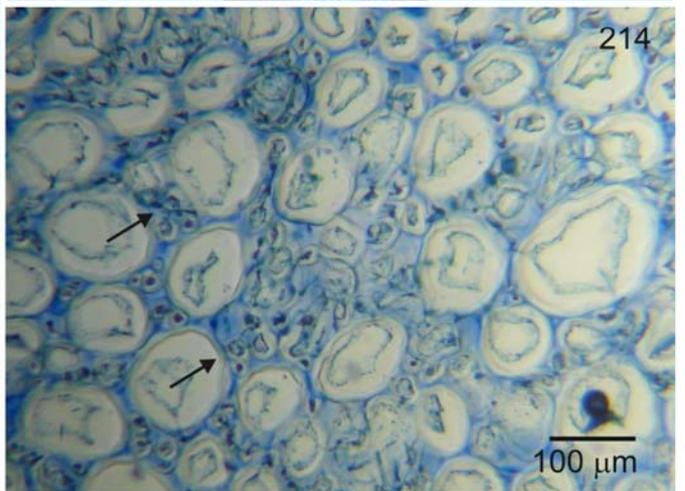
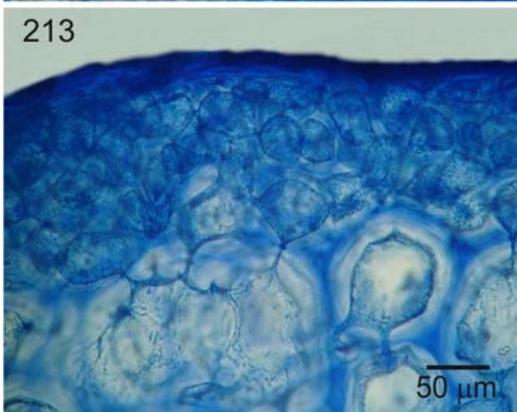
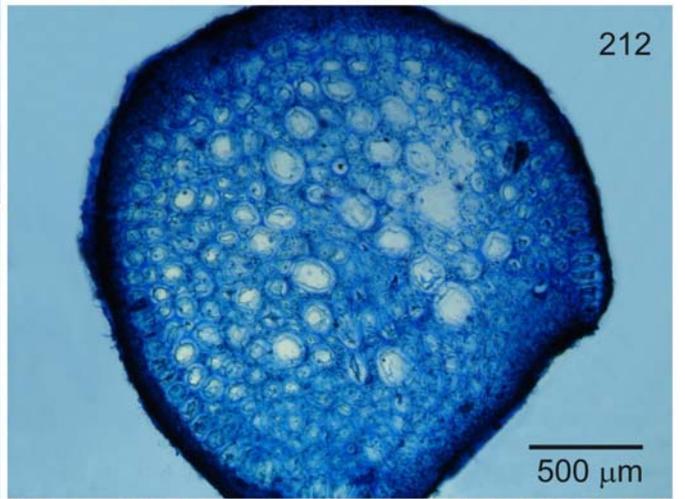
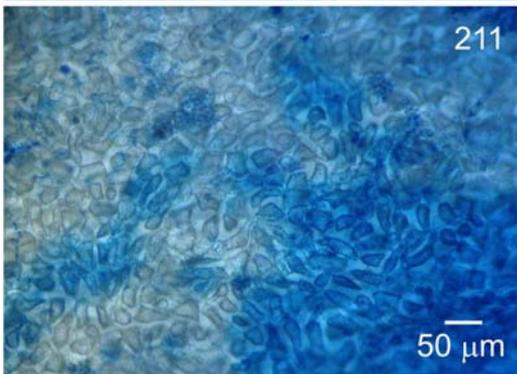
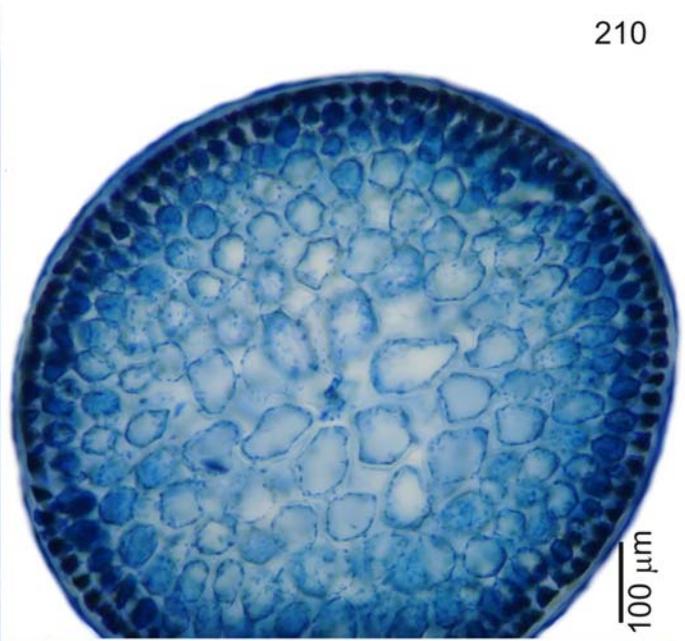
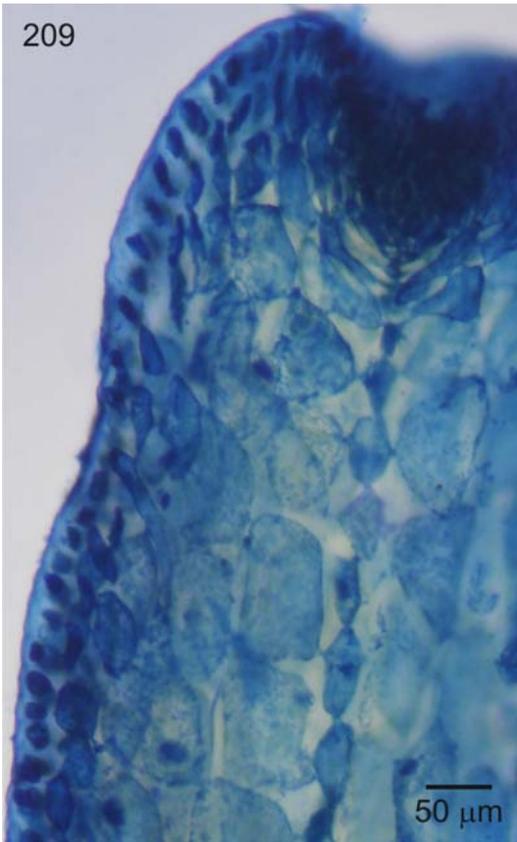
Fig. 210. Corte transversal do talo mostrando duas camadas de células corticais pigmentadas e quatro camadas de células medulares.

Fig. 211. Vista superficial de porção velha do talo com células corticais adicionais.

Fig. 212. Corte transversal de porção velha do talo.

Fig. 213. Detalhe do corte transversal de porção velha do talo mostrando camadas adicionais de células corticais.

Fig. 214. Detalhe da região medular de porção velha do talo com inúmeras células de enchimento (setas).



Figs 215-221. *Laurencia dendroidea* J. Agardh.

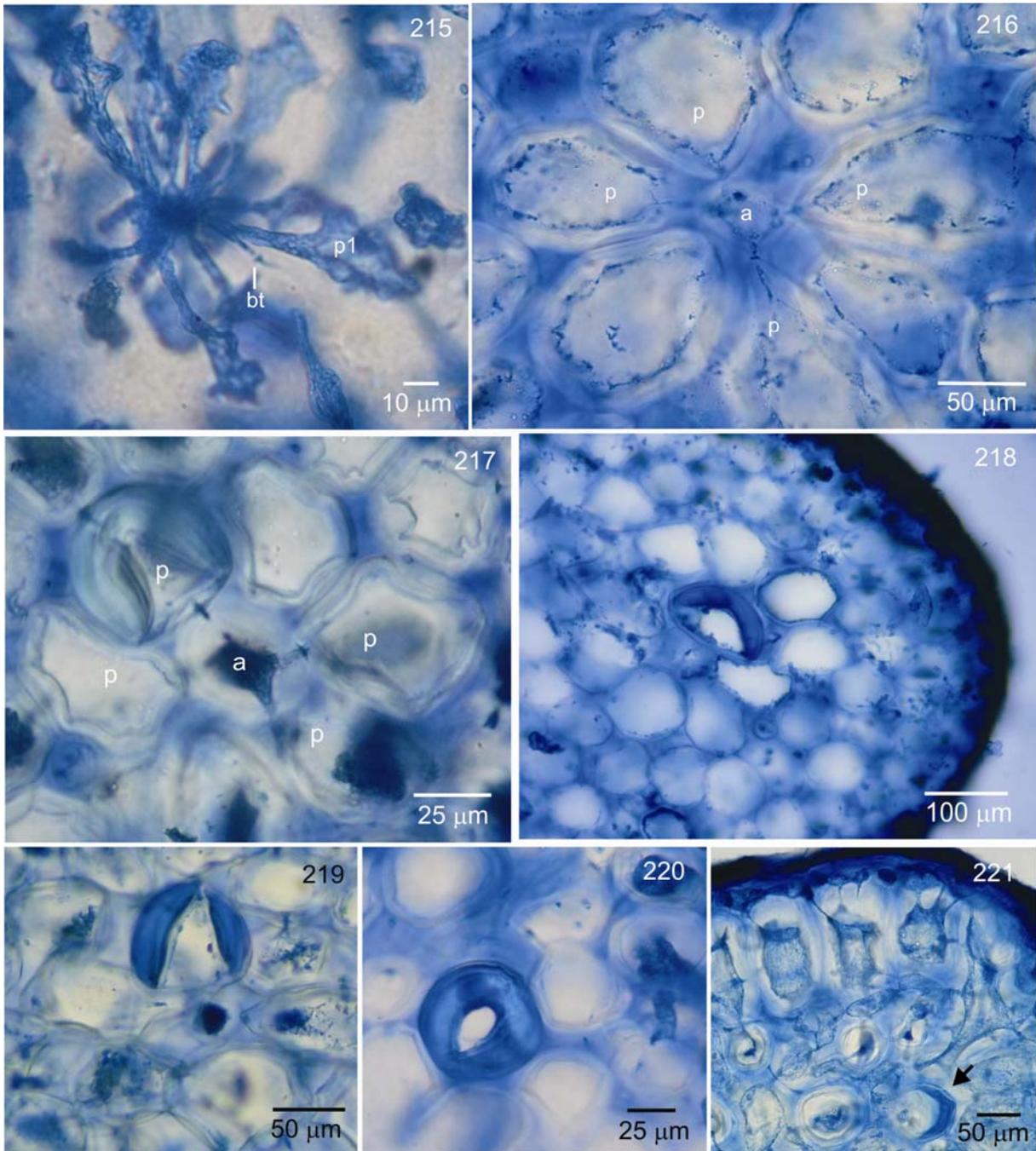
Fig. 215. Corte transversal de porção apical de um râmulo mostrando a primeira célula pericentral (p1) produzida abaixo da célula basal do tricoblasto (bt).

Fig. 216. Corte transversal mostrando segmento axial vegetativo com quatro células pericentrais (p) e célula axial (a).

Figs 217-221. Cortes transversais do talo com espessamentos lenticulares. Figs 217-219.

Espessamentos lenticulares presentes nas paredes das células pericentrais (p), célula axial (a).

Fig. 221. Espessamento lenticular em porção velha do talo (seta).



Figs 222-227. *Laurencia dendroidea* J. Agardh. Detalhe das plantas masculinas.

Fig. 222. Porção apical do talo com râmulos espermatangiais.

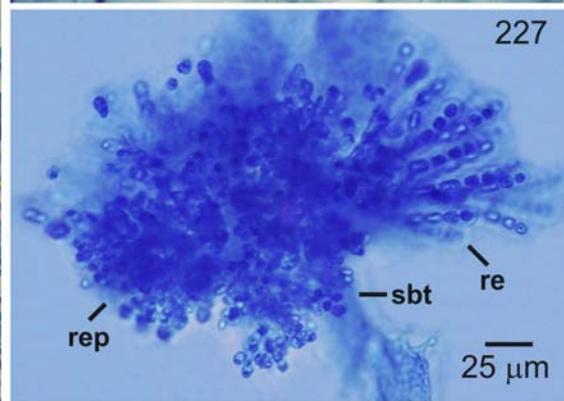
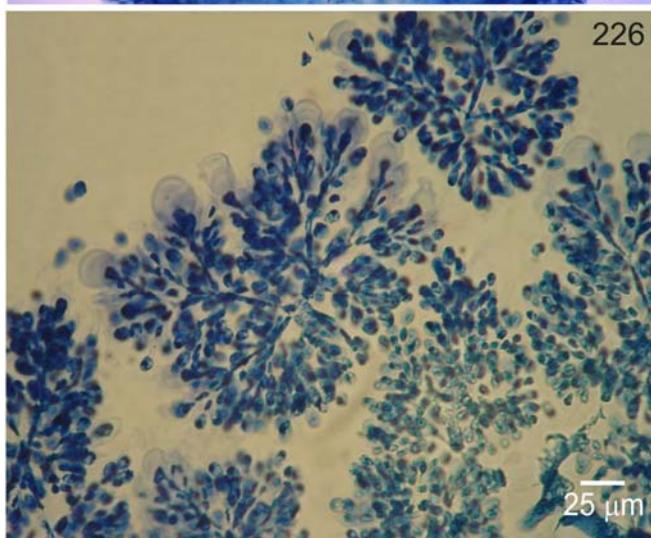
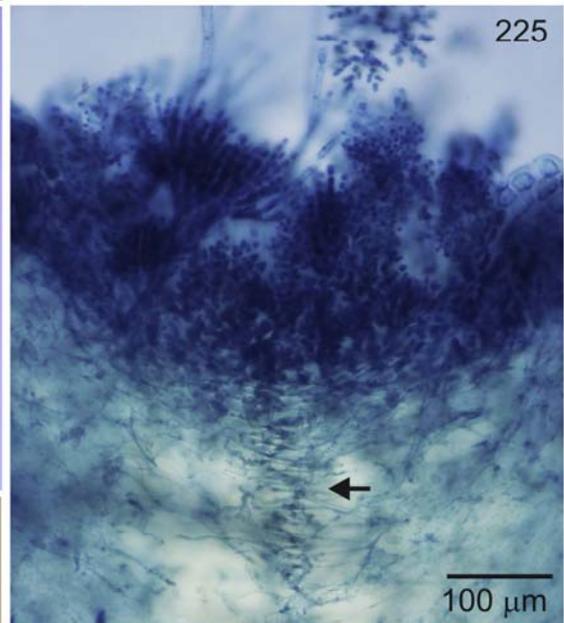
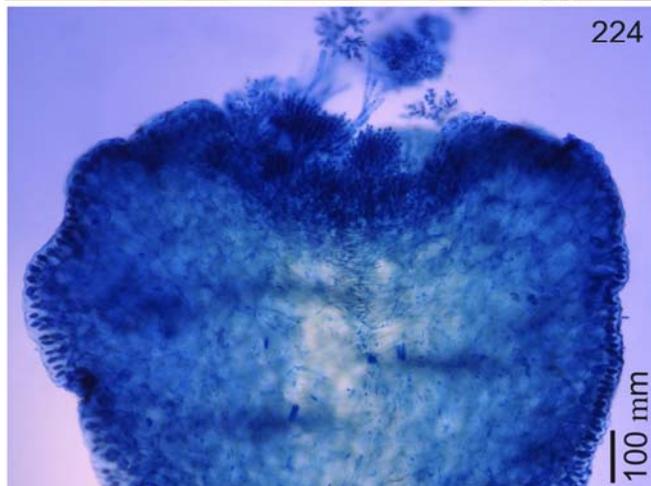
Fig. 223. Detalhe dos râmulos espermatangiais.

Fig. 224. Corte longitudinal de um râmulo espermatangial mostrando depressão em forma de taça.

Fig. 225. Detalhe do râmulo espermatangial mostrando fileira de células axiais discerníveis na base da depressão espermatangial (seta).

Fig. 226. Filamentos espermatangiais com espermatângios e células vesiculares estéreis.

Fig. 227. Detalhe do filamento espermatangial mostrando ramos férteis (rep) e ramos estéreis (re) originados da célula suprabasal do tricoblasto (sbt).



Figs 228-233. *Laurencia dendroidea* J. Agardh. Detalhe das plantas femininas.

Fig. 228. Porção apical do talo mostrando ramos com cistocarpos.

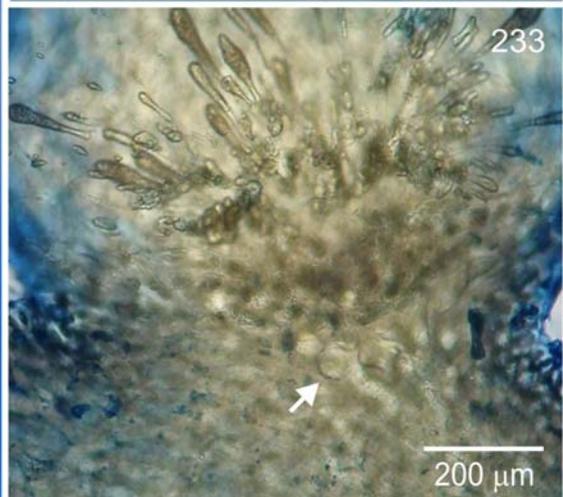
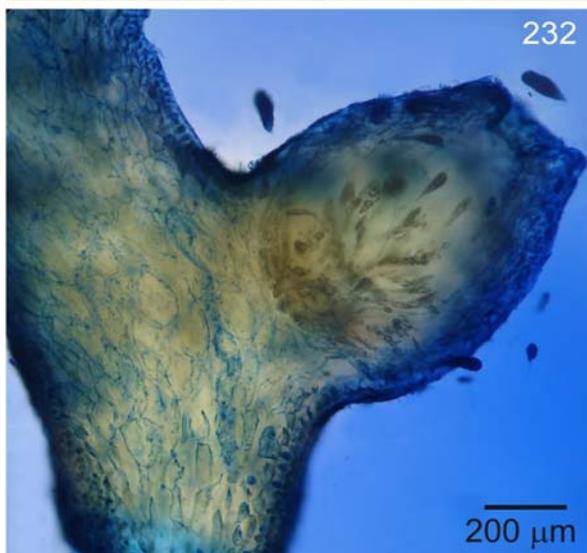
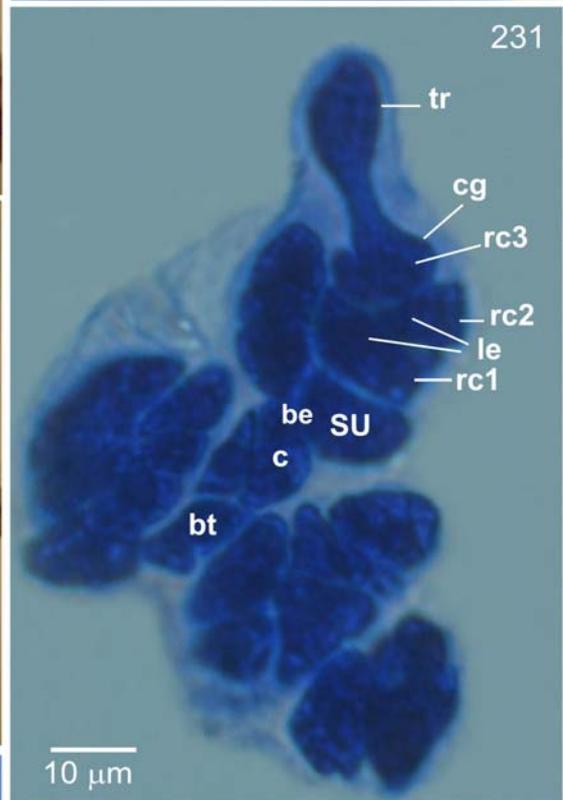
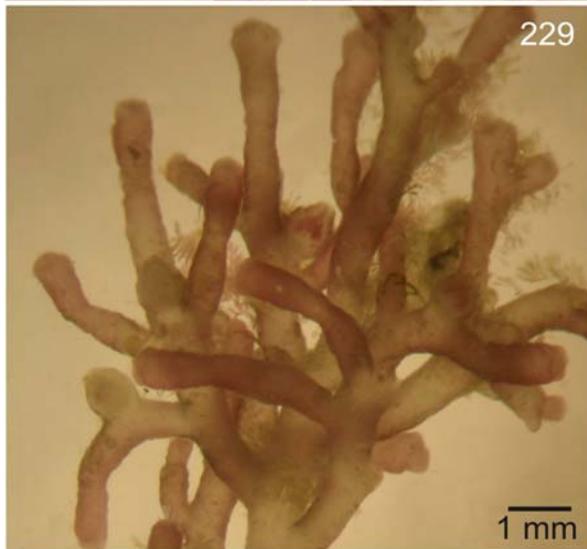
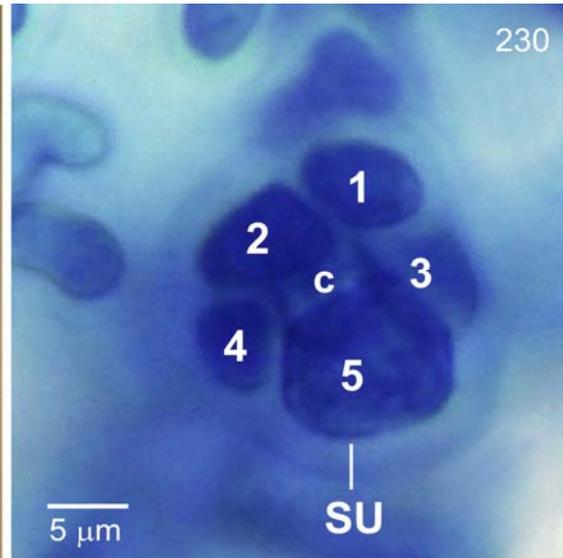
Fig. 229. Detalhe de ramos com cistocarpos.

Fig. 230. Segmento que origina o procarpo com cinco células pericentrais, sendo a quinta a célula suporte (SU) do ramo carpogonial; célula central do segmento que origina o procarpo (c).

Fig. 231. Procarpo antes da fertilização com ramo carpogonial com quatro células (rc1-3 e carpogônio, cg), grupo de células estéreis laterais (le) e grupo de células basais (be); tricogine (tr); célula basal do tricoblasto (bt).

Fig. 232. Corte longitudinal de um râmulo feminino com cistocarpo proeminente.

Fig. 233. Detalhe da base do cistocarpo com espessamentos lenticulares (seta).



Figs 234-240. *Laurencia dendroidea* J. Agardh. Detalhe de plantas tetraspóricas.

Fig. 234. Porção apical do talo com râmulos tetrasporangiais.

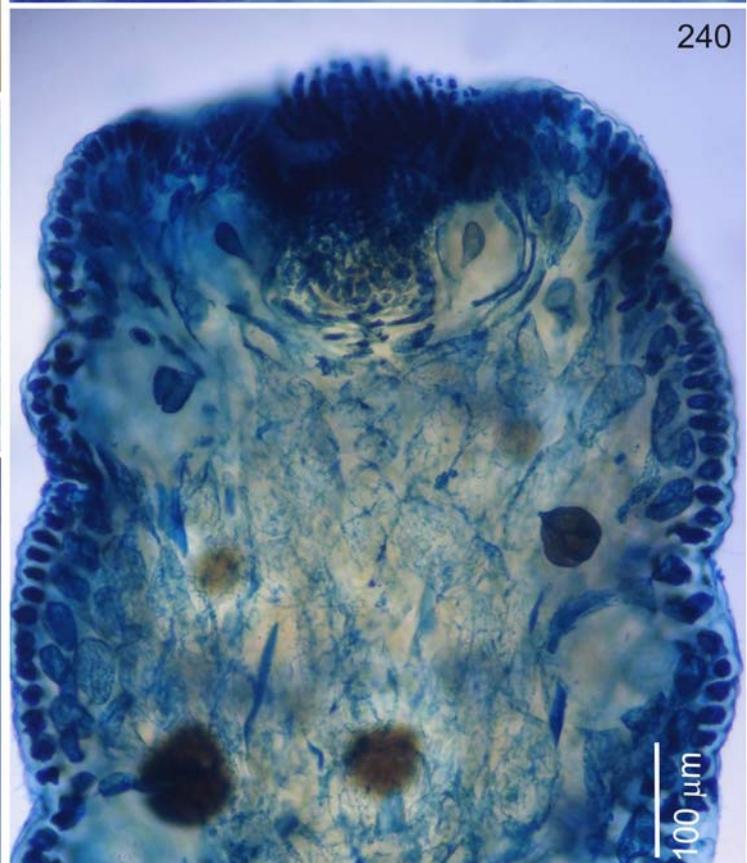
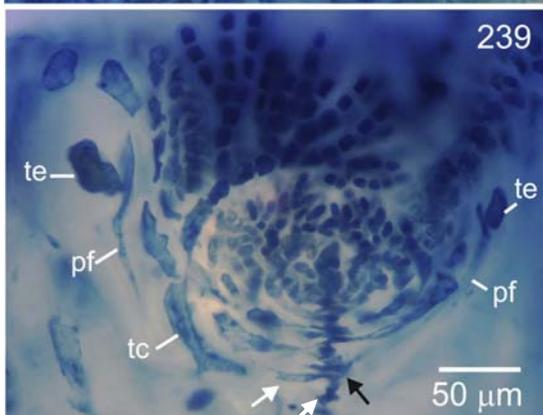
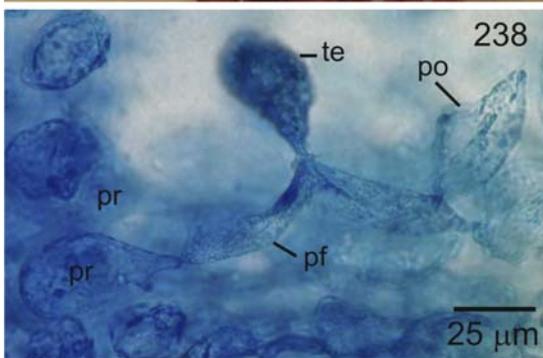
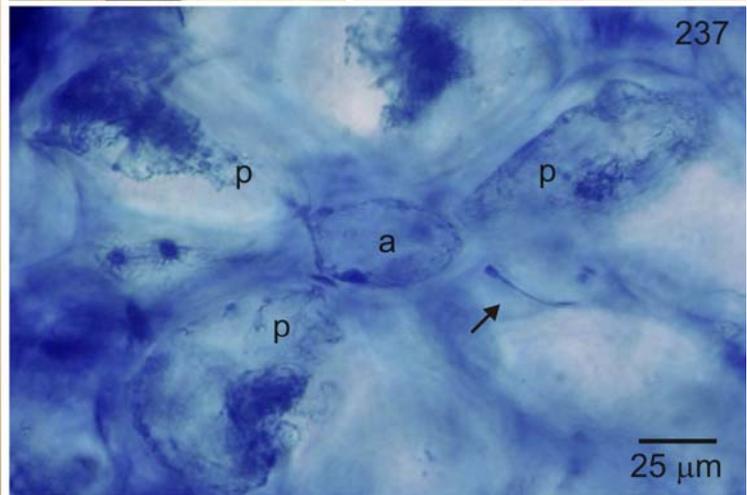
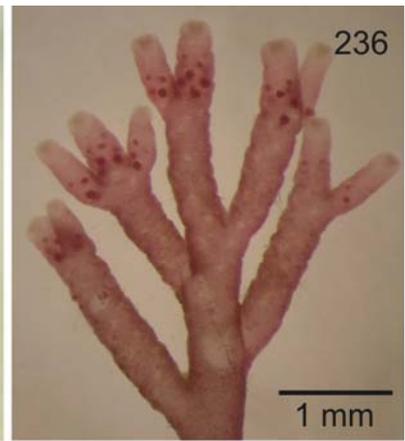
Figs 235-236. Detalhe de râmulos tetrasporangiais. Note cicatrizes após a queda de râmulos férteis (seta) (Fig. 235).

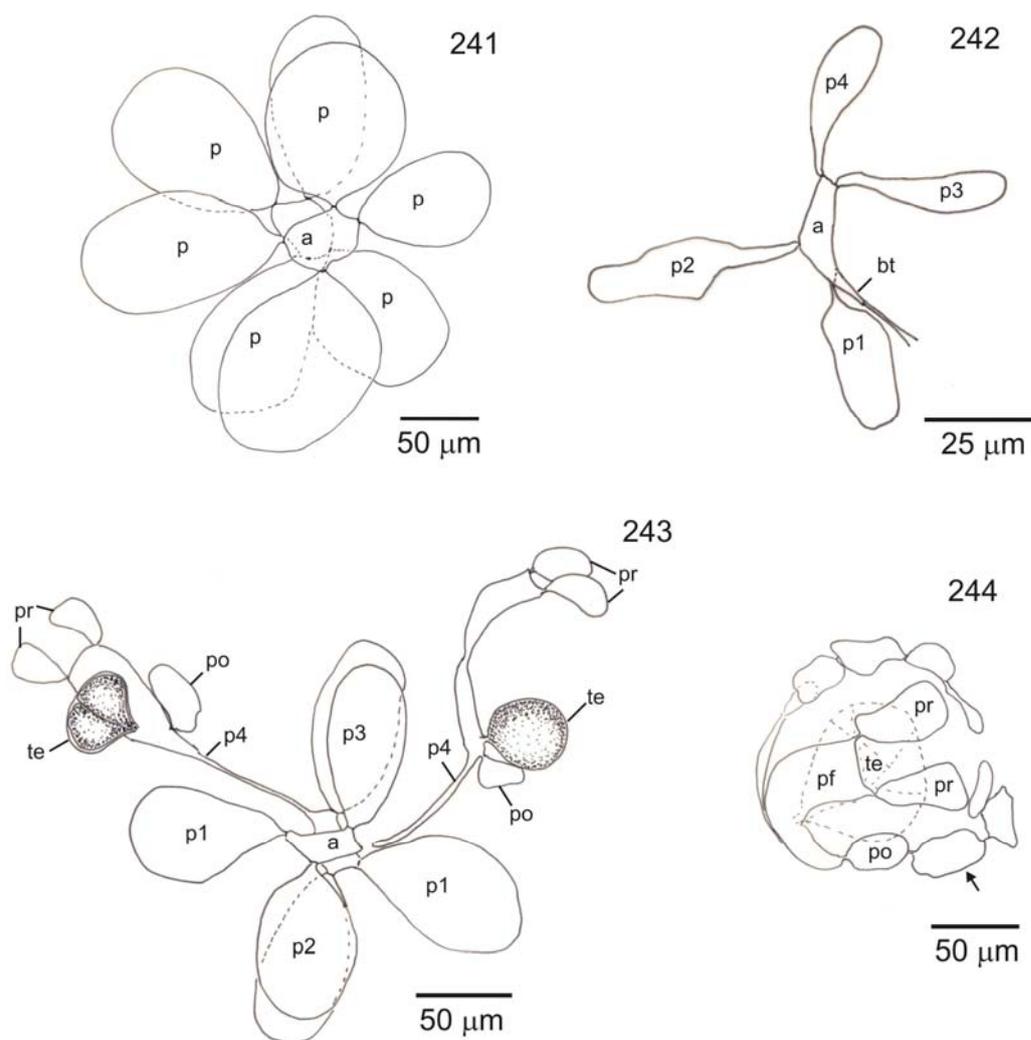
Fig. 237. Corte transversal mostrando segmento tetrasporangial com uma célula pericentral fértil (seta), células pericentraes vegetativas (p) e célula axial (a).

Fig. 238. Detalhe da célula pericentral fértil (pf) com duas células pré-esporangiais de cobertura (pr), a inicial do tetrasporângio (te) e uma célula pós-esporangial de cobertura (po).

Fig. 239. Corte longitudinal de um râmulo tetrasporangial mostrando origem abaxial dos tetrasporângios a partir das células pericentraes (pf), célula axial (seta). Note origem do tricoblasto (tc) a partir da célula axial (seta branca).

Fig. 240. Corte longitudinal mostrando arranjo paralelo dos tetrasporângios.





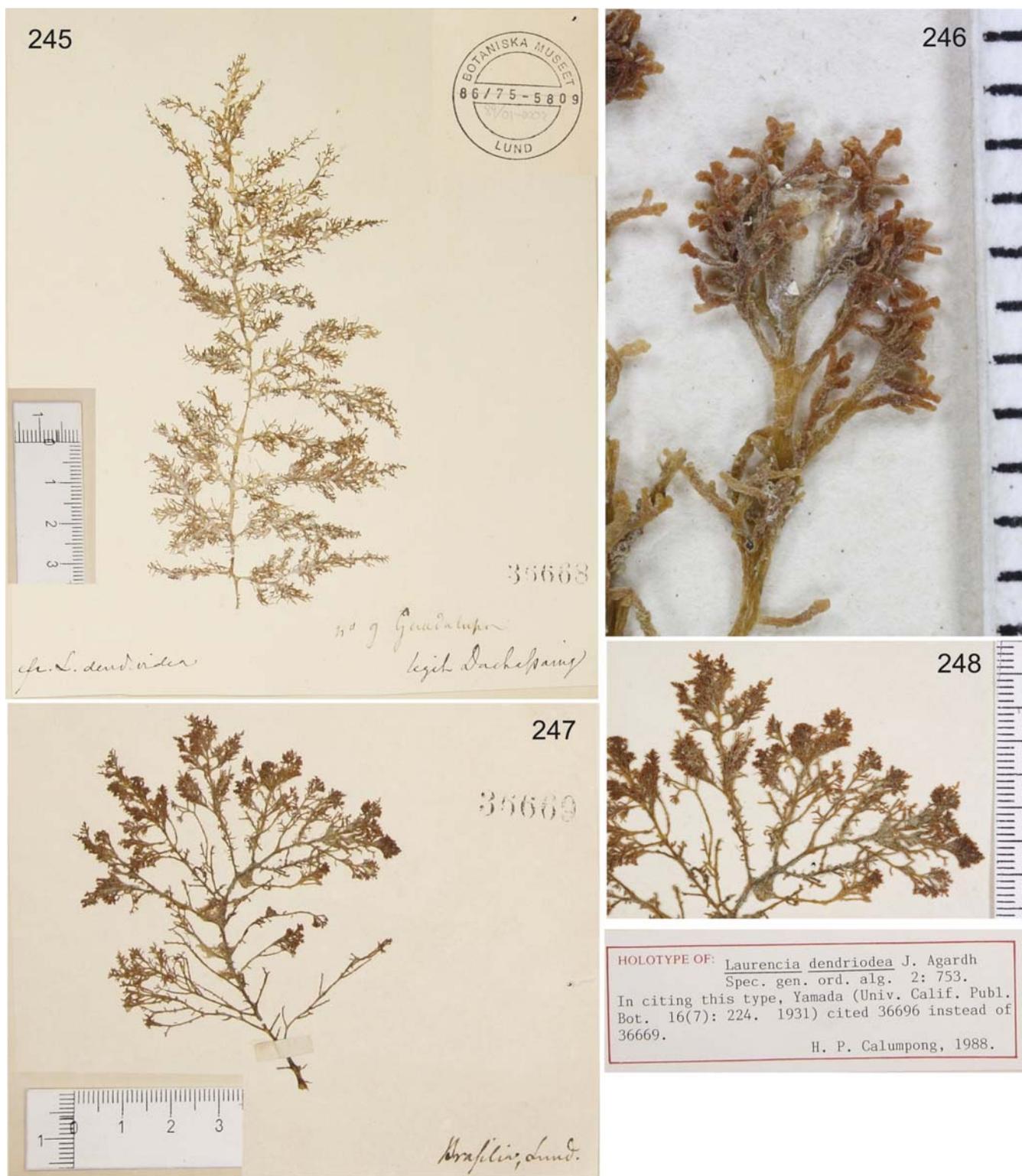
Figs 241-244. *Laurencia dendroidea* J. Agardh.

Fig. 241. Corte transversal da porção apical de um ramo mostrando dois segmentos axiais sobrepostos com quatro células pericentrais (p) e célula axial (a).

Fig. 242. Corte transversal próximo ao ápice de um râmulo mostrando segmento axial vegetativo com célula axial (a) e células pericentrais (p1-p4) com a primeira célula pericentral (p1) produzida abaixo da célula basal do tricoblasto (bt).

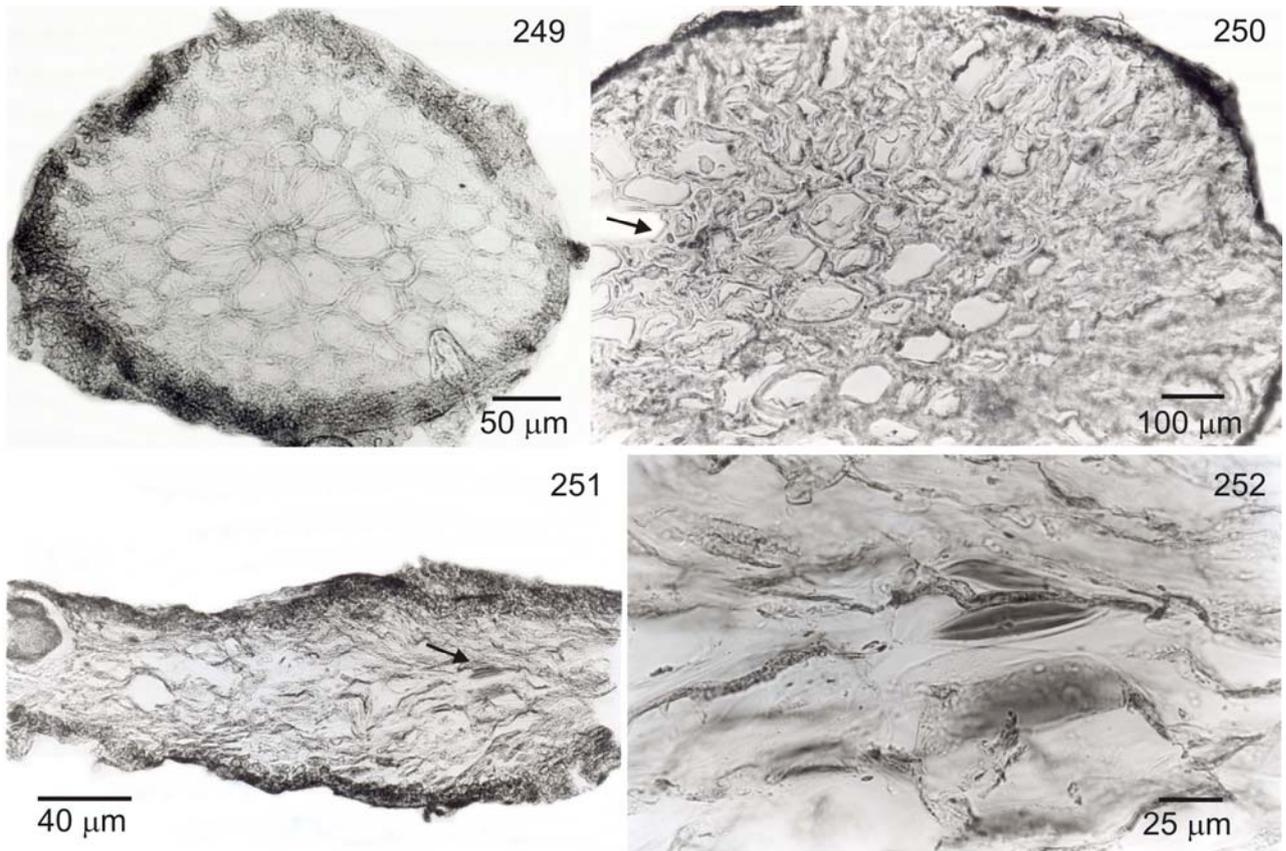
Fig. 243. Representação esquemática de um corte transversal próximo ao ápice de um râmulo tetrasporangial mostrando dois segmentos axiais sobrepostos com uma célula pericentral fértil, a quarta (p4) com tetrasporângios (te), duas células pré-esporangiais de cobertura (pr) e uma pós-esporangial de cobertura (po); a primeira, segunda e terceira pericentrais permanecem vegetativas (p1-p3).

Fig. 244. Vista superficial do talo mostrando duas células pré-esporangiais de cobertura (pr) com arranjo do tipo transversal, pericentral fértil (pf). Note células divididas a partir da célula pós-esporangial de cobertura (seta).



Figs 245-248. *Laurencia dendroidea* J. Agardh. Lectótipo (LD 36668, 36669) depositado no Museu Botânico de Lund, Suécia.

Fig. 245. Hábito do talo (LD 36668). Fig. 246. Detalhe dos râmulos (LD 36668). Fig. 247. Hábito do talo (LD 36669). Fig. 248. Detalhe dos râmulos (LD 36669).



Figs 249-252. *Laurencia dendroidea* J. Agardh. Lectótipo (LD 36669). Fotos M.T. Fujii.

Fig. 249. Corte transversal da base do talo.

Fig. 250. Detalhe de porção velha do talo mostrando células de enchimento (seta).

Fig. 251. Corte transversal de um râmulo de última ordem com espessamentos lenticulares (seta).

Fig. 252. Detalhe dos espessamentos lenticulares.

Comentários

Laurencia dendroidea foi descrita por J. Agardh (1852) a partir de material proveniente do Brasil, embora a região de coleta não tenha sido especificada. Posteriormente, Martens (1870) reportou essa espécie para o Brasil, também sem definir o local de coleta. Entretanto, a maior parte do material citado nas listas de espécies de Martens foi coletada por Glaziou entre 1869 e 1870 nas proximidades da cidade do Rio de Janeiro (Martens 1871, Taylor 1931). Uma outra espécie foi descrita para o Brasil, tendo como localidade-tipo o Rio de Janeiro, *Laurencia brasiliana* Martens (1871). Esta espécie foi considerada sinônimo de *Palisada poiteaui* por Taylor (1960, como *Laurencia poiteaui*). Espécimes com características de *P. poiteaui* não foram encontrados em nenhum local de coleta estudado e o material tipo não foi localizado para consulta, de modo que não foi possível esclarecer essa entidade taxonômica.

Yamada (1931) reduziu *L. dendroidea* a uma variedade de *L. obtusa*, espécie descrita como *Fucus obtusus* Hudson (1762), cuja localidade tipo não foi especificada (provavelmente Devon ou Sussex, Inglaterra) (Maggs & Hommersand 1993, Silva *et al.* 1996). Taylor (1931), em sua sinopse das algas marinhas do Brasil, citou *L. dendroidea* questionando sua validade como uma espécie independente. Mais tarde, Taylor (1960) incluiu *L. dendroidea* var. *corymbifera* P.L. Crouan *et* H.M. Crouan, *L. dendroidea* var. *denudata* P.L. Crouan *et* H.M. Crouan e *L. dendroidea* var. *tenuifolia* P.L. Crouan *et* H.M. Crouan como sinônimos de *L. obtusa* sem, contudo, mencionar o posicionamento taxonômico da variedade típica. Oliveira Filho (1977) considerou *L. dendroidea* como sinônimo de *L. obtusa*. Atualmente, Wynne (2005) aceita o posicionamento taxonômico de Yamada (1931) e cita o epíteto *dendroidea* como uma variedade de *L. obtusa*.

Laurencia dendroidea exibe uma considerável plasticidade fenotípica, cujas diferenças em maior ou menor grau têm levado autores a atribuir diferentes epítetos específicos a esse táxon, sendo eles: *L. arbuscula* Sonder, *L. composita* Yamada, *L. filiformis* (C. Agardh) Montagne f. *filiformis*, *L. filiformis* f. *heteroclada* (Harvey) Saito *et* Womersley, *L. filiformis* f. *dendritica* Saito *et* Womersley, *L. heteroclada*, *L. majuscula* (Harvey) Lucas, *L. microcladia* Kützing, *L. obtusa* (Hudson) J.V. Lamouroux e as variedades *L. obtusa* var. *densa* Yamada, *L. obtusa* var. *divaricata* (J. Agardh) Yamada e *L. scoparia* J. Agardh (Joly 1965, Oliveira Filho 1969, Cordeiro-Marino 1978, Cordeiro-Marino *et al.* 1983, Yoneshigue 1985, Fujii 1990, 1998, Fujii & Senties 2005, Pedrini *et al.* 1994, Figueiredo *et al.* 2004, Széchy & Nassar 2005).

Fujii (1998) considerou *L. arbuscula*, *L. scoparia*, *L. filiformis* f. *dendritica*, *L. filiformis* f. *heteroclada* e *L. filiformis* f. *filiformis* [essas três últimas citadas como *Laurencia* sp.2, *Laurencia* sp.3 e *Laurencia* sp.4, respectivamente por Fujii (1990)], como um complexo de espécies, mas manteve os táxons como entidades distintas. Embora, a coespecificidade entre *L. scoparia* e *L. filiformis* tenha sido proposta por Rodríguez de Rios & Saito (1983), Fujii (1990, 1998) considerou que esse dois táxons correspondiam a espécies independentes pelas diferenças encontradas na densidade de ramificação, forma dos ramos de última ordem e pela presença ou ausência de espessamentos lenticulares nas paredes das células medulares. Posteriormente, Fujii & Senties (2005) reconheceram que as características apresentadas por que esses táxons correspondiam a variações morfológicas de uma única espécie. A coespecificidade entre *L. arbuscula*, *L. filiformis* e *L. scoparia* no Brasil foi confirmada através da análise de sequências do gene *rbcL* realizada por Fujii *et al.* (2006), tendo o epíteto *L. filiformis* prioridade sobre os demais.

Neste estudo, uma nova análise das sequências do gene *rbcL* foi realizada incluindo espécimes com características atribuíveis a *L. arbuscula*, *L. filiformis* (incluindo espécimes com o hábito de *L. scoparia*), *L. majuscula* e *L. obtusa* provenientes do Rio de Janeiro e Bahia e comparadas com as disponíveis no GenBank sob os epítetos *L. filiformis* (como *L. cf. catarinensis* e *L. arbuscula*) de São Paulo (Fujii *et al.* 2006) e *L. majuscula* de Tenerife, Ilhas Canárias, Espanha (Gil-Rodríguez *et al.* 2009). Os espécimes do Rio de Janeiro, São Paulo e Bahia agruparam-se com alto suporte em todas as análises geradas (Fig. 437, pág. 262), confirmando que esses táxons são variações morfológicas de uma única entidade taxonômica extremamente plástica. *Laurencia majuscula* das Ilhas Canárias agrupou-se com os espécimes brasileiros. Com base nos mesmos resultados, a partir das análises das sequências de *L. filiformis* de São Paulo e *L. majuscula* das Ilhas Canárias, Díaz-Larrea (2008) considerou esses táxons como uma única entidade taxonômica, sob o nome *L. filiformis*.

Estudos dos materiais-tipo, fotografia dos tipos e/ou materiais de referência de *L. dendroidea*, *L. filiformis*, incluindo suas variedades, *L. majuscula*, *L. arbuscula* e *L. obtusa*, provenientes de diferentes herbários foram realizados por Fujii (1990) e neste estudo. Os espécimes-tipo de *L. dendroidea* (LD 36668, 36669) correspondem ao lectótipo, porém foram identificados equivocadamente como holótipo no exame das exsicatas realizado por H.P. Calumpang. Espessamentos lenticulares foram verificados em pequenas quantidades no espécime LD 36669 (Figs 251, 252) (Fujii 1990), embora eles não tenham sido observados por Yamada (1931) durante o exame do mesmo material. Yamada (1931) descreveu células corticais não projetadas para o espécime (LD 36669).

O lectótipo de *L. filiformis* proveniente do Herb. Agardh, Lund, Suécia (LD 36488) e o isótipo do Museu Nacional de História Natural de Paris (PC) (fotografia do isótipo procedente do Herbário Estadual do Sul da Austrália, Adelaide, AD A74463), reproduzidos aqui, mostram espécimes morfológicamente distintos dos espécimes brasileiros, apresentando talo estreito com ramificação irregular e esparsa (Figs 253, 254). Presença ocasional de espessamentos lenticulares foi observada por Saito & Womersley (1974) para ambos os materiais, entretanto não foi observada no lectótipo consultado por Fujii (1990) e no isótipo por Yamada (1931).

Laurencia filiformis foi originalmente descrita para a Austrália ocidental como *Chondria filiformis* C. Agardh (1822) e a grande plasticidade morfológica deste táxon foi reconhecida por Saito & Womersley (1974) e Womersley (2003), sendo tratado como um complexo de espécies, denominado de “complexo *filiformis*”. Baseados em características morfo-anatômicas e, sobretudo, nas diferenças relacionadas ao habitat que ocupam, Saito & Womersley (1974) reconheceram, além da forma típica, duas formas de *L. filiformis*: *L. filiformis* f. *heteroclada*, baseada em *L. heteroclada* Harvey (1855) e *L. filiformis* f. *dendritica*. De acordo com Saito & Womersley (1974), além das três formas de *L. filiformis*, *L. arbuscula* e *L. tasmanica* Hooker & Harvey integram o complexo *L. filiformis* por apresentarem variação contínua com formas intermediárias entre elas, cujos extremos poderiam ser reconhecidos como *L. arbuscula* e *L. tasmanica*. Apesar do reconhecimento de um contínuo de variação morfológica, Saito & Womersley (1974) mantiveram esses três táxons como entidades independentes.

A forma típica de *L. filiformis* foi caracterizada por crescer em locais protegidos com águas calmas, com um ou poucos eixos originados de um pequeno apressório discóide, talos estreitos com até 1 mm de diâmetro e espessamentos lenticulares normalmente presente nas paredes das células medulares, frequentemente agrupados em 2-4 células. Dentro desta forma foram incluídos espécimes brasileiros que cresciam em áreas protegidas e apresentavam talos de grande porte e espessamentos lenticulares menos freqüentes nas células medulares e na base do cistocarpo (como *Laurencia* sp.4, Fujii 1990). As análises dos materiais (A41955, A42238 e A41989), provenientes da Austrália e identificados por Saito como *L. filiformis* (Figs 255-261) mostraram talos com hábito semelhante aos espécimes tipo, células corticais não projetadas e espessamentos lenticulares nas paredes das células medulares, conforme descrito por Saito & Womersley (1974) e Womersley (2003).

Laurencia filiformis f. *heteroclada* foi caracterizada por crescer em locais expostos à arrebentação das ondas, apresentando numerosos eixos fastigiados originados de uma base

estolonífera, talos mais largos com 1 a 2 mm de diâmetro e espessamentos lenticulares ocasionalmente presentes ou ausentes (Saito & Womersley 1974, Womersley 2003). Espécimes brasileiros que cresciam em locais com grande movimentação da água, mas não sujeitos ao impacto direto das ondas, com porte médio a grande e espessamentos lenticulares frequentes a abundantes nas células medulares e na base do cistocarpo foram incluídos nesta forma (como *L. scoparia* e *Laurencia* sp.3, Fujii 1990, Fujii & Senties 2005).

O lectótipo de *Laurencia. heteroclada* Harvey depositado no Trinity College Dublin, Irlanda (TCD) (fotografia do tipo procedente de AD, A74469) (Fig. 262), mostra espécime semelhante aos coletados e identificados por Saito como *L. filiformis* f. *heteroclada* (A41610, AD 41968, AD 41953 e AD 41968), analisados neste estudo (Figs 263-266). Todos os espécimes desta forma mostraram hábito distinto dos materiais brasileiros, entretanto espessamentos lenticulares, tidos com raros ou ausentes por Saito & Womersley (1974) e Womersley (2003), foram facilmente observados nestes materiais.

Laurencia filiformis f. *dendritica* foi descrita como típica de águas mais profundas, crescendo em locais com ação moderada de ondas ou sujeitos à forte arrebentação, exibindo talos maiores e mais robustos, com até 3 mm de diâmetro e espessamentos lenticulares ausentes (Saito & Womersley 1974, Womersley 2003) (Figs 267-269, fotografia do isótipo depositado em AD, A42549). Material em exsicata não estava disponível para consulta. Espécimes brasileiros com porte menor, que cresciam em áreas expostas e com espessamentos lenticulares completamente ausentes ou presentes somente na base do cistocarpo foram incluídos nesta forma de *L. filiformis* (como *L. arbuscula* e *Laurencia* sp.2, Fujii 1990, Fujii & Senties 2005).

Atualmente, diferentes tratamentos têm sido dados às formas de *L. filiformis*. A forma *heteroclada* foi elevada novamente à categoria específica por Masuda (1997), reconsiderando o posicionamento originalmente proposto por Harvey (1855). Masuda (1997) argumentou que a base estolonífera, a falta de espessamentos lenticulares (ausentes ou raros) na forma *heteroclada* e a produção de diferentes metabólitos secundários na forma típica e na forma *heteroclada*, são características suficientes para tratá-las como espécies distintas. Este posicionamento foi seguido por Wynne *et al.* (2005) que ao analisarem sítipos depositados em MICH (Herb. Harvey, Alg. Aust. Exsic. 234B) confirmaram as diferenças vegetativas enfatizadas por Masuda (1997), incluindo a ausência de espessamentos lenticulares. Ao contrário, espessamentos lenticulares foram facilmente encontrados nos materiais da f. *heteroclada* analisados neste estudo, e no material-tipo (TCD - Herb. Harvey, Alg. Aust. Exsic. 234A) examinado por Fujii (1990), onde foram observados em grande quantidade.

Laurencia filiformis f. *dendritica* tem sido considerada como um sinônimo de *L. filiformis* (Guiry & Guiry 2005).

Laurencia dendroidea mostra maior semelhança morfológica com *L. majuscula*, já reconhecida por J. Agardh (1876), que considerou a espécie um sinônimo de *L. dendroidea*. *Laurencia majuscula* (Harvey) Lucas foi descrita para a Austrália ocidental como *L. obtusa* var. *majuscula* por Harvey (1863), (isótipo na Universidade de Melbourne, MEL 1006997, fotografia do tipo AD-A74464, Fig. 270). Yamada (1931) quando reduziu *L. dendroidea* à variedade de *L. obtusa* manteve os dois táxons (*L. obtusa* var. *dendroidea* (J. Agardh) Yamada e *L. obtusa* var. *majuscula*) como entidades taxonômicas distintas, rejeitando a sinonímia proposta por J. Agardh (1876). Yamada (1931) considerou a cor vermelha da fronde e as células corticais ligeiramente projetadas próximas aos ápices dos ramos da var. *majuscula* como características que a distinguem da var. *dendroidea*. Posteriormente, a variedade *majuscula* foi elevada à categoria de espécie por Lucas (1935).

Saito & Womersley (1974) consideraram *L. majuscula* como uma espécie claramente distinta das demais espécies australianas, prontamente reconhecida pelo seu hábito arbustivo, muito ramificado, textura relativamente macia, células corticais distintamente projetadas, especialmente próximas aos ápices de eixos e ramos, e ausência de espessamentos lenticulares. O isótipo de *L. majuscula* e os materiais coletados e identificados por Saito & Womersley (1974) e Womersley (2003) para a Austrália (SPF52012, AD 41961, AD 41962, AD 41963 e AD 41964), examinados neste estudo, mostram espécimes morfológicamente próximos a algumas plantas brasileiras de *L. dendroidea* quanto ao hábito, contorno piramidal do talo, ramificação densa, desenvolvimento de râmulos adventícios e presença de células corticais projetadas (Figs 271-274). A comparação morfológica entre *L. dendroidea*, *L. majuscula* e *L. filiformis* de diferentes localidades é apresentada na Tabela 10. Plantas brasileiras de *Laurencia dendroidea* (como *L. obtusa*) compartilham ainda com *L. majuscula* das Ilhas Canárias a produção do sesquiterpeno elatol como metabólito secundário majoritário (Masuda *et al.* 1998, Da Gama *et al.* 2002, Pereira *et al.* 2003, Sudatti *et al.* 2008). Diferenças no número de *corps en cerise* por célula cortical foram observadas entre *L. dendroidea* e *L. majuscula* de diferentes localidades. Essa característica têm se mostrado variável entre populações de uma mesma espécie sendo, portanto, de pouco valor diagnóstico, apesar de ter sido considerada de valor taxonômico por Abe *et al.* (1998). A cor vermelho-sangue característica de *L. majuscula* da Austrália (localidade-tipo), Ilhas Canárias, Espanha e Malásia não foi observada em nenhum dos espécimes brasileiros de *L. dendroidea*. Espessamentos lenticulares não foram verificados nos espécimes australianos de *L. majuscula*

examinados neste estudo, assim como no espécime-tipo analisado por Yamada (1931), embora eles tenham sido ocasionalmente observados nos materiais (AD 41963) e (AD 41964) por Fujii (1990).

Laurencia majuscula foi citada para o Rio de Janeiro por Széchy & Nassar (2005), caracterizada pela presença de células corticais projetadas e ausência de espessamentos lenticulares. Nossas observações com base no material do Rio de Janeiro mostraram que essas duas características são extremamente variáveis, como já verificado nos materiais de São Paulo e Espírito Santo por Fujii (1990, 1998) e Fujii & Senties (2005). Em plantas identificadas como *L. majuscula* para o Rio de Janeiro com células corticais projetadas, espessamentos lenticulares podem estar presentes.

As semelhanças morfológicas entre *L. majuscula* da localidade-tipo e *L. dendroidea* sugerem a possibilidade dessas duas espécies serem coespecíficas, conforme proposto por J. Agardh (1876). A comparação de seqüências de DNA de *L. majuscula* da Austrália com *L. dendroidea* do Brasil é necessária para confirmar essa hipótese.

O exame dos espécimes identificados como *L. arbuscula* para o município de Parati, Rio de Janeiro (RB281834, RB281835) confirmou que se tratam de *L. dendroidea*, resultado corroborado pelos dados moleculares a partir de seqüências de DNA de espécimes coletados na mesma região. O material de *L. arbuscula* proveniente da localidade-tipo (Austrália) (SPF8500), consultado neste estudo (Figs 275-279) e citado e ilustrado por Womersley (2003: 467, Fig. 208A) como representativo desta espécie, mostra plantas com hábito muito distinto das anteriormente identificadas como *L. arbuscula* para o Brasil (Figs 187, 190-191). Espessamentos lenticulares não foram observados nesse material, conforme descrito por Saito & Womersley (1974) e Womersley (2003), os segmentos axiais tetrasporangiais produzem apenas uma célula pericentral fértil e as células corticais não se projetam além da superfície do talo (Figs 277, 279).

Laurencia heteroclada sensu Oliveira Filho (1969), *L. microcladia sensu* Cordeiro-Marino (1978) e *sensu* Joly (1965) e *L. obtusa sensu* Joly (1965) foram colocadas em sinonímia com *L. arbuscula* ou com *L. scoparia* por Fujii (1990). Portanto, com base em nossos resultados e nos de Fujii *et al.* (2006), essas espécies correspondem à *L. dendroidea*. *Laurencia microcladia* foi mais recentemente citada para o município de Parati, Rio de Janeiro por Figueiredo *et al.* (2004). O material depositado no Herbário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro (RB) não foi localizado para análise, mas julgamos que se trata de *L. dendroidea* com base nos estudos realizados por Fujii (1990), Fujii *et al.* (2006) e no material analisado neste estudo, coletado na mesma localidade. Igualmente, a análise dos materiais

identificados como *L. composita* (SPF50654), *L. obtusa* var. *densa* (SPF50661, SPF50663), ambas citadas para o Espírito Santo (Oliveira Filho 1969) e *Laurencia obtusa* (RB281839) citada para o Rio de Janeiro (Figueiredo 1989), revelou que esses táxons correspondem à *L. dendroidea*. O táxon identificado por Oliveira Filho (1969) como *L. obtusa* var. *gelatinosa* (Desfontaine) J. Agardh não foi encontrado no herbário da Universidade de São Paulo e o seu posicionamento taxonômico não pôde ser esclarecido.

Tabela 10. Comparação entre *Laurencia dendroidea* J. Agardh e espécies relacionadas.

Espécies	<i>L. filiformis</i>	<i>L. dendroidea</i>	<i>L. majuscula</i>		
Localidade / Características	Austrália (localidade-tipo)	Brasil (localidade-tipo)	Austrália (localidade-tipo)	Ilhas Canárias, Espanha	Malásia
Referências	Saito & Womersley (1974) Womersley (2003) Presente estudo	Fujii & Senties (2005, como <i>L. filiformis</i>) Pereira <i>et al.</i> (2003, como <i>L. obtusa</i>) Presente estudo	Saito & Womersley (1974) Fujii (1990) Womersley (2003) Presente estudo	Masuda <i>et al.</i> (1998)	Yamagishi <i>et al.</i> (2003)
Habitat	Epilíticas ou epífitas do mesolitoral até 42 m	Epilíticas do mesolitoral inferior até 3 m	Epilíticas ou epífitas em águas rasas ou poças de recifes	Epilíticas do mesolitoral inferior até o infralitoral superior	Epilíticas no infralitoral superior
Hábito / Altura do talo (cm)	Ereto, solitário ou em tufos sem cortorno piramidal 6-15 (30)	Ereto, solitário ou em tufos com ou sem cortorno piramidal 4-30	Ereto de cortorno piramidal até 20	Ereto, solitário de contorno piramidal 4-6	Ereto, solitário de contorno piramidal 10-28
Fixação	Apressório discóide e ramos estoloníferos	Apressório discóide, ramos estoloníferos e ramos descendentes	Apressório discóide e ramos estoloníferos	Apressório discóide	Apressório discóide e ramos estoloníferos
Cor dos talos	Vermelho a vermelho-escuro	Marrom-vinácea, violácea a esverdeada	Vermelho-púrpura	Vermelho-sangue	Vermelho-sangue
Ramificação	Irregular espiralada, esparsa	Irregular espiralada, densa	Irregular espiralada, densa	Irregular espiralada, densa	-
Râmulos adventícios no eixo principal	Ausente	Presente formando tetrasporângios	Presente	Presente formando tetrasporângios	Presente formando cistocarpos ou espartamângios
Número de <i>corps en cerise</i> por célula cortical	-	(1) 2-3	-	2-4	(1) 2-4 (5-7)
Projeção das células corticais	Ausente	Presente (ligeira a distintamente projetada) ou ausente	Presente (ligeira a distintamente projetada)	Presente (ligeiramente projetada)	Presente (ligeiramente projetada)
Espessamentos lenticulares	Presente ou ausente	Presente ou ausente	Ausente ou raros	Ausente	-
Posição das células pericentrais tetrasporangiais	-	4 ^a .	4 ^a .	3 ^a . e 4 ^a .	-
Metabólitos secundários majoritários	-	Elatol (sesquiterpeno)	-	Elatol, isoobtusol (sesquiterpenos)	-

Espécimes de *Laurencia obtusa* da França foram analisados neste estudo e são distintos morfologicamente *L. dendroidea*, principalmente pelo hábito e pelos talos muito flácidos, não cartilagosos em textura. Nos espécimes analisados, faltam espessamentos lenticulares nas paredes das células medulares e as células corticais são ligeiramente projetadas próximo aos ápices dos ramos (Figs 280-284). No entanto, espessamentos lenticulares foram observados no espécime-tipo de *L. obtusa* analisado por Fujii (1990), embora eles sejam descritos como ausentes na circunscrição dessa espécie.

No Rio de Janeiro, *Laurencia dendroidea* é comumente encontrada, estendendo-se do litoral norte ao sul do estado. Variações morfológicas foram observadas em espécimes coletados em diferentes regiões do litoral. Espécimes do norte do estado coletados em áreas voltadas para mar aberto, expostos à forte arrebentação das ondas ou em áreas moderadamente expostas, crescendo no mesolitoral até a franja do infralitoral, apresentaram talos de porte menor, entre 4 e 7 cm de altura. Nesses espécimes, muitas vezes a base é formada por uma agregação de apressórios discóides da qual partem vários eixos eretos e os espessamentos lenticulares são raros, às vezes, encontrados apenas na base do cistocarpo. Exemplares com tais características correspondem aos referidos como *L. arbuscula* ou *L. obtusa*. Por outro lado, espécimes coletados no sul do estado em locais calmos de baías e enseadas, crescendo do infralitoral até uma profundidade de 3 m, apresentaram talos maiores, com até 20 cm de altura. A base é formada por um único apressório discóide, ramos estoloníferos e ramos laterais descendentes e os espessamentos lenticulares variam de abundantes a raros ou ausentes. Exemplares com essas características se enquadram nos referidos como *L. filiformis* e *L. majuscula*. Em algumas populações, as plantas apresentaram inúmeros ramos e râmulos decíduos, que após seu destacamento deixam cicatrizes nos eixos. Os râmulos de última ordem são longos, sinuosos de aspecto espinescente. Esses espécimes foram referidos anteriormente como *L. scoparia*. Os râmulos decíduos podem ser vegetativos ou tetraspóricos e, aparentemente, auxiliam a dispersão da espécie. A possibilidade desses râmulos atuarem como propágulos não pôde ser confirmada, uma vez que a sua germinação não foi observada em nenhuma das populações estudadas.

O grau de projeção das paredes das células corticais foi extremamente variável em todas as populações analisadas, ocorrendo variação entre indivíduos uma mesma população, que exibiram desde ramos com margem lisa até com células corticais marcadamente projetadas.

As análises comparativas dos espécimes brasileiros com os materiais-tipo e/ou materiais de referência de *L. filiformis* da localidade-tipo mostraram que esses táxons são

morfologicamente distintos, principalmente quanto ao hábito das plantas. Por outro lado, nossos espécimes estão de acordo com as características de *L. dendroidea*, uma espécie originalmente descrita para o Brasil. Portanto, com base nos estudos morfológicos e moleculares, confirmamos que as espécies anteriormente referidas para o litoral brasileiro como *L. arbuscula*, *L. filiformis*, *L. majuscula* e *L. obtusa* devem ser identificadas como *L. dendroidea*. As análises filogenéticas realizadas neste estudo e por Fujii *et al.* (2006) com sequências do gene *rbcL* mostraram que *Laurencia obtusa* do Atlântico Norte (Irlanda, região próxima à localidade tipo) é uma espécie distinta, não se agrupando com nenhum dos representantes de *Laurencia* citados para o litoral brasileiro, sendo, portanto, equivocadas as citações de *L. obtusa* e suas variedades para o Brasil. Desta forma, *L. dendroidea* não deve ser tratada como uma variedade de *L. obtusa*, mas como uma espécie independente.

Sequências de DNA de *L. filiformis* e *L. majuscula* da localidade-tipo são necessárias para comparação com os espécimes do Brasil e das Ilhas Canárias visando esclarecer o posicionamento taxonômico e as relações filogenéticas desses táxons.

Figs 253-256. *Laurencia filiformis* (C. Agardh) Montagne.

Figs 253-254. Materiais tipo de *Chondria filiformis* Herb. Agardh, Lund no. 23 'Cotê occid. N. Holl.'.

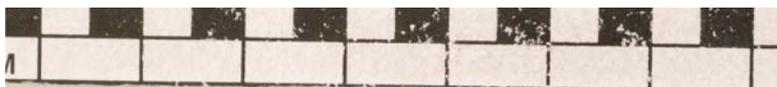
Fig. 253. Lectótipo (LD 36488) depositado no Museu Botânico de Lund, Suécia.

Fig. 254. Isótipo depositado em PC. Fotografia do isótipo procedente do Herbário Estadual do Sul da Austrália, Adelaide (AD A74463).

Figs 255-256. Exsicata da coleção de Y. Saito, Sul da Austrália (AD A41955).

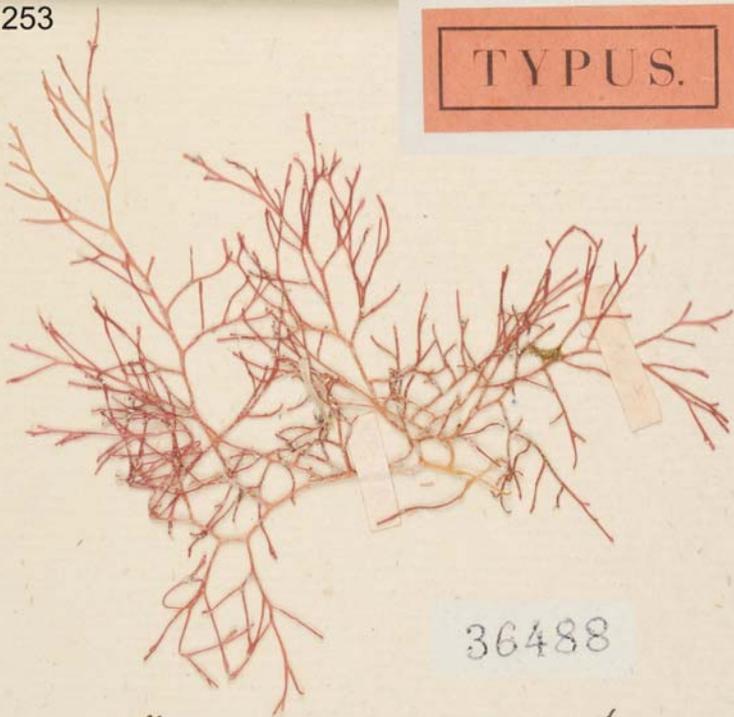
Fig. 255. Aspecto geral do talo.

Fig. 256. Detalhe dos ramos.



253

TYPUS.

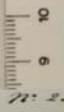


36488

no. 23. *Coleocleid. h. holl.*
in Mus. Paris.

A 41,955

254



Chondria filiformis Ag. Syst.
L. Agardh.
Coleocleid. h. holl.

256



255



Chondria
h. holl. Ⓞ east shore, Marino, St. Vincent Gulf. S. A. 23 Jan 1972
coll: Santa

Figs 257-261. *Laurencia filiformis* (C. Agardh) Montagne. Coleção Y. Saito, Sul da Austrália.

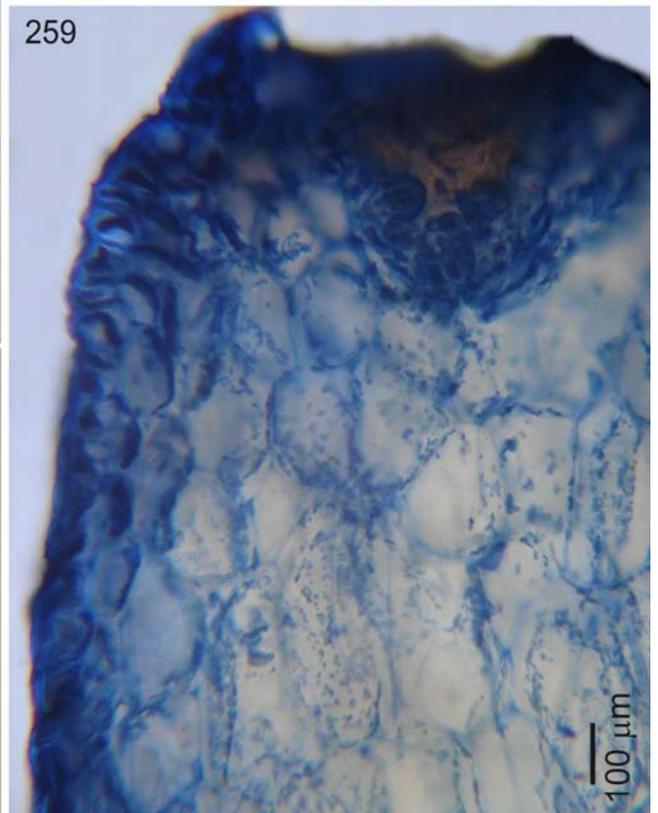
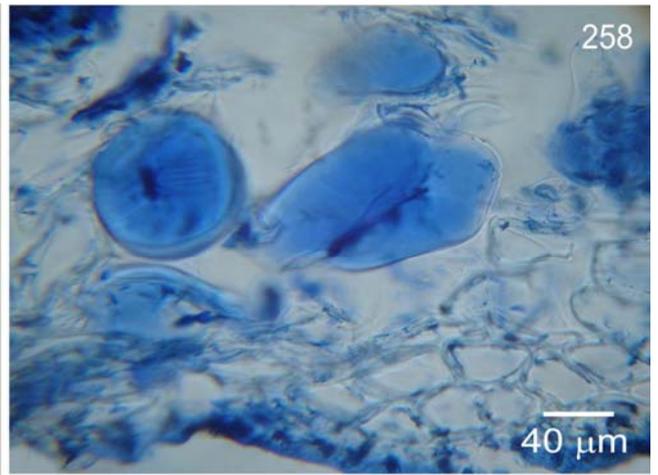
Fig. 257. Detalhe dos ramos tetrasporangiais (AD 41955).

Fig. 258. Corte transversal com espessamentos lenticulares (AD 41955).

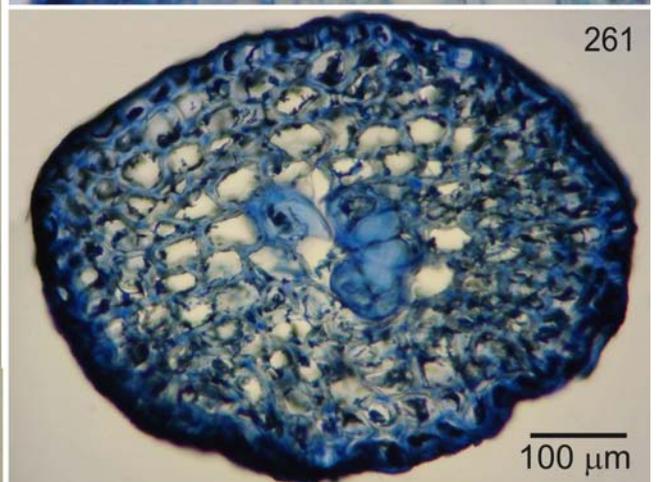
Fig. 259. Corte longitudinal mostrando células corticais não projetadas (AD 42238).

Fig. 260. Hábito do talo (AD 41989).

Fig. 261. Corte transversal com espessamentos lenticulares nas paredes das células medulares (AD 41989).



L. filiformis. calm area form? American River, N.L.
7 Apr. 1972, G. Kraft. 2-3m deep, attached on shells



Figs 262-267. *Laurencia heteroclada* Harvey.

Fig. 262. Lectótipo depositado no Trinity College Dublin, Irlanda (TCD) (Trav. Set. n.º 210, Herb. Harvey). Fotografia do lectótipo procedente do Herbário Estadual do Sul da Austrália, Adelaide (AD A74469).

Figs 263-266. *Laurencia filiformis* f. *heteroclada sensu* Saito et Womersley.

Figs 263-264. Hábito de duas plantas.

Fig. 263. Exsicata AD 41953.

Fig. 264. Exsicata AD 41610.

Fig. 265. Corte transversal do talo com espessamentos lenticulares (AD 41610).

Fig. 266. Corte longitudinal do talo mostrando células corticais não projetadas e tetrasporângios dispostos em arranjo paralelo (AD 41610).

262

TYPE
(HSG)



STATE HERBARIUM OF SOUTH AUSTRALIA (AD)
Rhodoph.: Rhodomelaceae / AD-A74469

Laurencia heteroclada Harv. cit. H.B.S. Womersley, 2003

Western Australia. IMCRA region: Leeuwin-Naturaliste.
Rottneest Island.
Autoderived coord. ex Gazetteer 32°00'23"S, 115°36'47"E; precn 3

Anon. 210 s.dat.

(W.H.Harvey Travelling Set)

Type.
From amalgamated Herb. ADU (record no. A74469).
Originally from Herb. TCD

Databased in: ADHERB (cjoyce; gooc:OK)
RECORD BASED ON PHOTOGRAPH ONLY

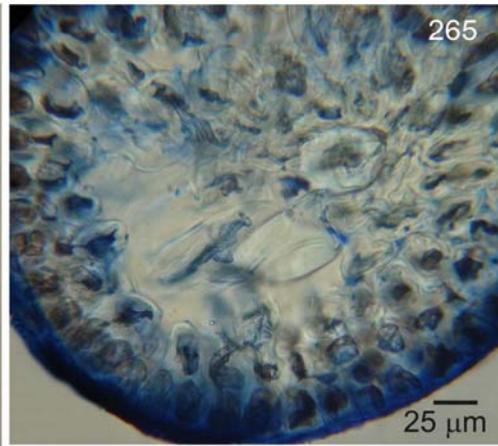


La. h. var.

263



Laurencia heteroclada - form of *Laurencia* ^{filiformis} ~~heteroclada~~
inside of Ellen Point, N.I. near low tide on rock
6 Apr. 1972 Smith

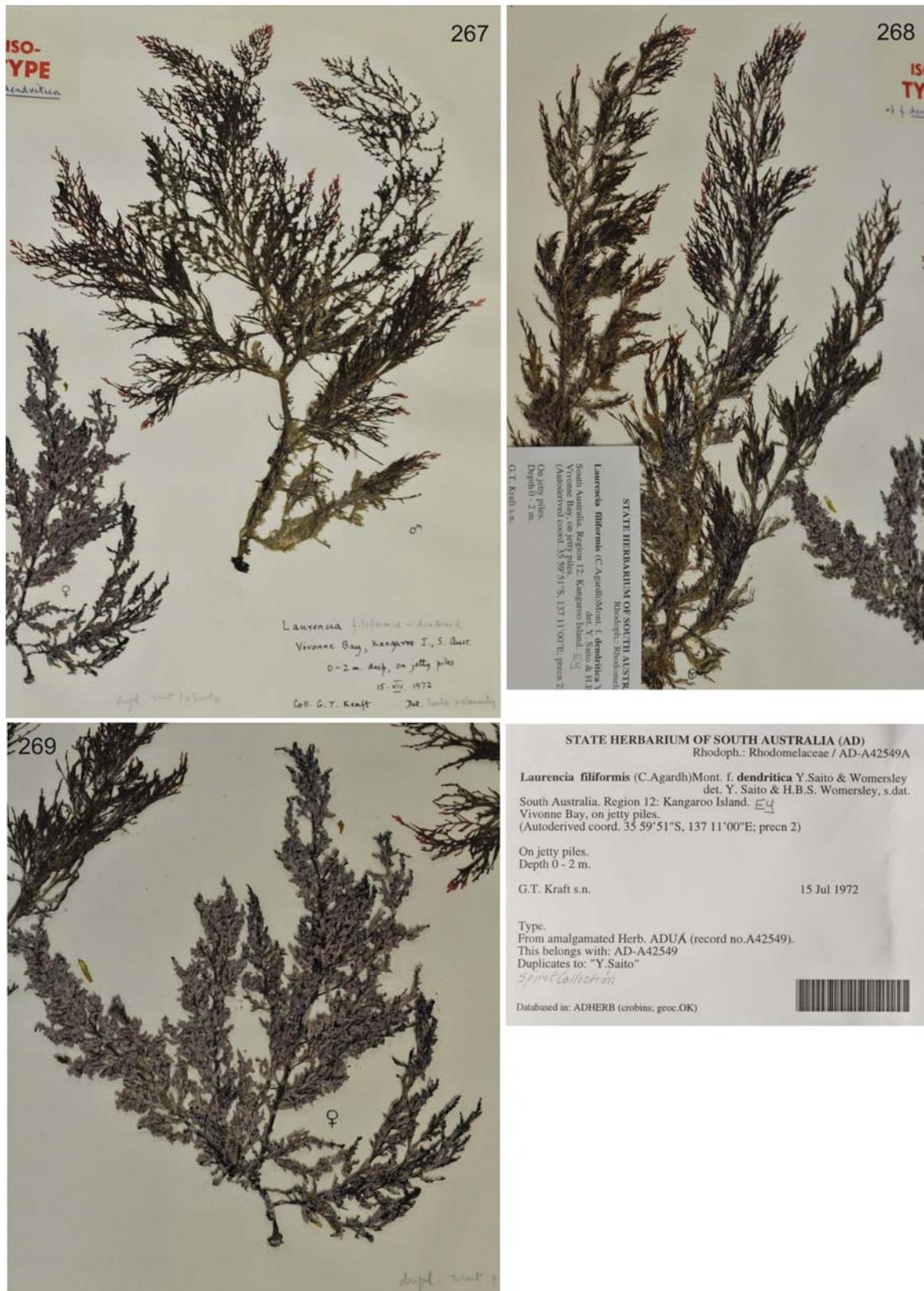


264



L. heteroclada, @ Cape Lannes, S.A.





Figs 267-269. *Laurencia filiformis* f. *dendritica*. Isótipo. Fotografia do isótipo procedente do Herbário Estadual do Sul da Austrália, Adelaide (AD 42559A).

Fig. 267. Planta masculina. Fig. 268. Planta tetraspórica. Fig. 269. Planta feminina.

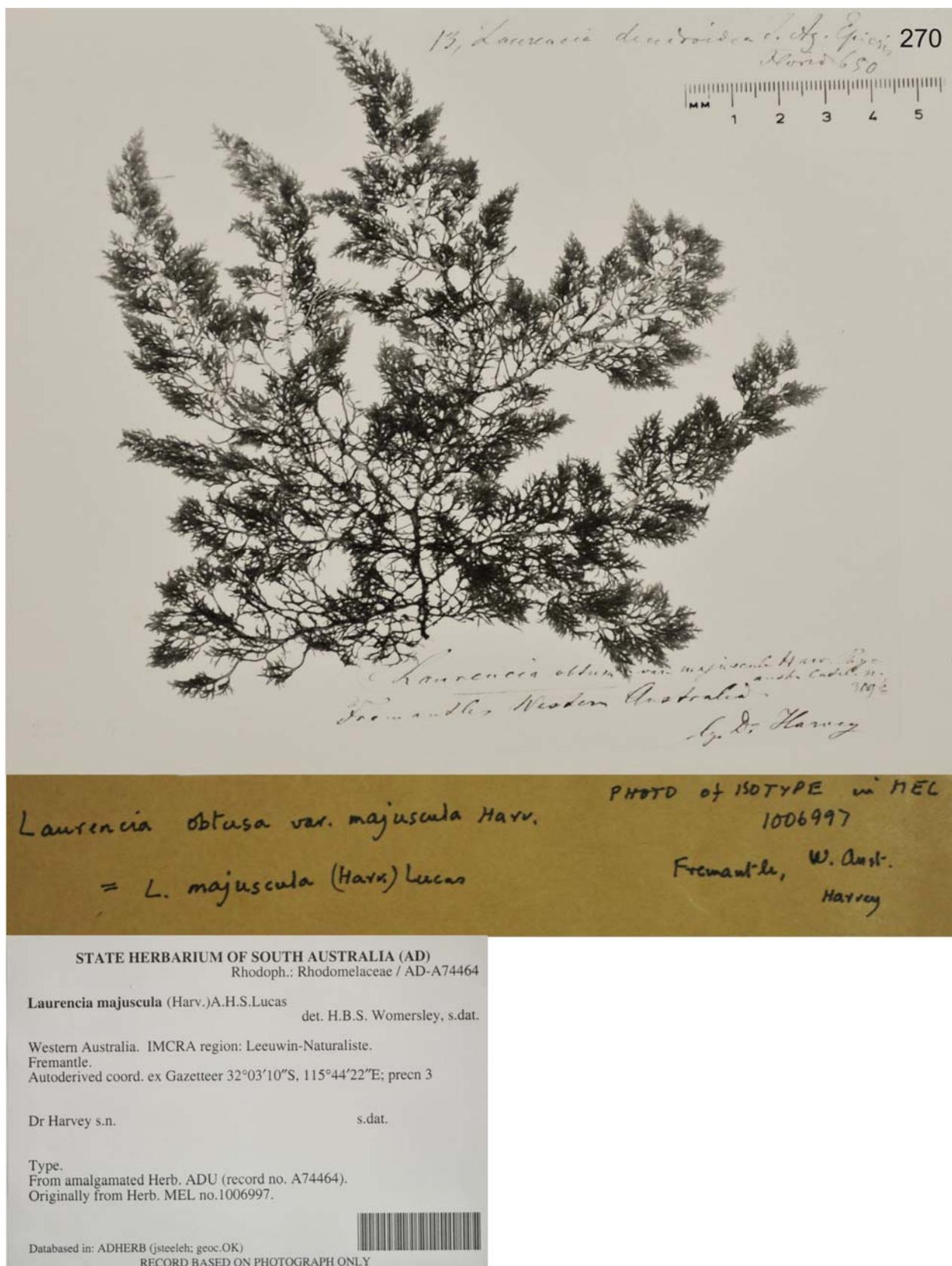


Fig. 270. *Laurencia majuscula* (Harvey) Lucas. Isótipo depositado na Universidade de Melbourne (MEL 1006997). Fotografia do isótipo procedente do Herbário Estadual do Sul da Austrália, Adelaide (AD A74464).

Figs 271-274. *Laurencia majuscula* (Harvey) Lucas.

Fig. 271. Exsicata depositada no herbário da Universidade de São Paulo (SPF 521012).

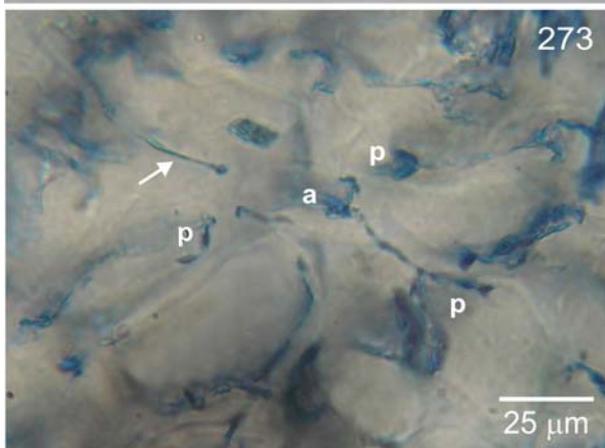
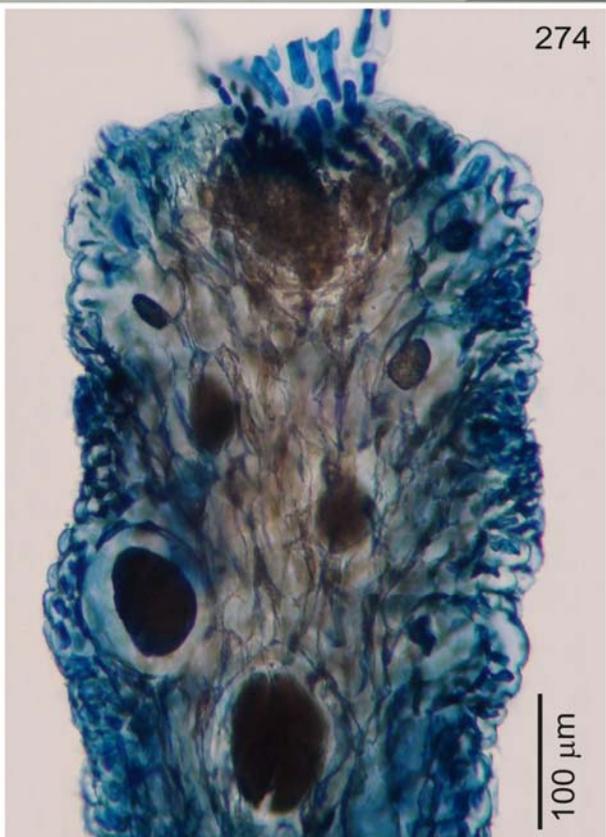
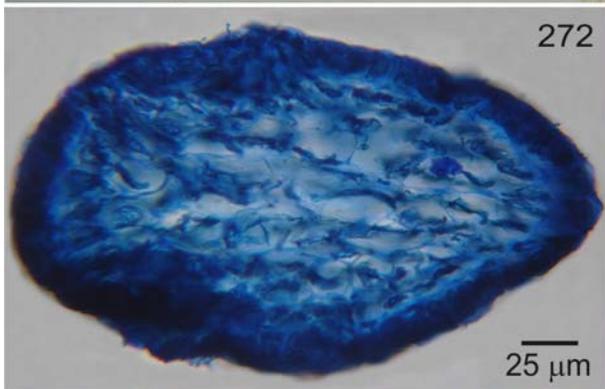
Hábito do talo.

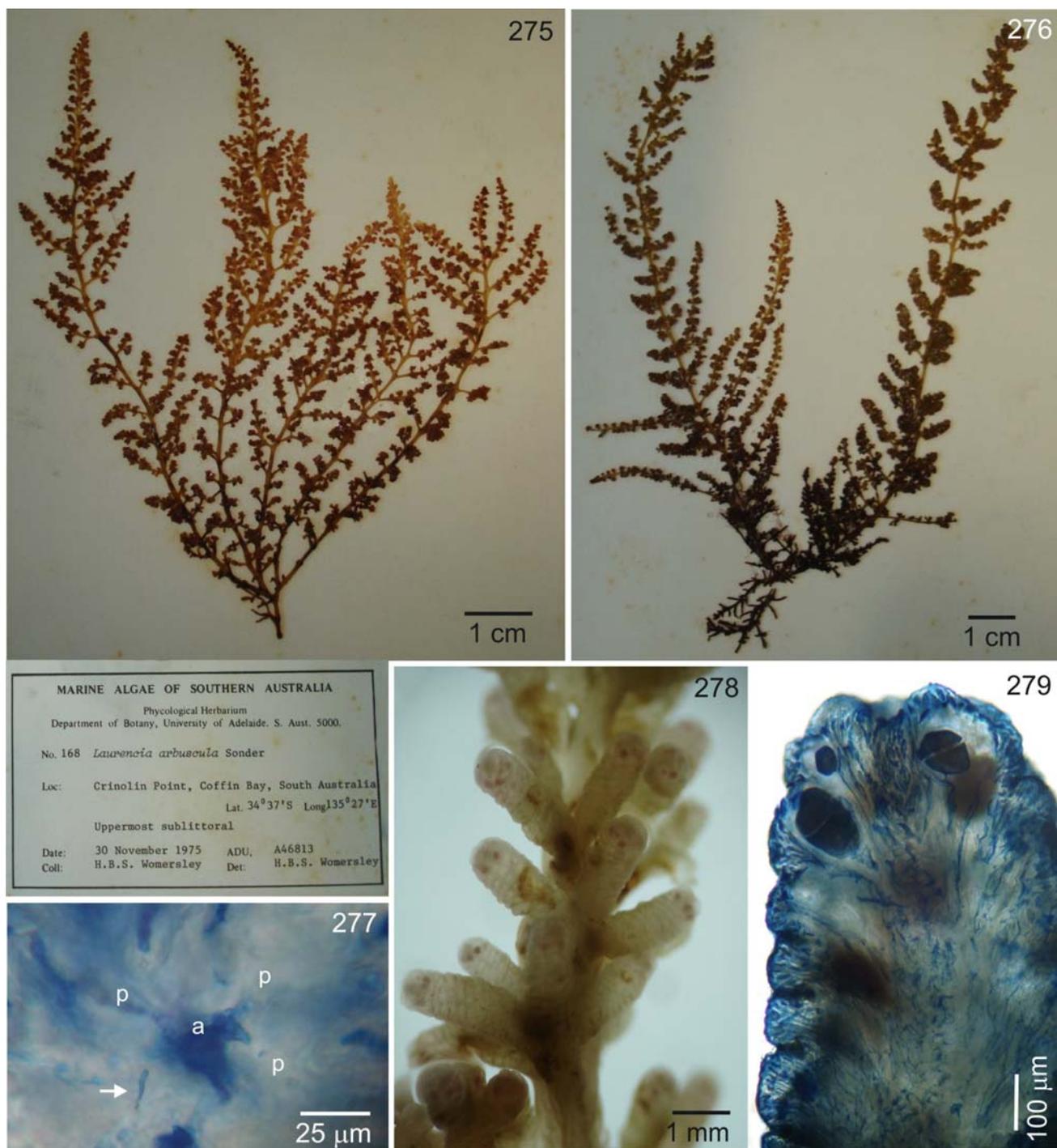
Figs 272-274. Coleção Y. Saito. Sul da Austrália (AD 41964).

Fig. 272. Corte transversal do talo sem espessamentos lenticulares nas paredes das células medulares.

Fig. 273. Corte transversal mostrando segmento tetrasporangial com uma célula pericentral fértil (seta), células pericentraes vegetativas (p) e célula axial (a).

Fig. 274. Corte longitudinal de um ramo tetrasporangial mostrando células corticais projetadas e tetrasporângios disposto em arranjo paralelo.





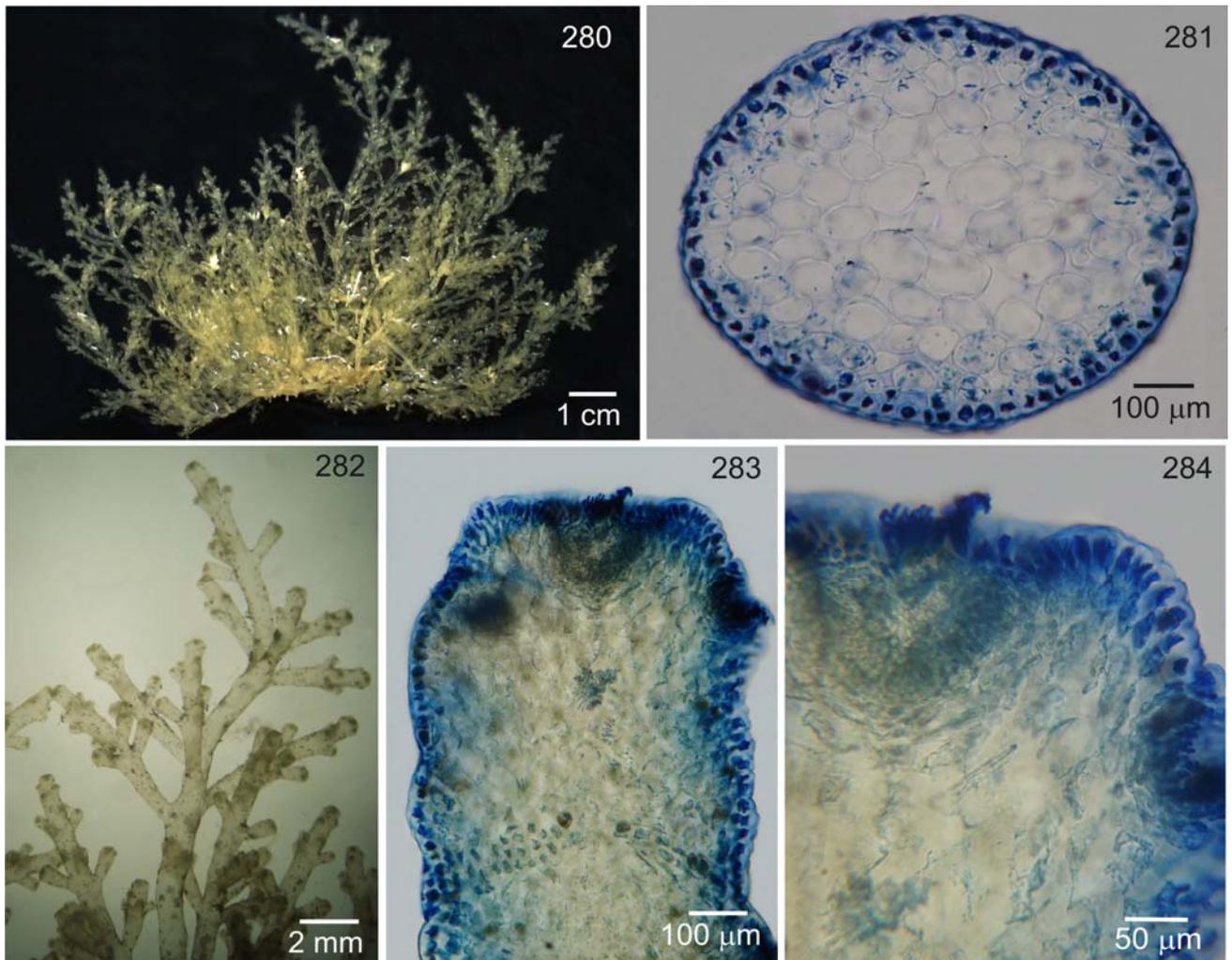
Figs 275-279. *Laurencia arbuscula* Sonder (SPF SPF8500).

Figs 275-276. Hábito de duas plantas.

Fig. 277. Detalhe do segmento tetrasporangial com uma célula pericentral fértil (seta), células pericentrais vegetativas (p) e célula axial (a).

Fig. 278. Detalhe dos ramos tetrasporangiais.

Fig. 279. Corte longitudinal de um ramo tetrasporangial mostrando células corticais projetadas e tetrasporângios dispostos em arranjo paralelo.



Figs 280-284. *Laurencia obtusa* (Hudson) J.V. Lamouroux. França (SP 400.116).

Fig. 280. Hábito da planta.

Fig. 281. Corte transversal do talo sem espessamentos lenticulares nas paredes das células medulares.

Fig. 282. Detalhe da porção apical.

Figs 283-284. Cortes longitudinais do talo mostrando células corticais ligeiramente projetadas.

3.1.3.5. *Laurencia oliveirana* Yoneshigue, Taxonomie et ecologie des algues marines dans la region de Cabo Frio (Rio de Janeiro) Brésil, Université d'Aix-Marseille. 1985: 329-330.

Holótipo: YY 4016 H; **Isótipo:** SPF 24767!

Localidade tipo: Arraial do Cabo, Rio de Janeiro, Brasil.

Figs 285-470.

Distribuição: Oceano Atlântico: Brasil: Rio Grande do Sul (Baptista 1977, como *Laurencia* sp.), Rio de Janeiro (Yoneshigue 1985, Gestinari *et al.* 1998), São Paulo (Fujii 1990, Fujii & Senties 2005, Amado Filho *et al.* 2006), Bahia (Nunes 1998).

Plantas com hábito subereto, formando tufos marrom-avermelhados a marrom-esverdeados, em forma de almofada intrincada, com até 1,5 cm de altura (Figs 285-290). Talos carnosos flácidos em textura, aderindo bem ao papel de herbário quando secos. Eixos principais suberetos de crescimento indeterminado, com 175-300 μm de diâmetro, fixos ao substrato por pequenos apressórios discóides (Figs 290-291), de onde partem eixos eretos de crescimento determinado com 270-580 μm de diâmetro nas porções medianas do talo. Eixos cilíndricos esparsamente ramificados. Ramificação unilateral pectinada a alterna-dística com uma ordem de ramos. Râmulos de última ordem cilíndricos a clavados longos ou curtos, com (160) 250-700 (1000) x 130-350 (575) μm .

Em vista superficial, células corticais regularmente arranjadas em fileiras longitudinais e conectadas umas às outras por ligações secundárias orientadas longitudinalmente (Fig. 292). Células corticais poligonais arredondadas nas porções basais e superiores do talo, poligonais alongadas nas porções medianas com (22,5) 52,5-77,5 (87,5) x 22,5-40 μm . Células corticais com apenas um *corp en cerise* por célula (Fig. 293) e por célula do tricoblasto. Em corte longitudinal, células corticais próximas aos ápices dos ramos não projetadas (Fig. 294). Em corte transversal, talo com uma a duas camadas de células corticais pigmentadas e três a quatro camadas de células medulares hialinas (Fig. 295). Células corticais quadráticas a cuneiformes com 20-32,5 x 25-40 μm nas porções medianas do talo. Células medulares arredondadas a ligeiramente alongadas radialmente, aumentando gradativamente de tamanho em direção ao centro do talo, com 40-105 μm x 37,5-82,5 μm nas porções medianas dos eixos principais. Espessamentos lenticulares ocasionalmente presentes nas paredes das células medulares de eixos e ramos (Fig. 296) e mais frequentes na base do cistocarpo (Figs 308, 309). Cada segmento axial vegetativo produz quatro células pericentrais (Figs 297, 314) que

são ligeiramente maiores que as células medulares circunvizinhas. No ápice dos ramos, a primeira célula pericentral é produzida abaixo da célula basal do tricoblasto (Fig. 315).

Plantas masculinas com ápices dos râmulos férteis claviformes, simples caracteristicamente mais intumescidos que os demais, com 780-1125 μm de diâm. (Fig. 289). Em corte longitudinal do râmulo, depressão espermatangial em forma de taça com uma fileira de células axiais discerníveis na base da depressão espermatangial (Figs 298, 299). Espermatângios produzidos por tricoblastos originados da célula axial próxima à célula apical, formados em densos grupos de filamentos ramificados dicotomicamente. Dois ramos laterais são formados sobre a célula suprabasal do tricoblasto, um deles permanece estéril, o outro torna-se fértil com numerosos espermatângios (Fig. 300). Ramos férteis terminados em uma única célula vesicular estéril, com 17,5-27,5 μm x 12,5-20 μm (Fig. 301). Espermatângios com um único espermácio ovóide, com 7,5-10 μm x 2,5-5 μm com um núcleo na extremidade de cada célula.

Plantas femininas com procarpo desenvolvido a partir da célula basal do tricoblasto próximo a célula apical do râmulo. Procarpo com cinco células pericentraes, sendo que a quinta torna-se a célula suporte (Fig. 303) do ramo carpogonial com quatro células e dois grupos de células estéreis (basal e lateral) (Figs 304-306). O desenvolvimento do procarpo é semelhante ao descrito para *L. aldingensis*. Filamentos gonimoblásticos formam inúmeros carposporângios terminais, cuneiformes alongados, com 90-147,5 x 30-52,5 μm , cuja liberação dos carpóporos ocorre através de abertura apical, o ostíolo. Cistocarpos piriformes, proeminentes e dispostos ao longo do terço superior do talo até as regiões subapicais dos râmulos, com 580-750 μm de diâm., sem ostíolo proeminente (Figs 302, 307).

Ramos tetrasporangiais cilíndricos simples, com 1425-8000 x 325-550 μm (Fig. 310). No ápice dos râmulos, a terceira e a quarta células pericentraes tornam-se férteis e as duas primeiras permanecem vegetativas (Fig. 311). Cada célula pericentral fértil corta distalmente duas células pré-esporangiais de cobertura, a célula-mãe do tetrasporângio, abaxialmente, e uma célula pós-esporangial de cobertura (Figs 312, 316). A célula pós-esporangial se divide e contribui para a formação da corticação em volta do tetrasporângio. Em vista superficial do râmulo fértil, células pré-esporangiais de cobertura permanecem indivisas, sem ligações secundárias entre elas e estão alinhadas transversalmente em relação ao eixo do râmulo fértil. Os tetrasporângios são formados e deslocados da porção apical, em espiral no sentido horário, à medida que novos tetrasporângios são produzidos, conferindo um arranjo final do tipo paralelo em relação ao eixo do râmulo fértil (Fig. 313). Tetrasporângios tetraedicamente divididos, com 50-85 μm de diâm.

Habitat: Espécimes coletados no mesolitoral inferior em local exposto à forte arrebentação de ondas, associados a Corallinaceae articuladas.

Material examinado: Isótipo: *Laurencia oliveirana* Yoneshigue [*'Laurencia oliverae'*]:

BRASIL: Rio de Janeiro: Arraial do Cabo, Ponta da Cabeça, Praia Grande, planta tetraspórica, 25.viii.1983, Y. Yoneshigue YY4016H (SPF24767), 07.vii.2008, planta masculina, feminina e tetraspórica, V. Cassano & J.C. De-Paula (SP399.857), Parati, Praia de Panema, 12.v.1963, planta tetraspórica, A.B. Joly, E.C. Oliveira, M. Cordeiro-Marino, N. Yamaguishi & U. Ugadim (SPF55393), **São Paulo:** Picinguaba, Praia Brava, 20.vii.1989, M.T.Fujii & M.N. Fujii, Bertioga, entre Praia Preta e Prainha, 08.vi.1963, E.C. Oliveira, M. Cordeiro-Marino, N. Yamaguishi & U. Ugadim (SPF028230), Ubatuba, Praia de Fora, 21.vii.1963, A.B. Joly, E.C. Oliveira, M. Cordeiro-Marino, N. Yamaguishi & U. Ugadim (SPF24756), Ilha das Couves, 22.vii.1963 planta tetraspórica, A.B. Joly, E.C. Oliveira, M. Cordeiro-Marino, N. Yamaguishi & U. Ugadim (SPF24757), Praia de Bonete, 19.viii.1963, planta tetraspórica, A.B. Joly, E.C. Oliveira, M. Cordeiro-Marino, N. Yamaguishi & U. Ugadim (SPF026565), Ilha Anchieta, Praia do Sul, 18.viii.1963, A.B. Joly, E.C. Oliveira, M. Cordeiro-Marino, N. Yamaguishi & U. Ugadim (SPF24760).

Material adicional examinado: *Laurencia caraibica*: Atol das Rocas, 07.vii.2002, R. Villaça (SP399.940).

Figs 285-290. *Laurencia oliveirana* Yoneshigue. Hábito das plantas.

Figs 285-287. Hábito de plantas formando tufos intrincados.

Fig. 285. Plantas masculinas.

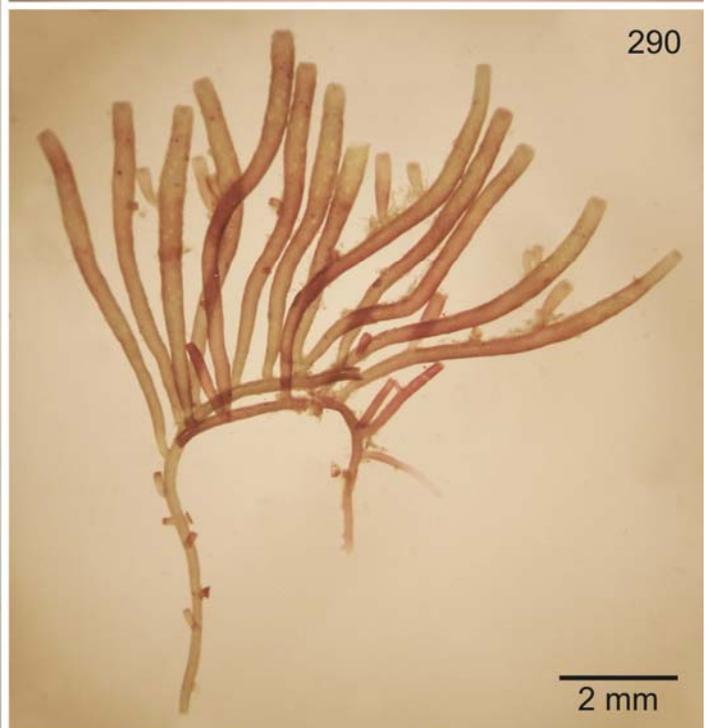
Fig. 286. Plantas femininas.

Fig. 287. Plantas tetraspóricas.

Fig. 288. Detalhe da planta feminina.

Fig. 289. Detalhe da planta masculina.

Fig. 290. Detalhe da planta tetraspórica.



Figs 291-295. *Laurencia oliveirana* Yoneshigue.

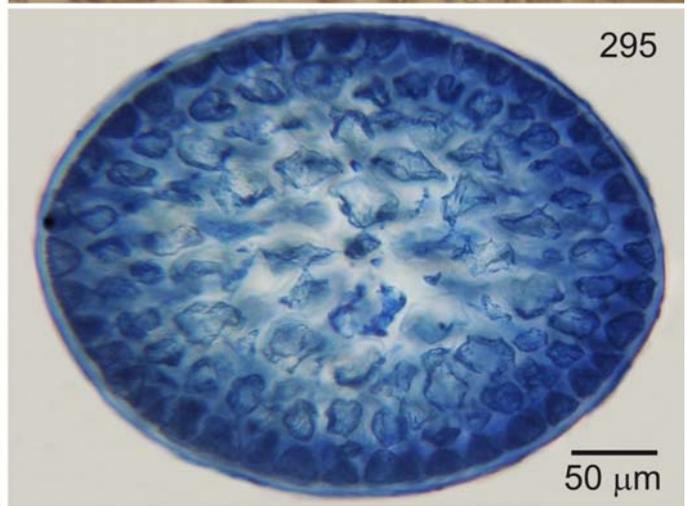
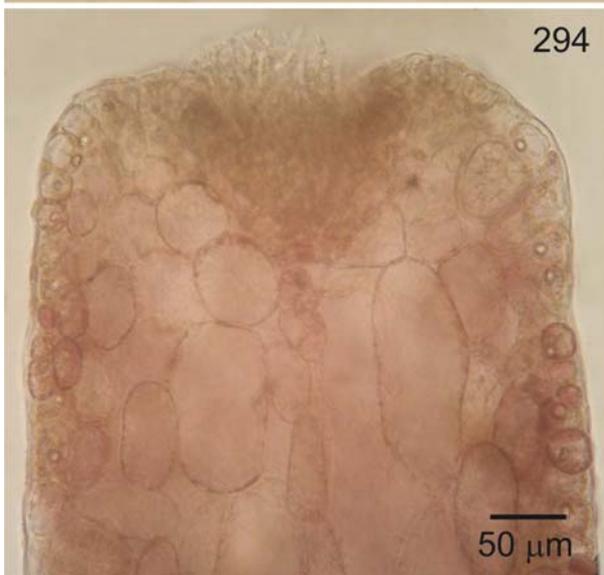
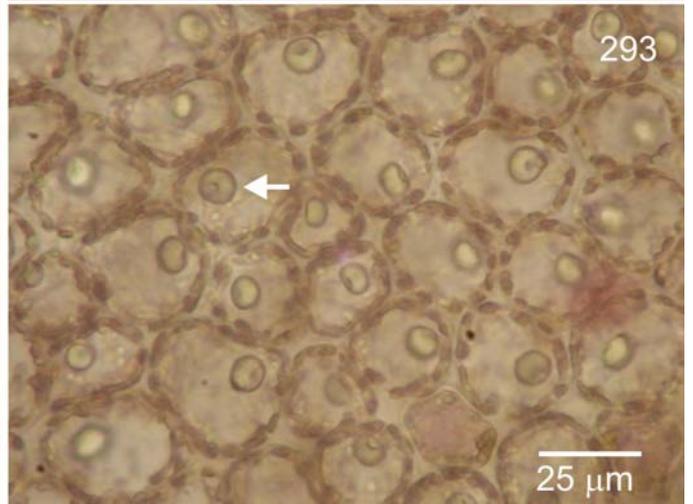
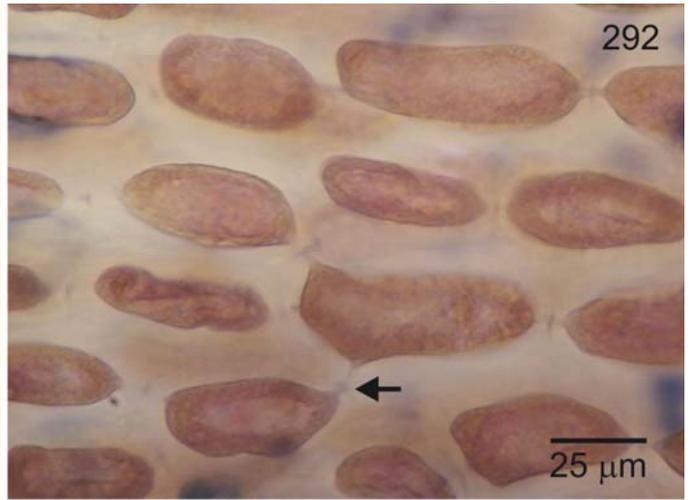
Fig. 291. Detalhe da porção basal do talo mostrando apressórios discóides (setas).

Fig. 292. Vista superficial da porção mediana do talo mostrando células corticais com ligações secundárias (seta).

Fig. 293. Vista superficial das células corticais com um *corp en cerise* por célula.

Fig. 294. Corte longitudinal de um ramo mostrando células corticais com paredes não projetadas.

Fig. 295. Corte transversal do talo mostrando duas camadas de células corticais pigmentadas e três camadas de células medulares.



Figs 296-301. *Laurencia oliveirana* Yoneshigue. Detalhe de plantas masculinas.

Fig. 296. Detalhe da região medular do talo com espessamento lenticular na parede da célula pericentral (seta).

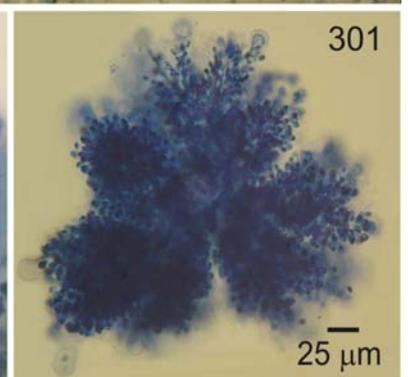
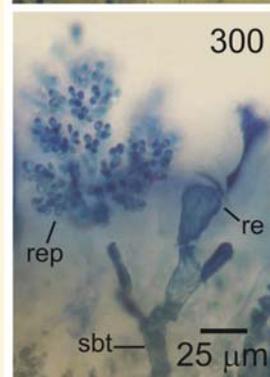
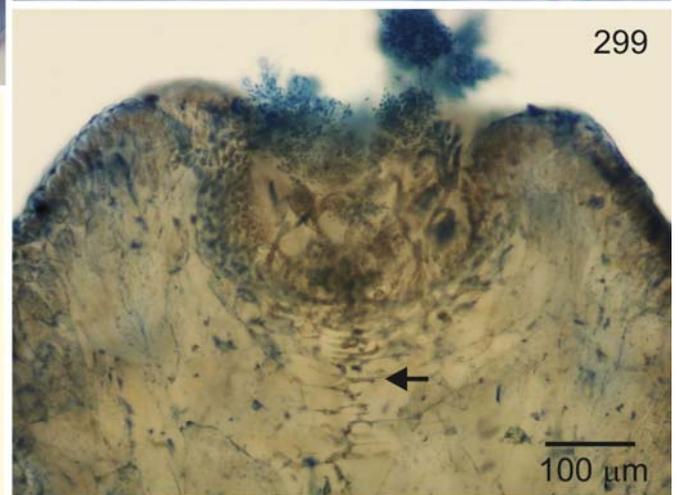
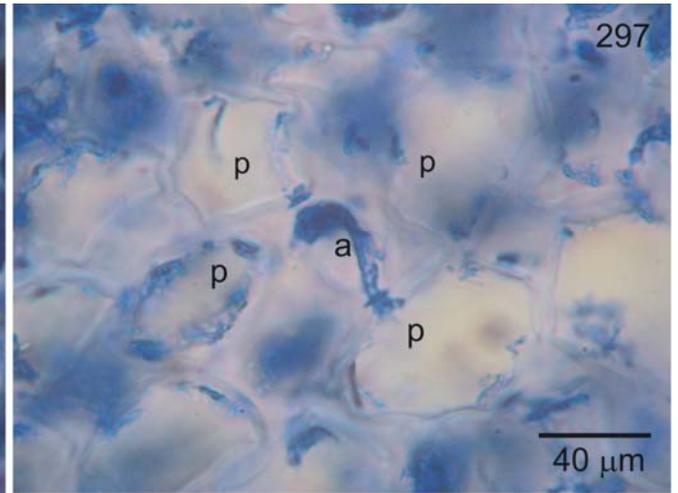
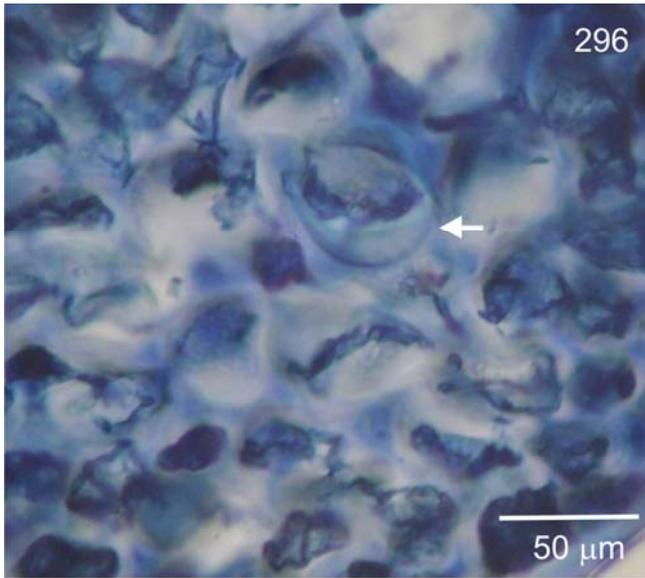
Fig. 297. Corte transversal mostrando segmento axial vegetativo com quatro células pericentrais (p) e célula axial (a).

Fig. 298. Corte longitudinal de um râmulo espermatangial mostrando depressão em forma de taça.

Fig. 299. Detalhe do râmulo espermatangial mostrando fileira de células axiais discerníveis na base da depressão espermatangial (seta).

Fig. 300. Detalhe do filamento espermatangial mostrando ramos férteis (rep) e ramos estéreis (re) originados da célula suprabasal do tricoblasto (sbt).

Fig. 301. Filamentos espermatangiais com espermatângios e células vesiculares estéreis.



Figs 302-309. *Laurencia oliveirana* Yoneshigue. Detalhe de plantas femininas.

Fig. 302. Detalhe de ramos com cistocarpos.

Figs 303-306. Sequência do desenvolvimento do procarpo.

Fig. 303. Tricoblasto feminino que sustenta o procarpo com cinco células pericentrais, sendo a quinta a célula suporte (SU) do ramo carpogonial; célula central do segmento que origina o procarpo (c); célula basal do tricoblasto (bt).

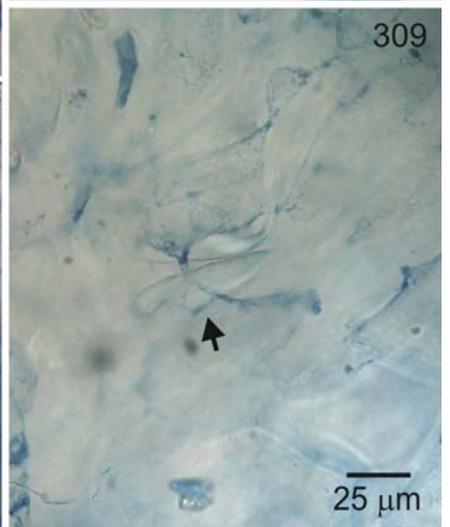
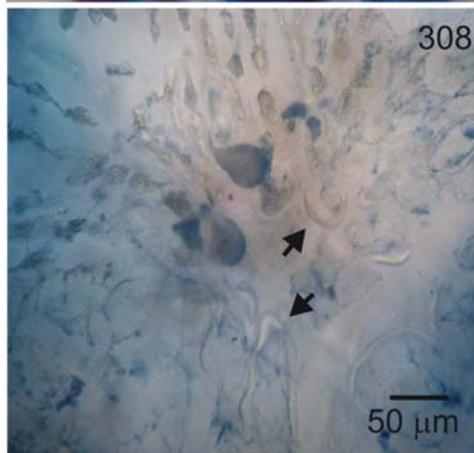
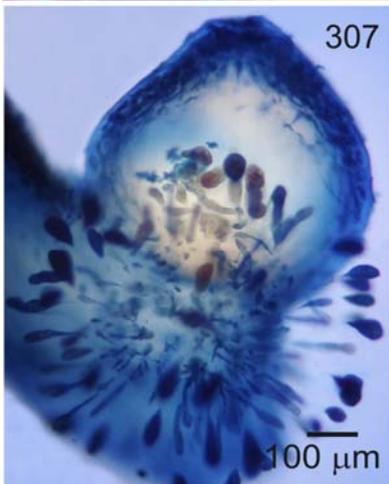
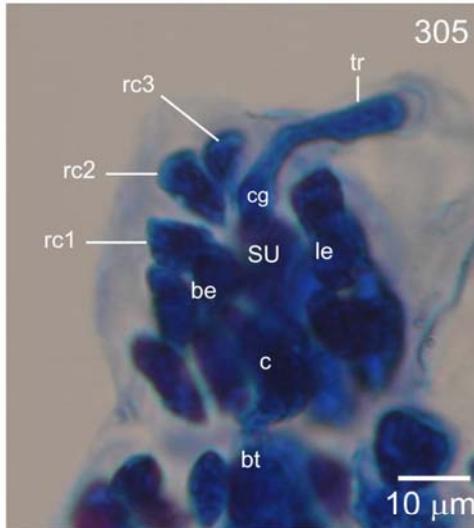
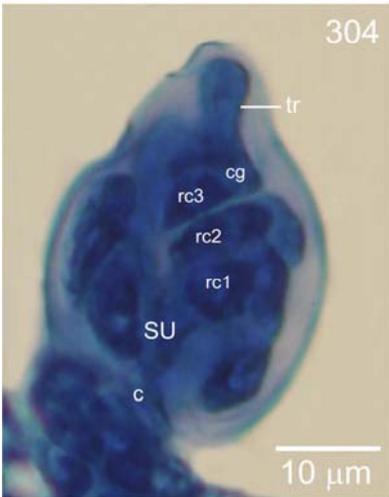
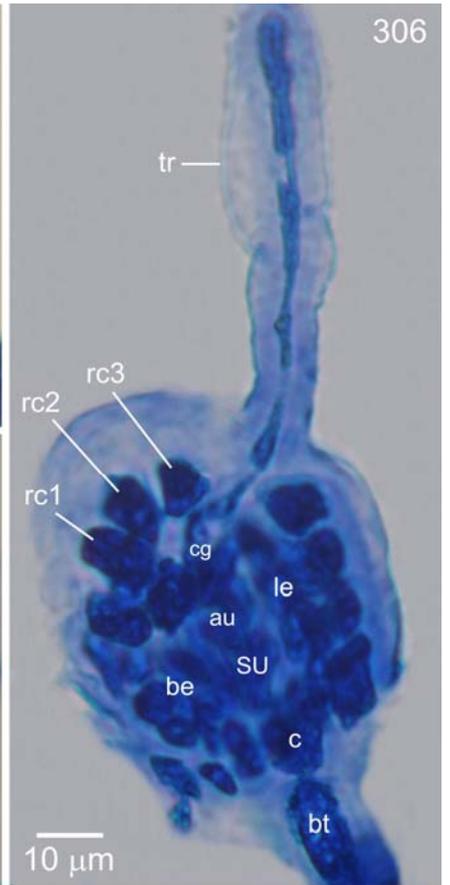
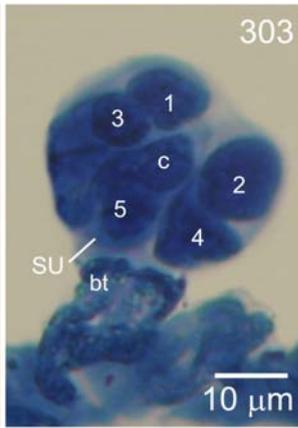
Fig. 304. Início da formação do ramo carpogonial (rc1-3), carpogônio (cg), tricogine (tr).

Fig. 305. Procarpo desenvolvido antes da fertilização com ramo carpogonial com quatro células, grupo de células basais estéreis (be) e grupo de células laterais estéreis (le).

Fig. 306. Estádio pós-fertilização mostrando célula auxiliar (au) formada a partir da célula suporte.

Fig. 307. Corte longitudinal de um râmulo feminino com cistocarpo proeminente.

Figs 308-309. Detalhe da base do cistocarpo com espessamentos lenticulares (setas).



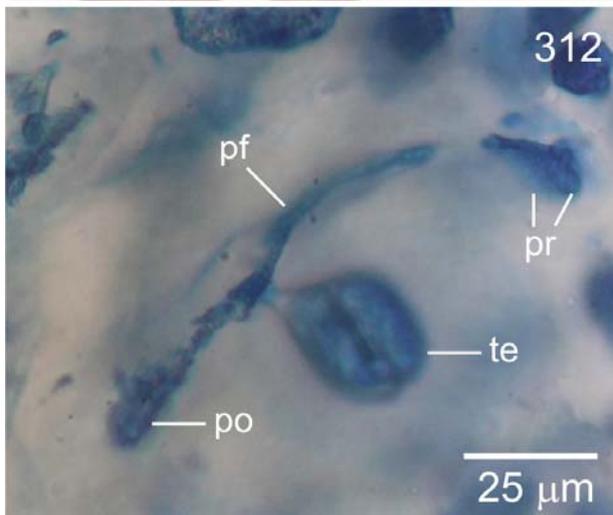
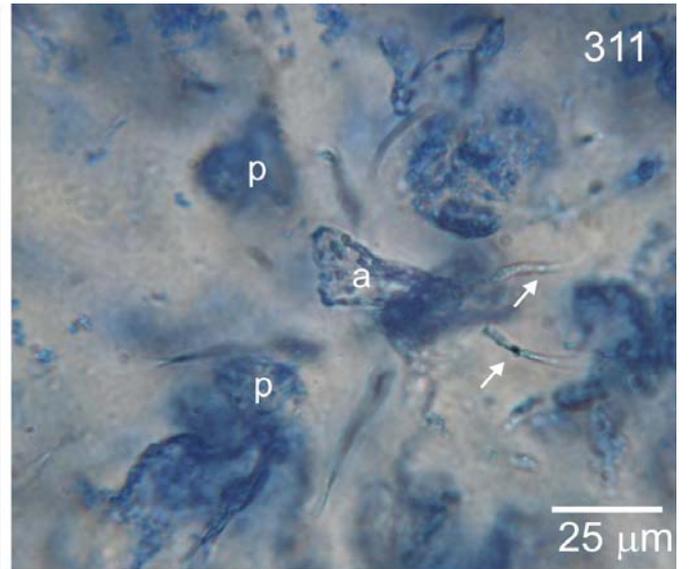
Figs 310-313. *Laurencia oliveirana* Yoneshigue. Detalhe de plantas tetraspóricas.

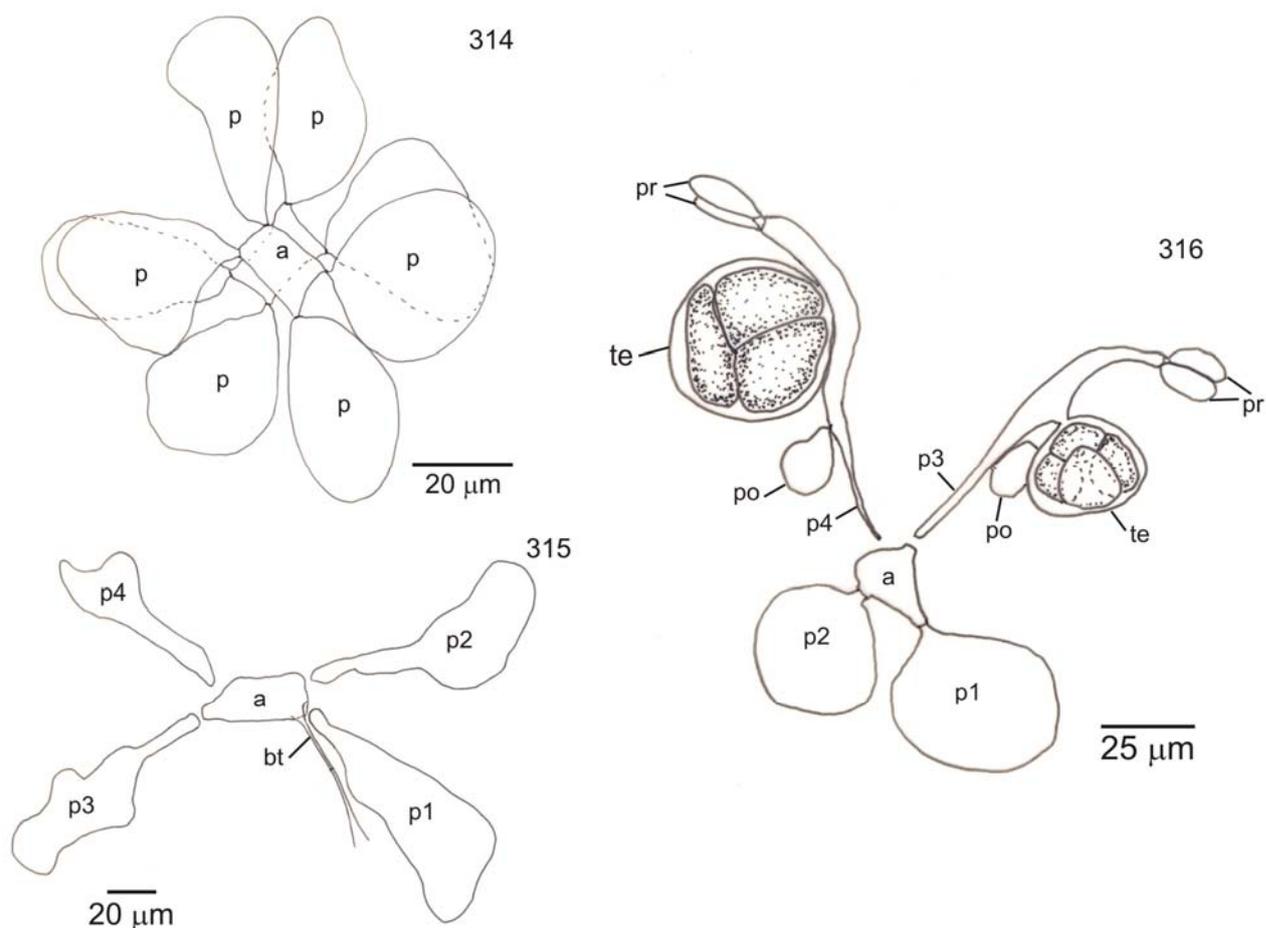
Fig. 310. Detalhe de râmulos tetrasporangiais. Note maturação dos tetrasporângios em espiral no sentido horário.

Fig. 311. Corte transversal mostrando segmento tetrasporangial com duas células pericentrais férteis (setas), células pericentrais vegetativas (p) e célula axial (a).

Fig. 312. Detalhe da célula pericentral fértil (pf) com duas células pré-esporangiais de cobertura (pr), a inicial do tetrasporângio (te) e uma célula pós-esporangial de cobertura (po).

Fig. 313. Corte longitudinal mostrando arranjo paralelo dos tetrasporângios.





Figs 314-316. *Laurencia oliveirana* Yoneshigue.

Fig. 314. Corte transversal da porção apical de um ramo mostrando dois segmentos axiais sobrepostos com quatro células pericentrais (p) e célula axial (a).

Fig. Corte transversal próximo ao ápice de um râmulo mostrando segmento axial vegetativo com célula axial (a) e células pericentrais (p1-4), com a primeira célula pericentral (p1) produzida abaixo da célula basal do tricoblasto (bt).

Fig. Representação esquemática de um corte transversal próximo ao ápice de um râmulo mostrando segmento tetrasporangial com duas células pericentrais férteis, a terceira e a quarta (p3-p4) com tetrasporângios (te), duas células pré-esporangiais de cobertura (pr) e uma pós-esporangial de cobertura (po); a primeira e a segunda pericentrais permanecem vegetativas (p1-p2).

Comentários

Laurencia oliveirana foi descrita para a região de ressurgência de Arraial do Cabo, Rio de Janeiro por Yoneshigue (1985) (Fig. 317). Fujii (1990) reportou essa espécie para o litoral norte de São Paulo, a partir de coletas realizadas no município de Ubatuba e análise de material de herbário coletado em Bertiooga e Ubatuba (SP) e Parati (RJ) por A. B. Joly e colaboradores na década de 60 (como *Laurencia* sp.). Posteriormente, *L. oliveirana* foi citada por Nunes (1998) para o litoral da Bahia e por Amado Filho *et al.* (2006) para a Laje de Santos (SP). De acordo com Fujii & Villaça (2003), *Laurencia* sp. descrita por Baptista (1977) para a flora de Torres (RS) corresponde à *L. oliveirana*.

Essa espécie é facilmente reconhecida pelo seu pequeno tamanho, hábito subereto formando almofadas intrincadas, normalmente associadas a algas coralináceas articuladas, e ramificação predominantemente unilateral pectinada. Espessamentos lenticulares, descritos como ausentes (Yoneshigue 1985, Fujii 1990, Fujii & Senties 2005), foram observados pela primeira vez nesta espécie em plantas tetraspóricas e na base do cistocarpo.

Laurencia oliveirana é morfologicamente próxima de *L. caraibica* P. C. Silva (localidade-tipo Bahamas), uma espécie também de pequenas dimensões e hábito intrincado em forma de almofada, citada para o Atol das Rocas (Oliveira Filho & Ugadim 1974, 1976, como *L. pygmaea* Weber-van Bosse, Fujii & Villaça 2003) e para o Arquipélago São Pedro e São Paulo (Edwards & Lubbock 1983). A ocorrência de *L. caraibica* para o Brasil foi confirmada por Fujii & Villaça (2003) através da análise do material tipo depositado no Herbário Nacional dos Estados Unidos (US 68437). *Laurencia pygmaea* Weber-van Bosse (1913), localidade-tipo Atol Diego Garcia, Arquipélago Chagos, Oceano Índico foi colocada em sinonímia com *L. decumbens* Kützing (1865), localidade-tipo Nova Caledônia, Oceano Pacífico por Jaasund (1970). Este posicionamento foi seguido por Wynne (2005) e Schneider & Lane (2005). O material citado como *L. pygmaea* por Oliveira Filho & Ugadim (1974, 1976) foi examinado por Fujii & Villaça (2003) (SPF 025561), que confirmaram que esse táxon corresponde à *L. caraibica*.

Laurencia caraibica foi considerada distinta de *L. oliveirana* pela presença de abundantes espessamentos lenticulares nas paredes das células medulares e anastomoses frequentes entre os ramos, ausentes em *L. oliveirana* (Fujii & Villaça 2003). A observação de espessamentos lenticulares em *L. oliveirana* refuta essa característica como distintiva entre essas duas espécies. Entretanto, análises das sequências do gene *rbcL* obtidas neste estudo confirmaram que *L. oliveirana* da localidade-tipo e *L. caraibica* do Atol das Rocas são

espécies distintas (Fig. 437, pág. 262). Morfologicamente, *L. caraibica* do Atol das Rocas (Figs 318, 319) difere de *L. oliveirana* por apresentar talos mais delicados com menor diâmetro (160-210 μm), presença de anastomoses entre os ramos e ramificação essencialmente prostrada conferindo um aspecto dorsiventral ao talo (Figs 318, 319). Apesar das duas espécies apresentarem espessamentos lenticulares, os abundantes espessamentos encontrados em *L. caraibica*, não foram observados em *L. oliveirana*. Por outro lado, os dados moleculares mostraram que o espécime sequenciado como *L. caraibica* do Caribe mexicano (Díaz-Larrea 2008) constitui uma entidade taxonômica distinta de *L. caraibica* do Brasil. Plantas mexicanas de *L. caraibica* apresentam talos mais robustos do que as descritas para o Brasil, chegando até 5 cm de altura com eixos variando entre 0,8 e 1 mm de diâmetro, ramos comprimidos e ramificação dicotômica abaixo e irregular acima, com até 3 ordens de ramos (Sentís & Fujii 2002). Uma revisão morfológica comparativa mais detalhada entre *L. caraibica* do Brasil e do Caribe e espécies relacionadas é necessária para esclarecer o posicionamento taxonômico desses táxons.

Neste estudo, *L. oliveirana* foi encontrada somente na localidade-tipo (Arraial do Cabo), em uma única época do ano. Detalhes morfológicos das plantas tetraspóricas, como número de células pericentrais férteis por segmento tetrasporangial, detalhes do desenvolvimento do procarpo e plantas masculinas são descritos pela primeira vez para essa espécie.



Fig. 317. *Laurencia oliveirana* Yoneshigue. Isótipo (SPF24767).

Figs 318-319. *Laurencia caribica* (SP399.940).

Fig. 318. Hábito do talo.

Fig. 319. Detalhe de um ramo.

3.1.3.6. *Laurencia translucida* M.T. Fujii et Cordeiro-Marino, Phycologia, 1996: 542-549, figs 1-25.

Holótipo: Instituto de Botânica de São Paulo (SP 255339).

Localidade tipo: Espírito Santo, Brasil.

Nome mal aplicado para o Brasil: *Laurencia composita* (?) (Oliveira-Filho 1969: 176-177, *pro parte*).

Figs 320-349.

Distribuição: Brasil: São Paulo (Fujii 1990, como *Laurencia* sp.1, Fujii & Cordeiro-Marino 1996, Fujii 1998, Fujii & Senties 2005), **Rio de Janeiro** (Fujii 1998, Fujii & Senties 2005), **Espírito Santo** (Oliveira Filho 1969, como *Laurencia composita pro parte*, Fujii & Cordeiro-Marino 1996, Fujii 1998, Fujii & Senties 2005), **Bahia** (Fujii 1998, Nunes 1998, Fujii & Senties 2005), **Pernambuco** (Fujii 1998, Pereira *et al.* 2002), **Ceará** (Fujii & Cordeiro-Marino 1996).

Plantas eretas formando tufos densos com coloração vermelho-vinácea, com até 10 cm de altura (Figs 320-322). Talos de consistência carnosa flácida, aderindo bem ao papel de herbário quando secos. Eixos principais fixos ao substrato por um apressório discóide ou pela agregação de pequenos apressórios e ramos estoloníferos. Eixos principais com 940-1280 μm de diâmetro na porção mediana do talo. Eixos cilíndricos com porções apicais levemente achatadas. Ramificação densa, especialmente no terço superior do talo, alterna-espiralada, a irregular com 2 a 3 (4) ordens de ramos. Râmulos de última ordem cilíndricos a levemente achatados com ápice truncado, simples a raramente compostos, com 1400-3070 x 640-880 μm . Ramos de primeira ordem atingindo até 6 cm de comprimento, com ramos de segunda e terceira ordens simples ou compostos.

Em vista superficial, células corticais externas translúcidas, pequenas, poligonais isodiamétricas, sem ligações secundárias entre si, com 37,5-67,5 x 22,5-42,5 μm (Fig. 323). Células corticais internas, pigmentadas, maiores, alongadas longitudinalmente nas porções medianas do talo (Fig. 324) a arredondadas nas porções apicais (Fig. 325), conectadas entre si por ligações secundárias, com (52,5) 65-155 (175) x 22,5-55 μm . *Corps en cerise* ausentes. Em corte longitudinal, células corticais não projetadas além da superfície do talo (Fig. 326). Em corte transversal, talo com duas camadas de células corticais e quatro a cinco camadas de células medulares (Fig. 327). Camada cortical externa pouco pigmentada, translúcida formada por células pequenas, quadráticas a triangulares, com 20-40 x 22,5-37,5 μm ; camada cortical

interna pigmentada formada por células maiores, quadráticas a retangulares, com 40-77,5 x 35-75 μm (Fig. 328). Células medulares hialinas, arredondadas, diminuindo gradativamente de tamanho em direção ao centro do talo, com 47,5-95 x 30-72,5 μm (Fig. 327). Cada segmento axial vegetativo origina duas células pericentrais ligeiramente menores que as demais células medulares (Figs 329, 347). No ápice dos ramos, a primeira célula pericentral é produzida ao lado da célula basal do tricoblasto (Figs 330, 348). Espessamentos lenticulares ausentes.

Plantas masculinas com râmulos férteis caracteristicamente mais intumescidos que os demais, com 1350-5000 x 720-1500 μm . Ramos férteis de crescimento contínuo, simples ou produzindo subapicalmente 2 a 3 ou mais râmulos férteis ao redor da depressão espermatangial (Figs 331, 332). Em corte longitudinal, depressão espermatangial em forma de taça, com uma fileira de células axiais discerníveis na base da depressão espermatangial (Fig. 333). Espermatângios produzidos por tricoblastos originados da célula axial próxima à célula apical, formados em densos grupos de filamentos ramificados dicotomicamente. Dois ramos laterais são formados sobre a célula suprabasal do tricoblasto, um deles permanece estéril, o outro torna-se fértil com numerosos espermatângios. Ramos férteis terminados em uma única célula vesicular estéril, com 27,5-32,5 x 22,5 μm (Fig. 334). Espermatângios com um único espermácio ovóide, com 10-15 x 5-7,5 μm , com um núcleo na extremidade de cada célula (Fig. 334).

Plantas femininas (Figs 335, 336) com procarpo desenvolvido a partir da célula basal do tricoblasto próximo a célula apical do râmulo. Procarpo com cinco células pericentrais, sendo que a quinta torna-se a célula suporte (Fig. 337) do ramo carpogonial com quatro células e dois grupos de células estéreis (basal e lateral) (Figs 338, 339). Desenvolvimento do procarpo é semelhante ao descrito para *L. aldingensis*. Filamentos gonimoblásticos formam inúmeros carposporângios terminais, cuneiformes alongados, com 82,5-195 x 35-75 μm , cuja liberação dos carpóporos ocorre através de abertura apical, o ostíolo. Cistocarpos piriformes, parcialmente imersos no talo e dispostos subapicalmente nos râmulos (Fig. 336), com 780-1070 μm de diâm., com ostíolo proeminente (Fig. 336, 340).

Ramos tetrasporangiais cilíndricos, simples ou compostos, com (960) 1600-3800 (7000) x 450-850 μm (Fig. 341). No ápice dos râmulos são formadas duas células pericentrais adicionais que se tornam férteis, as duas pré-existentes permanecem vegetativas (Fig. 342). Cada célula pericentral adicional fértil corta distalmente duas células pré-esporangiais de cobertura, a célula-mãe do tetrasporângio, abaxialmente, e uma célula pós-esporangial de cobertura (Figs 343, 344, 349). A célula pós-esporangial se divide e contribui para a formação

da corticação em volta do tetrasporângio. As células pré-esporangiais de cobertura permanecem indivisas e sem ligações secundárias entre elas. Em vista superficial do râmulo fértil, células pré-esporangiais estão alinhadas transversalmente em relação ao eixo do râmulo fértil. Os tetrasporângios são formados e deslocados da porção apical, no sentido anti-horário (Fig. 346) à medida que novos tetrasporângios são produzidos, conferindo um arranjo final do tipo paralelo em relação ao eixo do râmulo fértil (Figs 345, 346). Tetrasporângios tetraedicamente divididos, com 52,5-145 µm de diâm.

Habitat: Plantas epífitas ou mais raramente epilíticas, crescendo no mesolitoral inferior em locais calmos a moderadamente expostos à ação das ondas. Foram também comumente encontradas arribadas.

Material examinado: BRASIL: Rio de Janeiro: Armação dos Búzios, Praia Rasa, 05.iv.2002, planta tetraspórica, *V. Cassano* (SP399.852), 13.i.2005, planta masculina, feminina e tetraspórica, *V. Cassano & J.C. De-Paula* (SP365.435), Praia de Manguinhos, 21.vii.2005, planta masculina, feminina e tetraspórica, *V. Cassano & J.C. De-Paula* (SP365.853), **Espírito Santo:** Barra do Itapemirim, Praia do Iate, 11.x.2007, planta feminina e tetraspórica, *E. Stein* (SP400.114); Anchieta, Ilhote de Ubu, 10.vii.2007, planta masculina, *M.T. Fujii & E. Stein* (SP400.115); **como *Laurencia composita* (?):** Ponta da Fruta, 19.viii.1978, *E.C. Oliveira et al.* (SPF026503).

Comentários

Laurencia translucida foi descrita originalmente para o Brasil a partir de material coletado no Espírito Santo (Fujii & Cordeiro-Marino 1996) e é prontamente reconhecida por suas células corticais externas translúcidas, característica única dessa espécie dentre as demais do complexo *Laurencia* citadas para o Brasil. Quando viva, a espécie exala um odor adocicado característico que também auxilia na sua identificação (Fujii & Cordeiro-Marino 1996). De acordo com Fujii & Cordeiro-Marino (1996), o padrão de desenvolvimento dos tetrasporângios em *L. translucida* é exclusivo desta espécie. Na produção dos tetrasporângios, a célula apical corta as células axiais em quatro faces, em sequência sucessiva, resultando em um segmento axial arranjado em espiral 2/8 no sentido anti-horário. Em consequência, os tetrasporângios se dispõem em fileiras paralelas perfeitas em vista superficial do talo. Os ramos espermatangiais também conferem um aspecto muito característico às plantas

masculinas desta espécie pelo seu crescimento contínuo, comumente produzindo dois ou mais râmulos férteis subapicais ao redor da depressão espermatangial.

A presença de células corticais translúcidas é compartilhada com espécies dos outros três gêneros que compõem o complexo *Laurencia*, como: *Osmundea pinnatifida* (Hudson) Stackhouse [Maggs & Hommersand 1993, como *Laurencia pinnatifida* (Hudson) J.V. Lamouroux, Furnari *et al.* 2001], *Chondrophyucus carolinensis* (Saito) K.W. Nam (Price & Scott 1992, como *Laurencia carolinensis* Saito) e *Palisada patentiramea* (Montagne) Cassano, Senties, Gil-Rodríguez *et al.* M.T. Fujii (Cassano *et al.* 2009) [Calumpong 1989, como *Laurencia patentiramea* (Montagne) Kützing]. Embora células corticais translúcidas tenham sido reportadas para *P. patentiramea* por Calumpong (1989), esta característica não foi mencionada por Boisset *et al.* (2000) e Furnari *et al.* (2001) para esta espécie coletada no Mar Mediterrâneo. Apesar de presente em representantes dos quatro gêneros do complexo *Laurencia*, as células corticais translúcidas são de reconhecido valor diagnóstico para separação de espécies (Fujii & Cordeiro-Marino 1996, Fujii 1998, Garbary & Harper 1998).

O posicionamento taxonômico de *Laurencia translucida* baseado apenas em caracteres morfológicos sempre foi problemático devido à espécie apresentar uma combinação de características comuns aos gêneros *Laurencia* e *Chondrophyucus*. A espécie possui talo com consistência carnosa, procarpo com cinco células pericentrais e arranjo paralelo dos tetrasporângios, características de *Laurencia*, mas compartilha com *Chondrophyucus* a ausência de *corps en cerise* e de ligações secundárias entre as células corticais externas, a produção de duas células pericentrais por segmento axial vegetativo e a produção de células pericentrais adicionais férteis no segmento tetrasporangial, sendo a segunda pericentral sempre estéril. A produção da primeira célula pericentral ao lado da célula basal do tricoblasto, descrita aqui pela primeira vez para esta espécie, é característica também atribuída ao gênero *Chondrophyucus*, conforme estabelecido por Nam (2006). Na análise cladística com base em caracteres morfológicos, realizada por Garbary & Harper (1998), *L. translucida* não se agrupou com *Laurencia* e se manteve como um ramo isolado das demais espécies de *Chondrophyucus* e *Osmundea*. Contudo, pela presença de duas células pericentrais no segmento axial vegetativo e pelo desenvolvimento espermatangial do tipo tricoblasto (esta última característica compartilhada com *Laurencia*), os autores transferiram *L. translucida* para o gênero *Chondrophyucus*, propondo a nova combinação *Chondrophyucus translucidus* [*'translucida'*] (Fujii *et al.* Cordeiro-Marino) Garbary *et al.* J.T. Harper. Devido às características morfológicas peculiares apresentadas pela espécie e seu posicionamento filogenético, Garbary & Harper (1998) destacaram que *L. translucida* mereceria um *status* subgenérico ou seccional

dentro do gênero *Chondrophyucus*. No delineamento subgenérico proposto por Nam (1999) para o gênero *Chondrophyucus*, a espécie foi incluída no subgênero *Kangjaewonia* pela ausência de ligações secundárias entre as células corticais, presença de duas células estéreis no segmento tetrasporangial e arranjo paralelo dos tetrasporângios. Posteriormente, as análises filogenéticas com base em sequências do gene *rbcL* realizadas por Fujii *et al.* (2006) mostraram que *L. translucida* possui clara afinidade com as demais espécies do gênero e que, portanto, deveria retornar ao gênero *Laurencia* como originalmente proposta. O mesmo resultado foi obtido por Díaz-Larrea (2008), assim como no presente estudo (Fig. 437, pág. 262).

A análise do material depositado no herbário da USP, designado como *Laurencia composita* (?) (SPF026503) revelou que esse espécime corresponde à *Laurencia translucida* pela presença de células corticais externas translúcidas, característica da espécie.

Pelas características morfológicas apresentadas por *L. translucida* não é possível acomodá-la nas seções *Laurencia* ou *Forsterianae* de Yamada (1931). Uma nova seção dentro do gênero *Laurencia* deveria ser criada para acomodar essa espécie. No entanto, além de ser questionável a separação de seções com base na presença ou ausência de espessamentos lenticulares (Saito & Womersley 1974, Masuda *et al.* 1998a, Nam 1999), como é o caso das duas seções mencionadas acima, essa característica não apresentou significado filogenético que justifique a manutenção de seções no gênero *Laurencia*. Uma revisão crítica deste sistema de classificação deve ser feita para o gênero.

No Rio de Janeiro, *Laurencia translucida* tem sua distribuição restrita ao norte do estado, ocorrendo apenas em duas localidades no município de Búzios: Praia Rasa e Praia de Manguinhos. Pouco exemplares foram coletados no início do desenvolvimento deste estudo e não foram mais encontrados em coletas posteriores. A tentativa de sequenciamento de amostras desta espécie a partir de material do Rio de Janeiro falhou, tanto para o *rbcL* quanto para o *cox1*, devido à dificuldade de amplificação do DNA.

Figs 320-326. *Laurencia translucida* M.T. Fujii *et* Cordeiro-Marino. Hábito das plantas.

Fig. 320. Planta masculina.

Fig. 321. Planta feminina.

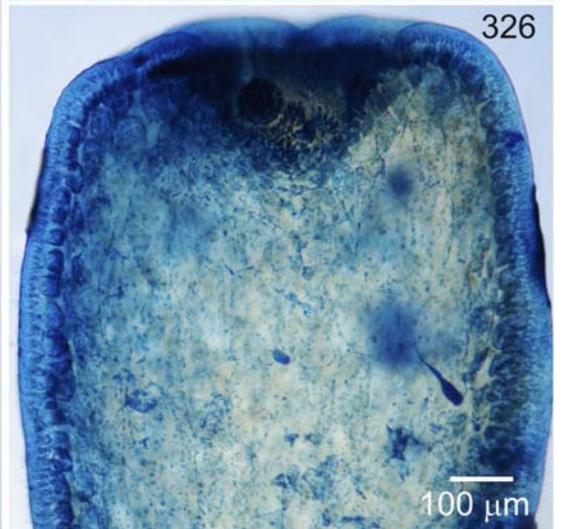
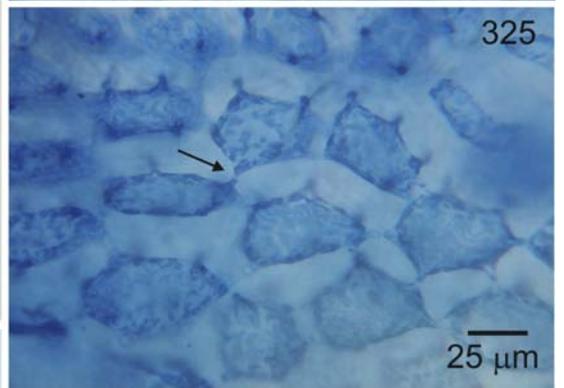
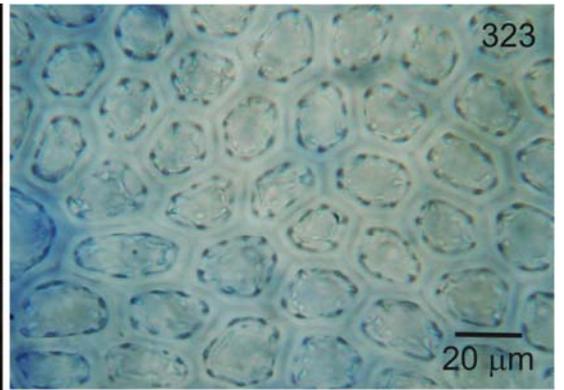
Fig. 322. Planta tetraspórica.

Fig. 323. Vista superficial das células corticais externas translúcidas.

Fig. 324. Vista superficial da porção mediana do talo com células corticais internas alongadas, com ligações secundárias (seta).

Fig. 325. Vista superficial da porção apical do talo com células corticais internas arredondadas, com ligações secundárias (seta).

Fig. 326. Corte longitudinal de um ramo mostrando células corticais com paredes não projetadas. Note a camada cortical externa translúcida.



Figs 327-332. *Laurencia translucida* M.T. Fujii *et* Cordeiro-Marino.

Fig. 327. Corte transversal com duas camadas de células corticais: a externa translúcida e a interna pigmentada e cinco camadas de células medulares.

Fig. 328. Detalhe das duas camadas de células corticais.

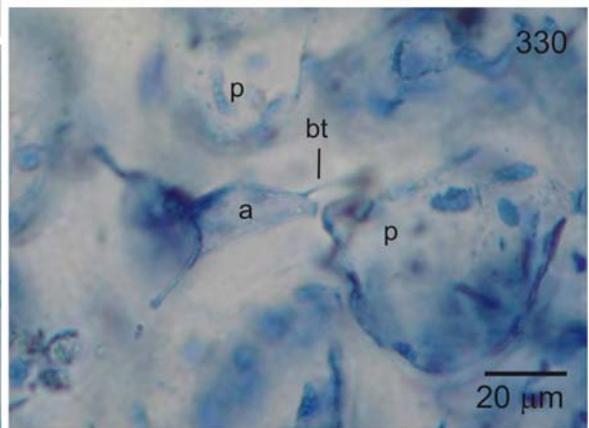
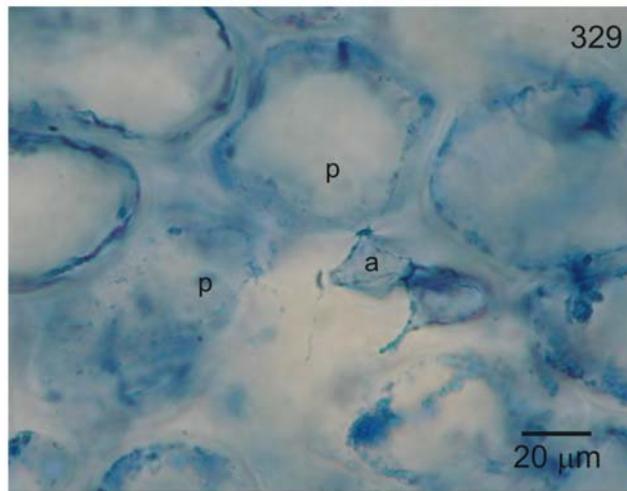
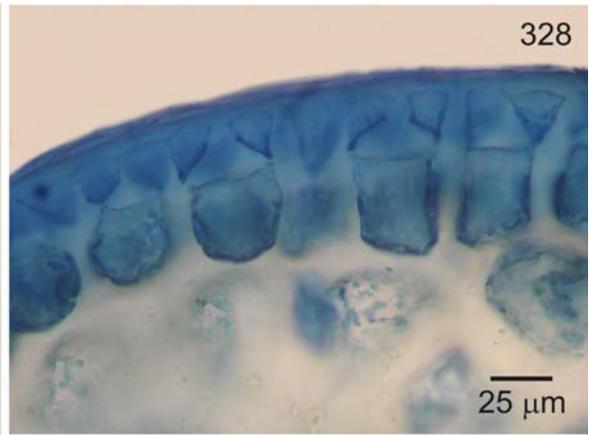
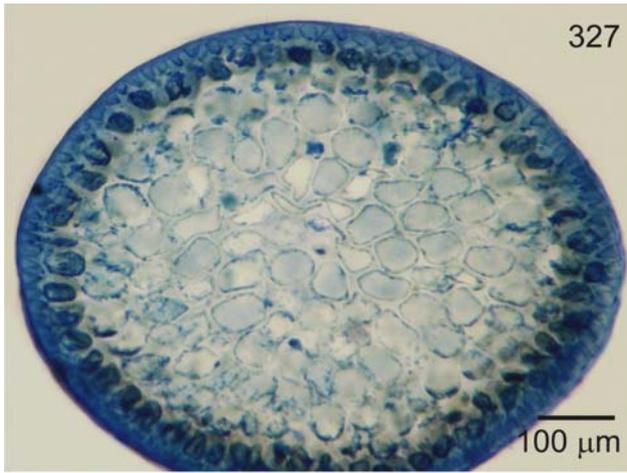
Fig. 329. Corte transversal mostrando segmento axial vegetativo com duas células pericentraes (p) e célula axial (a).

Fig. 330. Corte transversal próximo ao ápice de um râmulo mostrando segmento axial vegetativo com a primeira célula pericentral (p1) produzida ao lado da célula basal do tricoblasto (bt), segunda célula pericentral (p2), célula axial (a).

Figs. 331-332. Detalhe das plantas masculinas.

Fig. 331. Porção apical do talo com râmulos espermatangiais.

Fig. 332. Detalhe dos râmulos espermatangiais produzidos subapicalmente em grupos de 2 ou mais râmulos férteis ao redor da depressão espermatangial.



Figs 333-336. *Laurencia translucida* M.T. Fujii *et* Cordeiro-Marino.

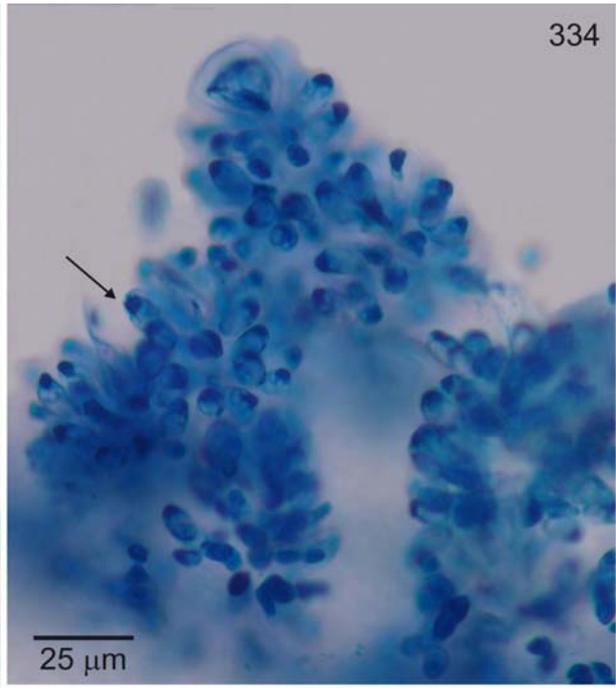
Fig. 333. Corte longitudinal de um râmulo espermatangial mostrando depressão em forma de taça e fileira de células axiais discerníveis na base da depressão espermatangial (seta).

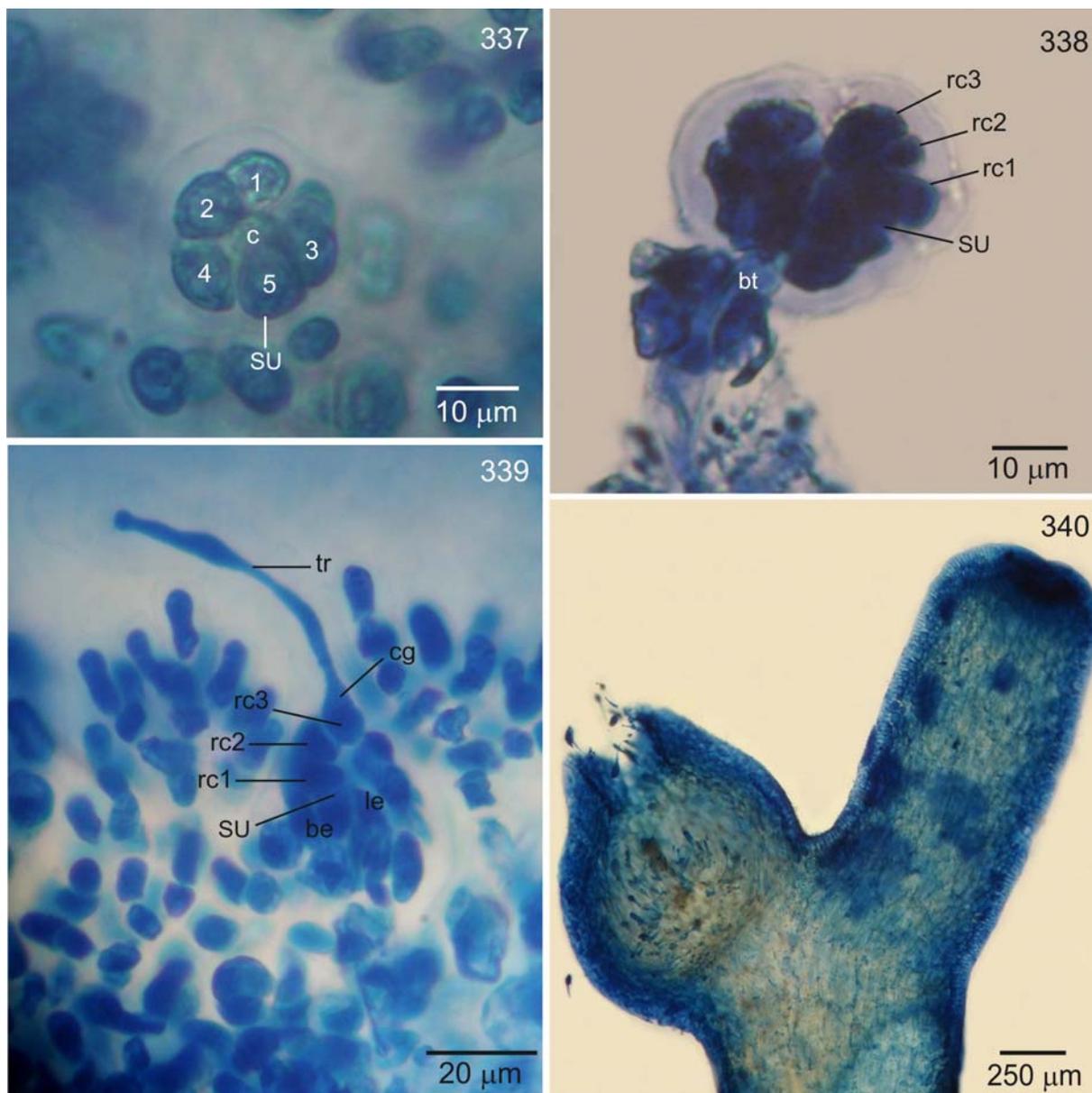
Fig. 334. Detalhe dos espermatângios com espermácios portando um núcleo na extremidade da célula (seta) e células vesiculares estéreis.

Figs 335-336. Detalhe das plantas femininas.

Fig. 335. Porção apical do talo mostrando ramos com cistocarpos.

Fig. 336. Detalhe de ramos com cistocarpos.





Figs 337-340. *Laurencia translucida* M.T. Fujii et Cordeiro-Marino.

Figs 337-339. Sequência do desenvolvimento do procarpo.

Fig. 337. Segmento que origina o procarpo com cinco células pericentrais, sendo a quinta a célula suporte (SU) do ramo carpogonial; célula central do segmento que origina o procarpo (c).

Fig. 338. Início do desenvolvimento do ramo carpogonial (rc1-3); célula basal do tricoblasto (bt).

Fig. 339. Procarpo antes da fertilização com ramo carpogonial com quatro células (rc1-3 e carpogônio, cg); tricogine (tr), grupo de células laterais estéreis (le); grupo de células basais estéreis (be).

Fig. 340. Corte longitudinal de um râmulo feminino com cistocarpo.

Figs 341-346. *Laurencia translucida* M.T. Fujii *et* Cordeiro-Marino. Detalhe das plantas tetraspóricas.

Fig. 341. Porção apical do talo com râmulos tetrasporangiais.

Fig. 342. Corte transversal mostrando segmento tetrasporangial com duas células pericentrais adicionais férteis (setas), células pericentrais vegetativas (p) e célula axial (a).

Fig. 343. Detalhe da célula pericentral fértil (pf) com duas células pré-esporangiais de cobertura (pr), a inicial do tetrasporângio (te) e uma célula pós-esporangial de cobertura (po).

Fig. 344. Corte longitudinal de um râmulo tetrasporangial mostrando origem abaxial dos tetrasporângios a partir das células pericentrais (pf); célula axial (seta).

Fig. 345. Corte longitudinal mostrando arranjo paralelo dos tetrasporângios.

Fig. 346. Vista superficial de um râmulo fértil com tetrasporângios dispostos em fileitas exatamente paralelas.

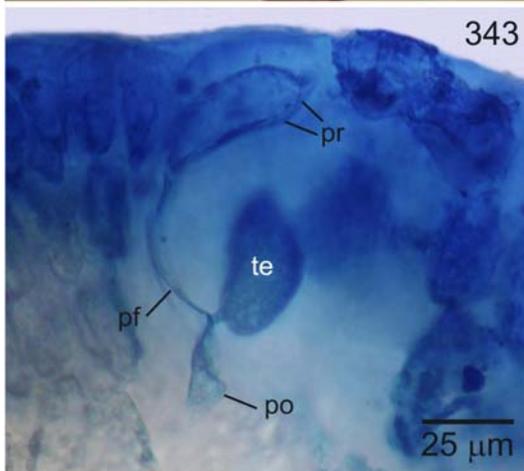
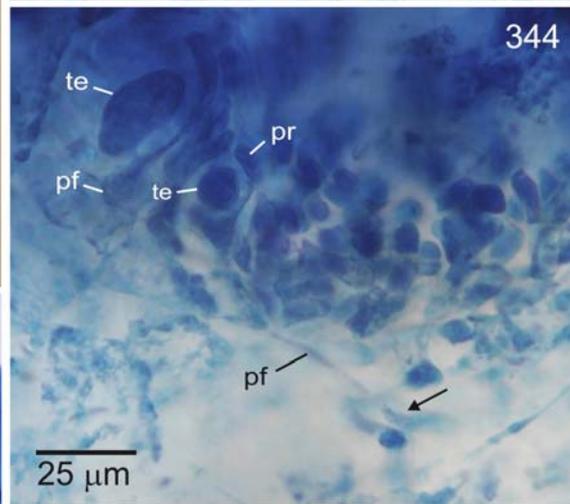
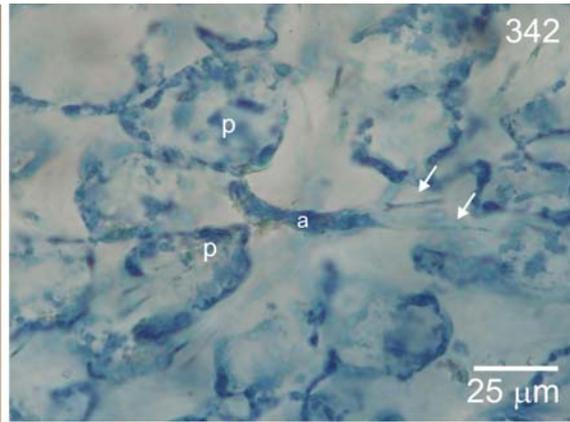
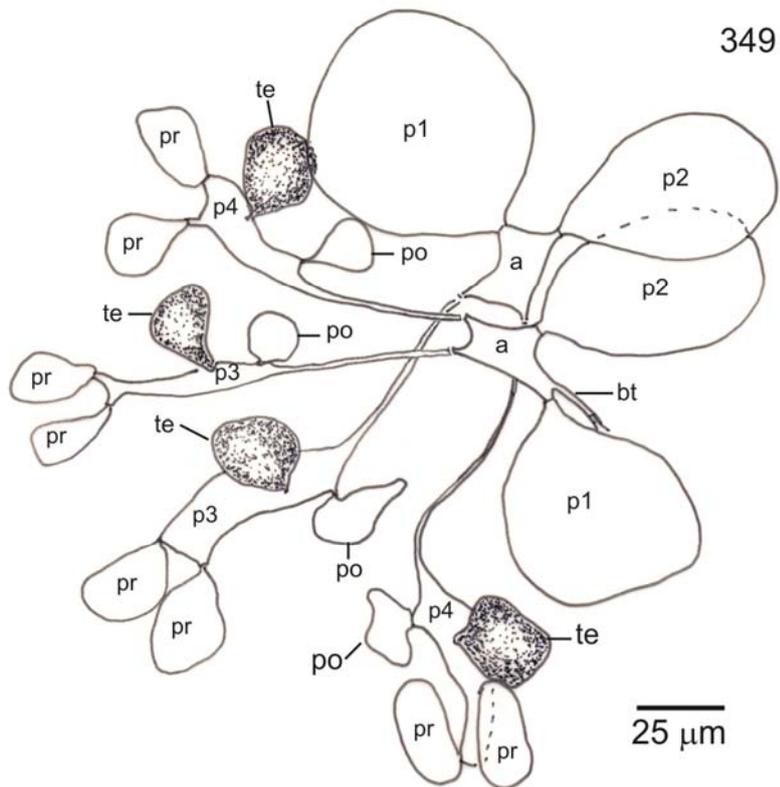
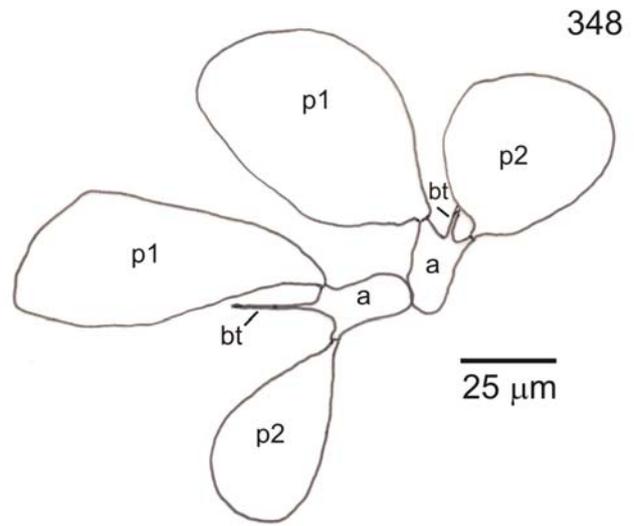
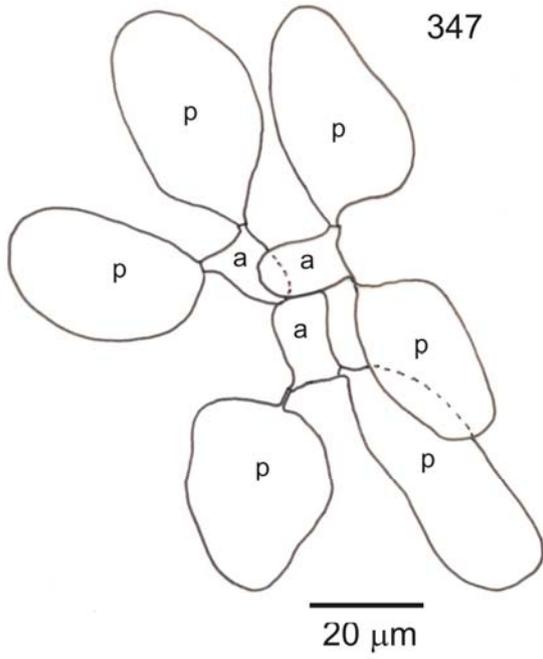


Fig. 347. Corte transversal da porção apical de um ramo mostrando três segmentos axiais com duas células pericentraes (p) e célula axial (a).

Fig. 348. Corte transversal próximo ao ápice de um râmulo mostrando dois segmentos axiais vegetativos com célula axial (a) e células pericentraes (p1-p2), com a primeira célula pericentral (p1) produzida ao lado da célula basal do tricoblasto (bt).

Fig. 349. Representação esquemática de um corte transversal próximo ao ápice de um râmulo mostrando dois segmentos axiais tetrasporangiais sobrepostos com duas células pericentraes férteis adicionais, a terceira e a quarta (p3-p4), a primeira e a segunda pericentraes permanecem vegetativas (p1-p2), base do tricoblasto (bt), tetrasporângios (te), duas células pré-esporangiais de cobertura (pr) e uma pós-esporangial de cobertura (po).



3.1.3.7. *Laurencia* sp.1

Figs 350-377.

Plantas eretas formando tufo densos com coloração marrom-vinácea a marrom-esverdeada, com até 12 cm de altura (Figs 350-353). Talos de consistência cartilaginosa flácida, aderindo bem ao papel de herbário quando secos. Eixos principais fixos ao substrato por apressório discóide e ramos laterais basais descendentes, fixos secundariamente por apressórios terminais (Fig. 354). Eixos principais estreitos com 560-820 μm de diâmetro na porção mediana do talo. Eixos cilíndricos com ramificação esparsa, alterna-espiralada a irregular, ou oposta a suboposta com até 4 (5) ordens de ramos. Ramos de primeira ordem com até 7,5 cm de comprimento com o mesmo padrão de ramificação do eixo principal. Râmulos de última ordem cilíndricos com ápice truncado a afilados em direção ao ápice, simples ou raramente compostos, com (890) 1000-3300 (4200) x 320-560 μm .

Em vista superficial, células corticais regularmente arranjadas em fileiras longitudinais e conectadas umas às outras por ligações secundárias orientadas longitudinalmente (Fig. 355), com 1-2 (3) *corps en cerise* por célula (Fig. 356), um por célula do tricoblasto. Células corticais poligonais arredondadas nas porções basais e apicais do talo, poligonais ligeiramente alongadas nas porções medianas, com 40-95 x 25-55 μm . Em corte longitudinal mediano do talo, células corticais não projetadas além da superfície do talo (Fig. 357). Em corte transversal, talo com uma a duas camadas de células corticais pigmentadas e quatro a cinco camadas de células medulares hialinas (Fig. 358). Células corticais quadráticas, cuneiformes a retangulares, não arranjadas como paliçada, com 25-52,5 x 25-45 μm na porção mediana do talo. Células medulares arredondadas a ligeiramente alongadas radialmente, aumentando gradativamente de tamanho em direção ao centro do talo, com 60-137,5 x 45-100 μm . Cada segmento axial vegetativo produz quatro células pericentraes ligeiramente maiores que as demais células circunvizinhas (Figs 360, 377). Espessamentos lenticulares abundantes nas paredes das células medulares e na base do cistocarpo (Figs 358-360, 371). No ápice dos ramos, a primeira célula pericentral é produzida abaixo da célula basal do tricoblasto (Fig. 378).

Plantas masculinas com râmulos férteis de crescimento contínuo, cilíndricos a claviformes, caracteristicamente mais intumescidos que os demais, simples ou raramente compostos com (800-) 1600-4600 x 680-970 μm (Figs 361, 362). Em corte longitudinal, depressão espermatangial em forma de taça, com uma fileira de células axiais discerníveis na base da depressão espermatangial (Fig. 363). Espermatângios produzidos por tricoblastos

originados da célula axial próxima à célula apical, formados em densos grupos de filamentos ramificados dicotomicamente. Dois ramos laterais são formados sobre a célula suprabasal do tricoblasto, um deles permanece estéril, o outro torna-se fértil com numerosos espermatângios (Fig. 364). Ramos férteis terminados em uma única célula vesicular estéril, com 25-27,5 x 15-20 μm ; espermatângios com um único espermácio ovóide, com 7,5-12,5 x 5 μm , com um núcleo na extremidade de cada célula (Fig. 365).

Plantas femininas com procarpo desenvolvido a partir da célula basal do tricoblasto próximo à célula apical do râmulo. Procarpo com cinco células pericentrais, sendo que a quinta torna-se a célula suporte (Figs 367, 368) do ramo carpogonial com quatro células e dois grupos de células estéreis (basal e lateral) (Fig. 369). Desenvolvimento do procarpo é semelhante ao descrito para *L. aldingensis*. Filamentos gonimoblásticos formam inúmeros carposporângios terminais, cuneiformes alongados, com 150-250 x 32,5-70 μm , cuja liberação dos carpóporos ocorre através de abertura apical, o ostíolo. Cistocarpos piriformes, proeminentes no talo e dispostos subapicalmente nos râmulos, com 620-960 μm de diâm., sem ostíolo proeminente (Fig 366, 370).

Ramos tetrasporangiais cilíndricos, longos, sinuosos, com ápices afilados, simples ou raramente compostos, com (1900) 2600-5920 (8960) x 300-560 μm (Fig. 372). No ápice dos râmulos, duas células pericentrais tornam-se fértil, a terceira e a quarta e as demais pericentrais permanecem vegetativas (Fig. 373). Cada célula pericentral fértil corta distalmente duas células pré-esporangiais de cobertura, a célula-mãe do tetrasporângio, abaxialmente, e uma célula pós-esporangial de cobertura (Figs 374, 375, 379). A célula pós-esporangial se divide e contribui para a formação da corticação em volta do tetrasporângio. As células de cobertura pré-esporangiais permanecem indivisas e sem ligações secundárias entre elas. Em vista superficial do râmulo fértil, células pré-esporangiais estão alinhadas transversalmente em relação ao eixo do râmulo fértil. Os tetrasporângios são formados e deslocados da porção apical, em espiral no sentido horário, à medida que novos tetrasporângios são produzidos, conferindo um arranjo final do tipo paralelo em relação ao eixo do râmulo fértil (Fig. 376). Tetrasporângios tetraedicamente divididos, com 62,5-130 μm de diâm.

Habitat: Plantas epilíticas crescendo no mesolitoral inferior em locais protegidos a moderadamente expostos à ação das ondas.

Distribuição: Brasil: Rio de Janeiro (presente estudo), **Espírito Santo** (presente estudo, Oliveira Filho 1969: 175-176, prancha D, fig. 2, como *Laurencia clavata*).

Material examinado: BRASIL: Rio de Janeiro: Armação dos Búzios, Praia Rasa, 13.i.2005, planta masculina, feminina e tetraspórica, V. Cassano & J.C. De-Paula (SP365.433), **Espírito Santo:** Anchieta, Ilhote de Ubu, 04.vi.2008, planta tetraspórica, M.T. Fujii & E. Stein (SP399.936), Praia de Parati, 30.vi.2007, planta feminina, E. Stein (SP399.934), Ponta dos Castelhanos, 01.vii.2007, E. Stein (SP399.935), **como Laurencia clavata Sonder:** Ilha do Francês, 29.vii.1965, E.C. Oliveira (SPF52185), Praia de Piabanha, 02.v.1966 E.C. Oliveira (SPF52186).

Comentários

Laurencia sp.1 possui uma combinação de características morfológicas que a distingue das demais espécies brasileiras estudadas, como hábito ereto com ramificação esparsa e eixos estreitos, menores que 1 mm de diâmetro, espessamentos lenticulares sempre presentes no talo, abundantes nas paredes das células medulares e na base do cistocarpo e ausência de células corticais projetadas próximo aos ápices dos ramos. O posicionamento filogenético desta espécie, inferido através de sequências do *rbcL* e do *cox1*, mostrou que *Laurencia* sp.1 é uma espécie distinta de todas as outras analisadas, incluindo as obtidas do GenBank (Figs 347-440, págs 262-268), indicando a possibilidade desta espécie ser nova para a ciência. Morfologicamente, *Laurencia* sp.1 é próxima da forma típica de *Laurencia filiformis* (localidade-tipo Austrália) por compartilhar todas as características acima citadas. Sequências de *Laurencia filiformis* da localidade-tipo são necessárias para esclarecer o posicionamento taxonômico do presente táxon.

Os materiais depositados no herbário da USP, identificados como *Laurencia clavata sensu* Oliveira Filho (1969) (SPF52185, SPF52186) foram examinados e mostraram que são idênticos aos designados neste estudo como *Laurencia* sp.1. Os espécimes apresentam o mesmo hábito e abundantes espessamentos lenticulares nas paredes das células medulares. *Laurencia clavata* foi descrita para a Austrália por Sonder (1853) e é muito distinta das demais espécies do complexo *Laurencia*. De acordo com Saito & Womersley (1974) e Womersley (2003), caracteristicamente *L. clavata* possui ramos laterais distintamente constritos na base (como em *Chondria* C. Agardh), com um estreito pedicelo, conferindo um aspecto articulado aos ramos jovens. A constrição é semelhante a um entrenó com poucas

camadas de células nos segmentos axiais, característica única da espécie (Nam 2006). Os ramos laterais se agrupam de maneira verticilada a subverticilada nas porções superiores dos eixos, conferindo um hábito muito peculiar às plantas e espessamentos lenticulares estão ausentes nessa espécie (Yamada, 1931, Saito & Womersley 1974, Womersley 2003). Na mais recente descrição de *Laurencia clavata*, Womersley (2003) comenta que os tetrasporângios parecem ser produzidos pelas células corticais externas e não pelas células pericentraes. Devido às suas características claramente distintas, *Laurencia clavata* foi anteriormente acomodada ou no gênero *Chondria* por Harvey (1862) ou no gênero *Corynecladia* por J. Agardh (1876) (Nam 2006). Na análise filogenética realizada por Nam (2006), *Laurencia clavata* se manteve como grupo irmão de todas as espécies do complexo *Laurencia* com posição filogenética intermediária entre o complexo *Laurencia* e *Chondria*. Pelas características únicas apresentadas por esta espécie e pela sua posição filogenética, Nam (2006) acomodou *L. clavata* no gênero *Corynecladia*, reconsiderando o posicionamento dado por J. Agardh (1876). Plantas com características de *L. clavata* não ocorrem no Brasil.

Laurencia sp.1 é um táxon raro no Rio de Janeiro, tendo sido encontrado uma única vez na Praia Rasa, Búzios.

Figs 350-356. *Laurencia* sp.1.

Fig. 350. Planta tetraspórica; exemplar vivo.

Fig. 351. Planta masculina.

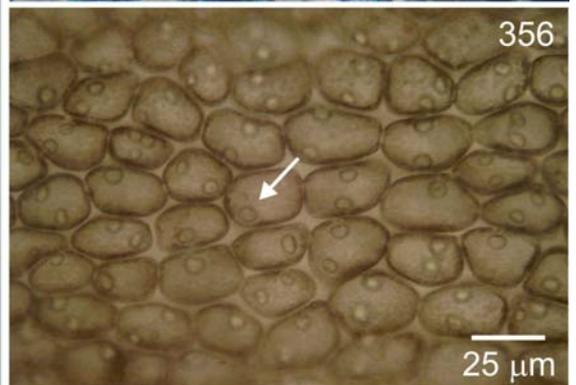
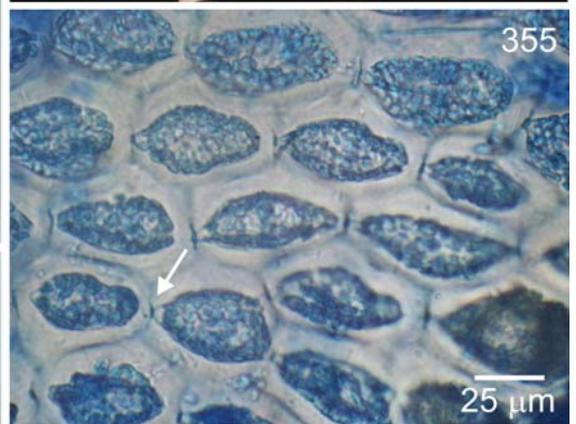
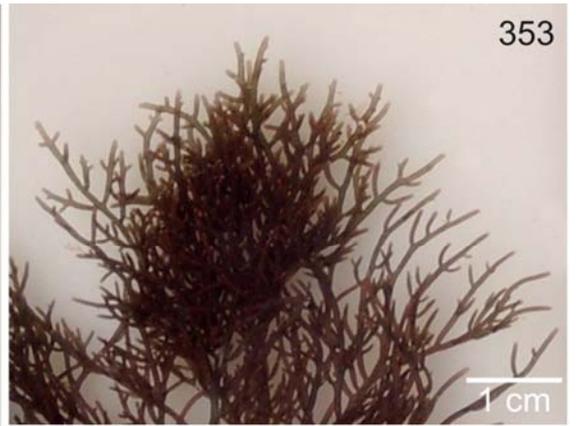
Fig. 352. Planta feminina.

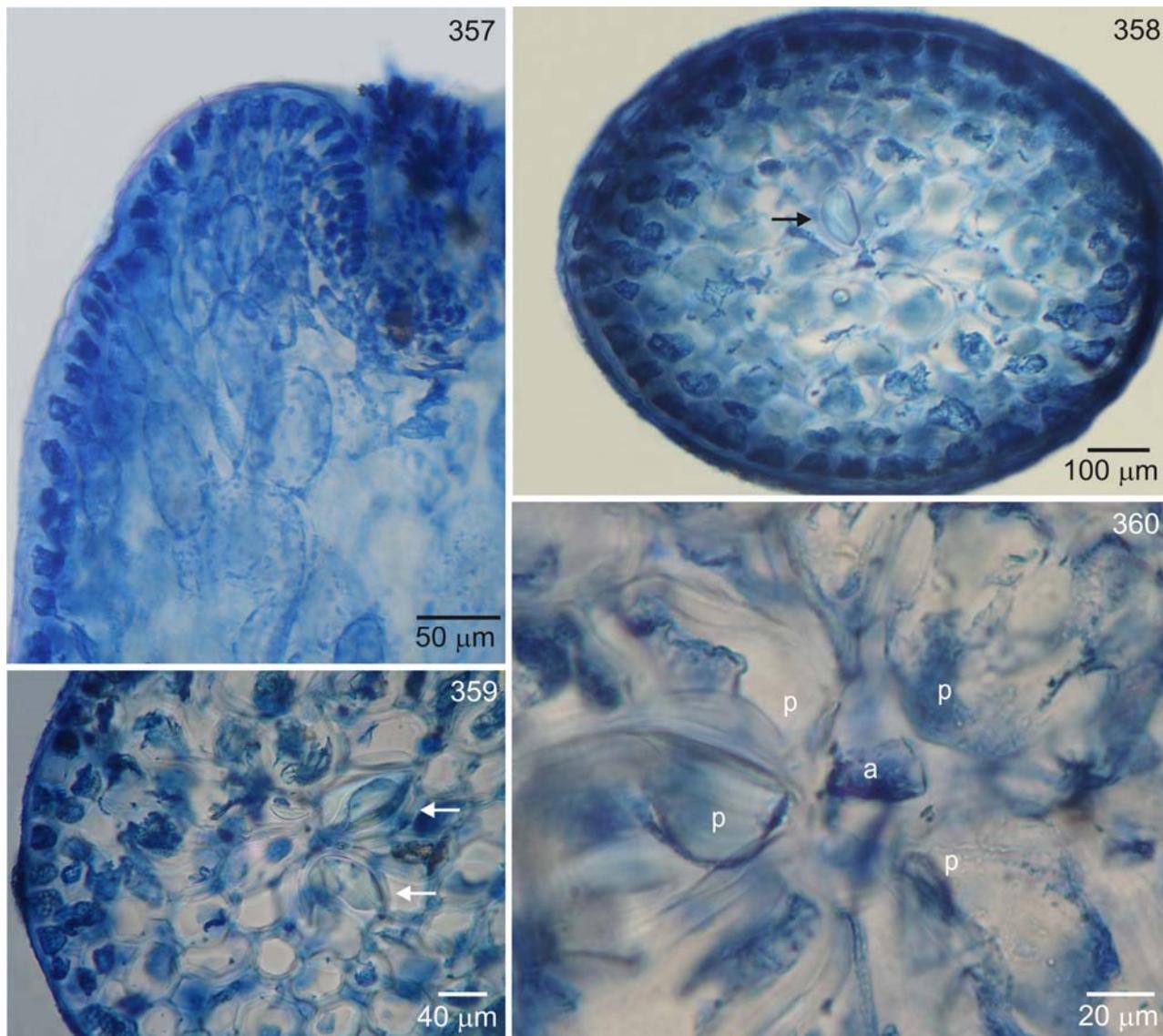
Fig. 353. Detalhe da porção apical do talo.

Fig. 354. Detalhe da porção basal do talo com ramos laterais descendentes.

Fig. 355. Vista superficial da porção mediana do talo mostrando células corticais com ligações secundárias (seta).

Fig. 356. Vista superficial das células corticais com um a três *corps en cerise* por célula (seta).





Figs 357-360. *Laurencia* sp.1.

Fig. 357. Corte longitudinal de um ramo mostrando células corticais com paredes não projetadas.

Fig. 358. Corte transversal do talo mostrando duas camadas de células corticais pigmentadas e três camadas de células medulares com espessamentos lenticulares (seta).

Fig.359. Detalhe da região medular do talo com espessamentos lenticulares (setas).

Fig. 360. Corte transversal mostrando segmento axial vegetativo com quatro células pericentraes (p) e célula axial (a). Note espessamento lenticular.

Figs 361-365. *Laurencia* sp.1. Detalhe das plantas masculinas.

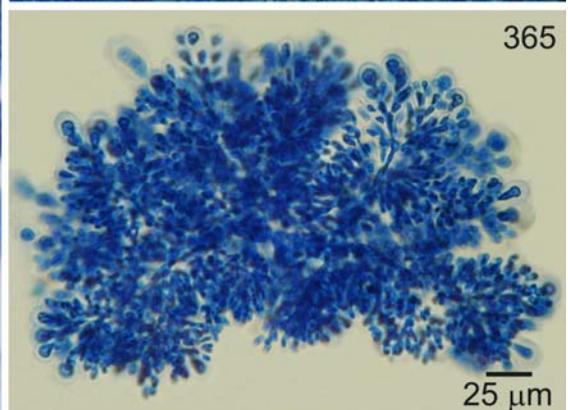
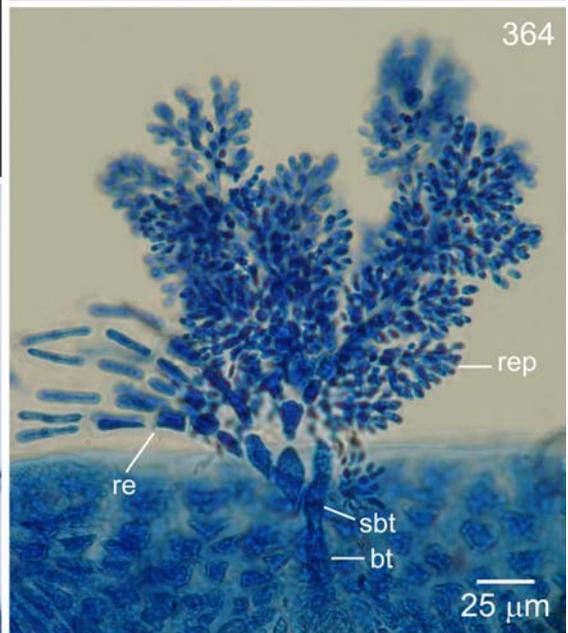
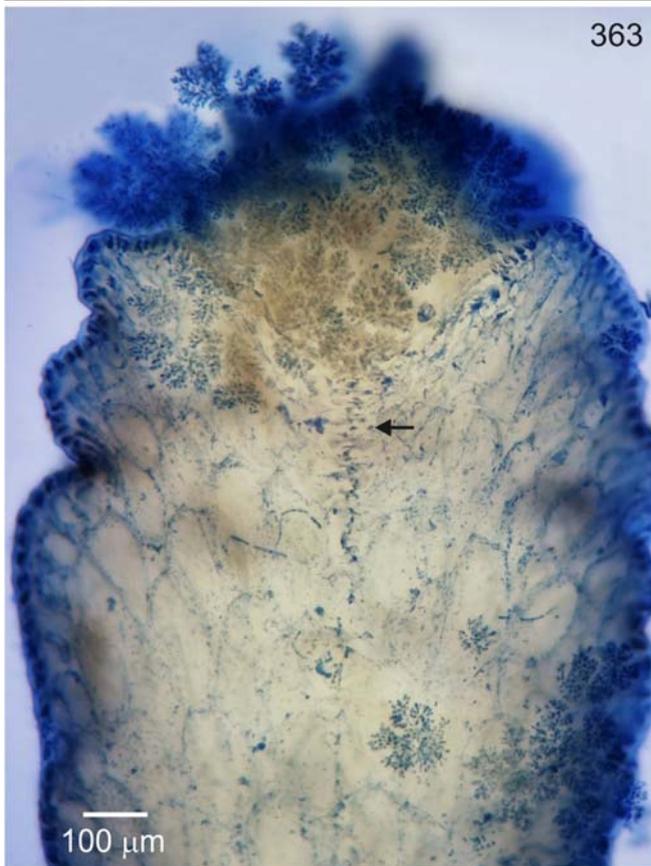
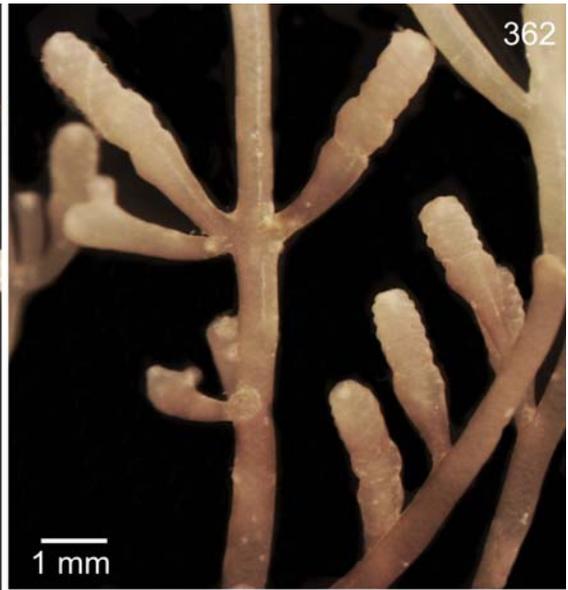
Fig. 361. Porção apical do talo com râmulos espermatangiais.

Fig. 362. Detalhe dos râmulos espermatangiais. Note ramificação oposta e crescimento contínuo dos râmulos.

Fig. 363. Corte longitudinal de um râmulo espermatangial mostrando depressão em forma de taça e fileira de células axiais discerníveis na base da depressão espermatangial (seta).

Fig. 364. Detalhe do filamento espermatangial mostrando ramos férteis (rep) e ramos estéreis (re) originados da célula suprabasal do tricoblasto (sbt), célula basal do tricoblasto (bt).

Fig. 365. Filamentos espermatangiais com espermatângios e células vesiculares estéreis.



Figs 366-371. *Laurencia* sp.1. Detalhe das plantas femininas.

Fig. 366. Porção apical do talo mostrando ramos com cistocarpos.

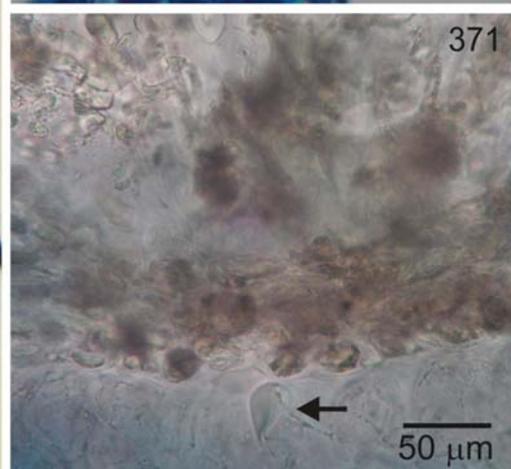
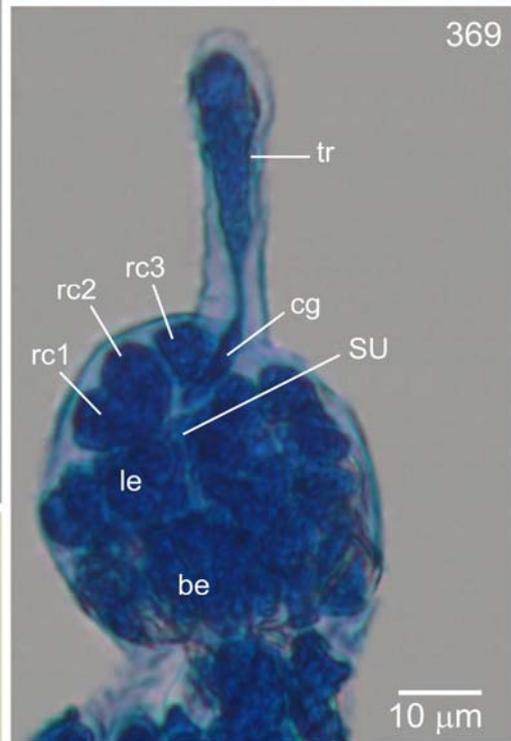
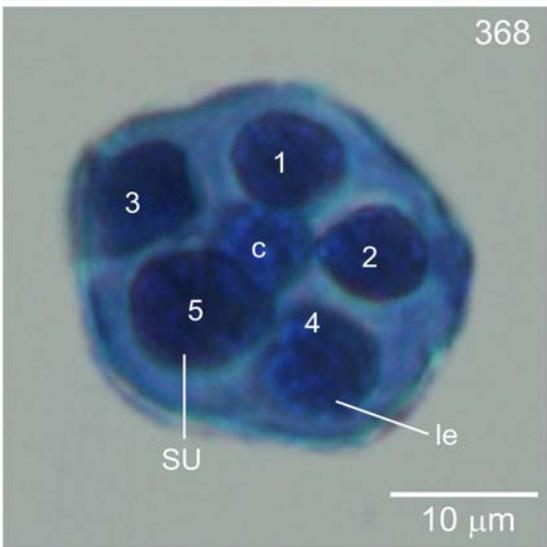
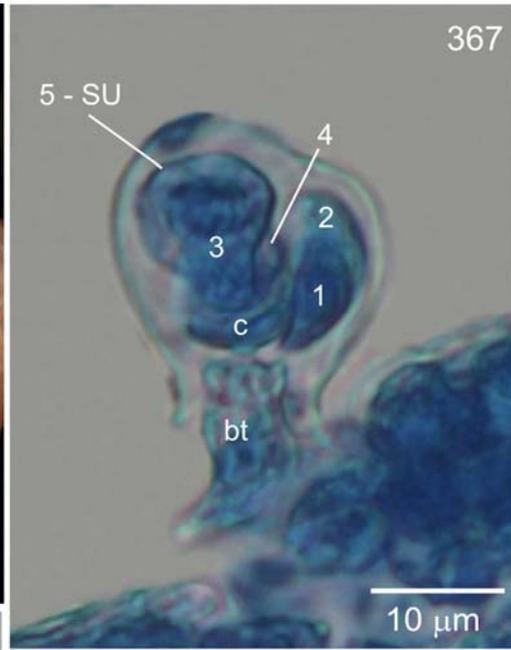
Fig. 367. Tricoblasto feminino que sustenta o procarpo com cinco células pericentrais, sendo a quinta a célula suporte (SU) do ramo carpogonial; célula central do segmento que origina o procarpo (c); célula basal do tricoblasto (bt).

Fig. 368. Procarpo com cinco células pericentrais e célula inicial do grupo de células laterais estéreis (le).

Fig. 369. Procarpo antes da fertilização com ramo carpogonial com quatro células (rc1-3 e carpogônio, cg); tricogine (tr); grupo de células laterais estéreis (le); grupo de células basais estéreis (be).

Fig. 370. Corte longitudinal de um râmulo feminino com cistocarpo.

Fig. 371. Detalhe da base do cistocarpo com espessamentos lenticulares (seta).



Figs 372-375. *Laurencia* sp.1. Detalhe das plantas tetraspóricas.

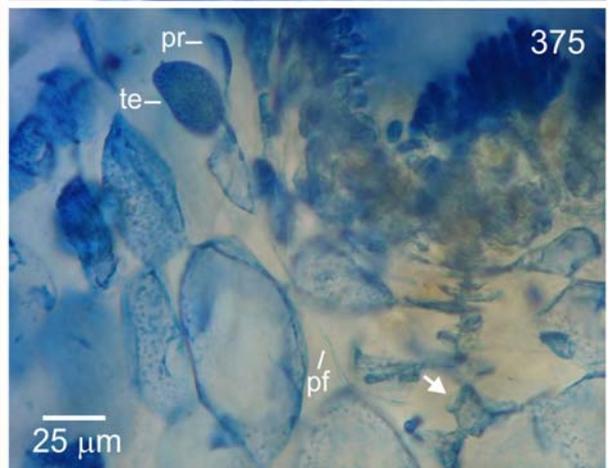
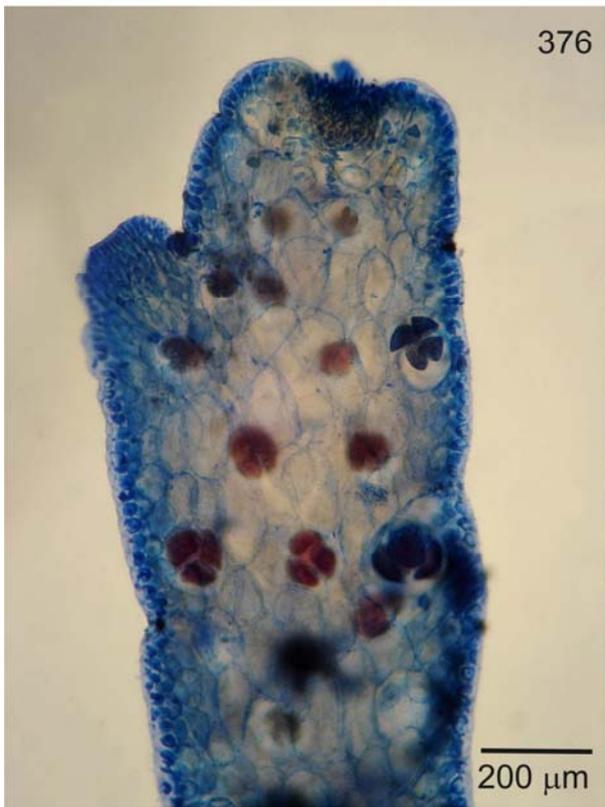
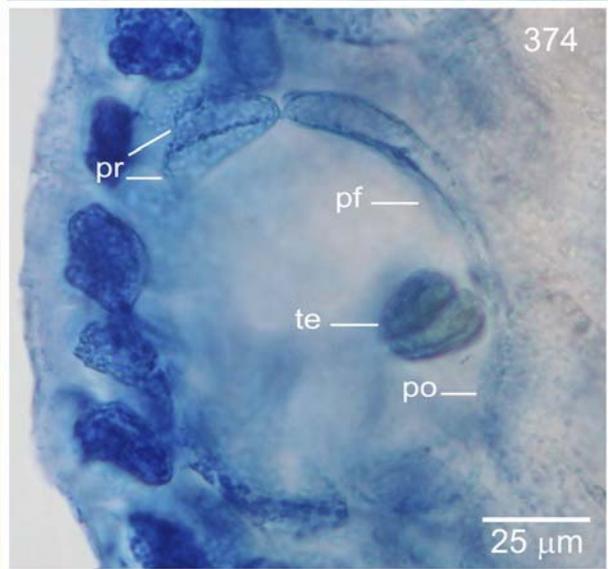
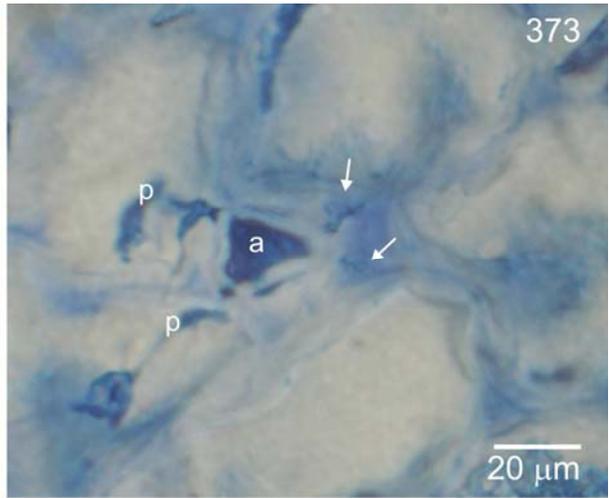
Fig. 372. Porção apical do talo com râmulos tetrasporangiais.

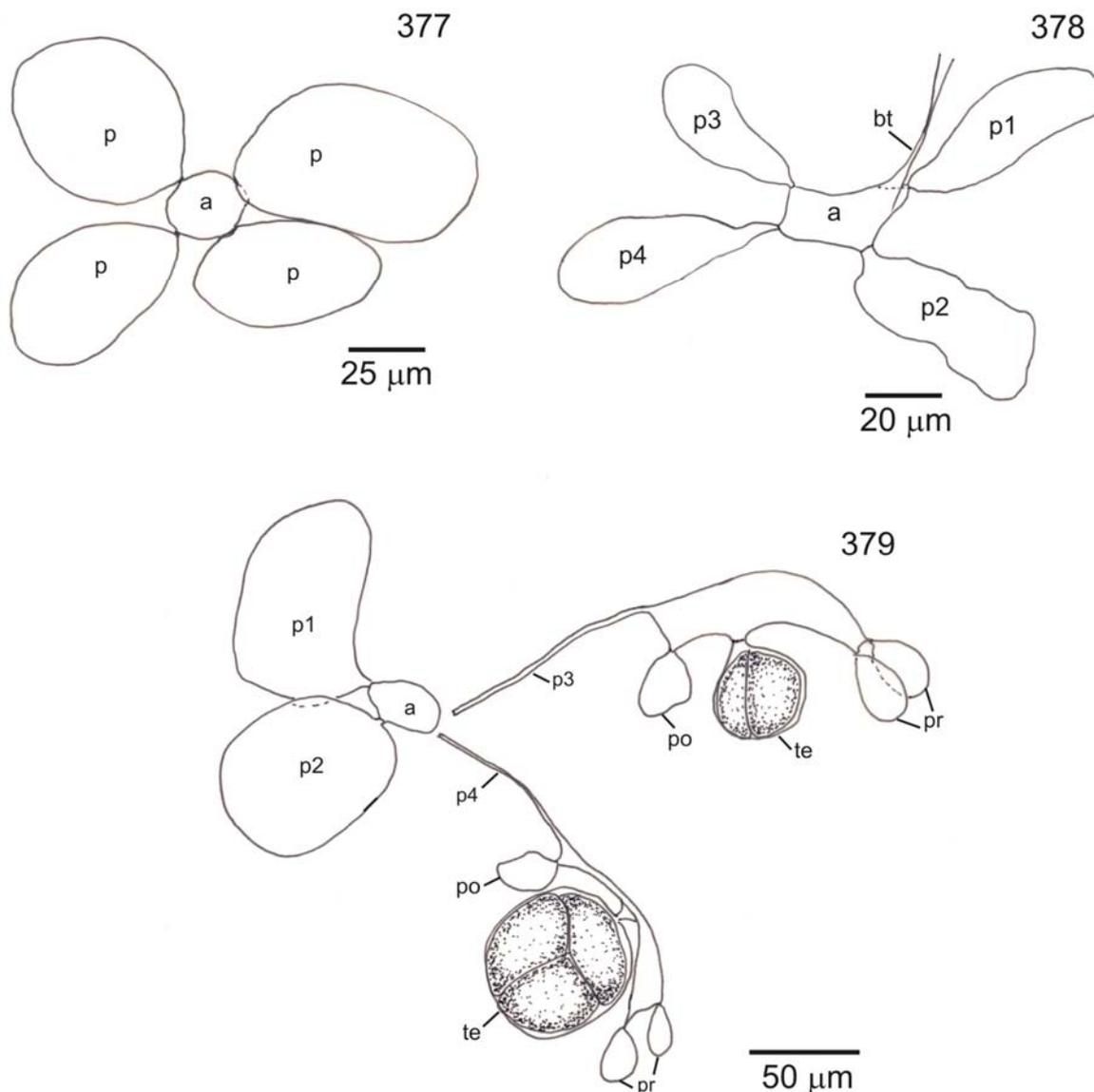
Fig. 373. Corte transversal mostrando segmento tetrasporangial com duas células pericentrais adicionais férteis (setas), células pericentrais vegetativas (p) e célula axial (a).

Fig. 374. Detalhe da célula pericentral fértil (pf) com duas células pré-esporangiais de cobertura (pr), a inicial do tetrasporângio (te) e célula pós-esporangial de cobertura (po).

Fig. 375. Corte longitudinal de um râmulo tetrasporangial mostrando origem abaxial dos tetrasporângios a partir da célula pericentral (pf), célula axial (seta).

Fig. 376. Corte longitudinal mostrando arranjo paralelo dos tetrasporângios.





Figs 377-379. *Laurencia* sp.1.

Fig. 377. Corte transversal da porção apical de um ramo mostrando segmento axial com quatro células pericentrais (p) e célula axial (a).

Fig. 378. Corte transversal próximo ao ápice de um râmulo mostrando segmento axial vegetativo com célula axial (a) e células pericentrais (p1-p4), com a primeira célula pericentral (p1) produzida abaixo da célula basal do tricoblasto (bt).

Fig. 379. Representação esquemática de um corte transversal próximo ao ápice de um râmulo mostrando segmento axial tetrasporangial com duas células pericentrais férteis, a terceira e a quarta (p3-p4) com tetrasporângios (te), duas células pré-esporangiais de cobertura (pr) e uma pós-esporangial de cobertura (po); a primeira e a segunda pericentrais permanecem vegetativas (p1-p2).

3.1.3.8. *Palisada flagellifera* (J. Agardh) K.W. Nam, *Algae* 22: 54. 2007.

Basiônimo: *Laurencia flagellifera* J. Agardh (1852: 747-748).

Holótipo: Museu Botânico de Lund, Suécia (LD).

Localidade tipo: Indonésia

Figs 380-405.

Distribuição: **Oceano Atlântico:** **Brasil:** **Paraná** (Ugadim 1976), **Santa Catarina** (Cordeiro-Marino 1978, Fujii 1998, Fujii & Senties 2005, Fujii *et al.* 2006), **São Paulo** (Joly 1957, como *Laurencia* sp., Joly 1965, como *Laurencia scoparia*, Fujii 1990, Széchy & Paula 1997, Fujii 1998, Fujii & Senties 2005, Fujii *et al.* 2006), **Espírito Santo** (Oliveira Filho 1969, Fujii 1990, Fujii 1998, Fujii & Senties 2005, Fujii *et al.* 2006), **ES, Ilha da Trindade** (Pedrini *et al.* 1989, Nassar 1994), **Rio de Janeiro** (Pedrini 1980, Yoneshigue 1985, Figueiredo 1989, Figueiredo-Creed & Yoneshigue-Valentin 1997, Széchy & Paula 1997, Gustinari *et al.* 1998, Széchy & Nassar 2005), **Bahia** (Altamiro & Nunes 1997, Fujii 1998, Nunes 1998, Fujii & Senties 2005, Fujii *et al.* 2006), **Alagoas** (Ferreira *et al.* 1988, Fujii 1998, Fujii & Senties 2005, Fujii *et al.* 2006), **Pernambuco** (Ferreira *et al.* 1988, Cocentino 1994, Fujii 1998, Pereira *et al.* 2002, Fujii & Senties 2005, Fujii *et al.* 2006), **PE, Arquipélago de Fernando de Noronha** (Széchy *et al.* 1989, Pedrini *et al.* 1992), **Paraíba** (Ferreira *et al.* 1988), **Rio Grande do Norte** (Paes e Mello & Pereira 1990, Fujii 1998, Fujii & Senties 2005, Fujii *et al.* 2006), **Ceará** (Pinheiro-Joventino *et al.* 1998, Fujii & Senties 2005, Fujii *et al.* 2006). **Oceano Pacífico:** **Ilhas Salomão** (Womersley & Bailey 1970), **Filipinas** (Kraft *et al.* 1999). **Oceano Índico:** **Índia, Ilhas Rodrigues** (Silva *et al.* 1996).

Plantas eretas formando tufo densos com coloração marrom-violácea, marrom-esverdeada a marrom-escura, com até 15 cm de altura (Fig. 380). Talos de consistência cartilaginosa rígida, não aderindo bem ao papel de herbário quando secos. Eixos principais fixos ao substrato por apressório discóide e ramos laterais basais descendentes, fixos secundariamente por apressórios terminais (Fig. 381). Ocasionalmente, ramos estoloníferos são produzidos a partir das porções inferiores e auxiliam na fixação secundária do talo. Eixos cilíndricos, desnudos ou pouco ramificados na base e mais densamente ramificados no terço superior da planta, com 1200-1580 µm de diâmetro na porção mediana do talo. Ramificação alterna-espiralada a irregular até 4 ordens de ramos. Râmulos de última ordem cilíndricos a clavados, com ápice truncado, curtos e compostos ou longos e isolados, com 1600-8000 x 700-1040 µm.

Em vista superficial, células corticais poligonais, isodiamétricas nas porções superiores e medianas do talo (Fig. 382), com 22,5-42,5 x 12,5-32,5 μm , e poligonais-alongadas nas porções inferiores. Ligações secundárias entre as células corticais adjacentes ausentes (Fig. 382). *Corps en cerise* ausentes. Em corte longitudinal mediano, células corticais não projetadas além da superfície do talo (Fig. 383). Em corte transversal, talo com uma a duas camadas de células corticais pigmentadas e quatro a cinco camadas de células medulares hialinas (Fig. 384). Células corticais externas radialmente alongadas e arrançadas como paliçada, com 27,5-50 x 12,5-37,5 μm na porção mediana dos eixos principais (Fig. 385). Células medulares arredondadas diminuindo gradativamente de tamanho em direção ao centro do talo, com 70-167,5 x 60-110 μm . Paredes das células medulares espessadas, mas sem espessamentos lenticulares. Cada segmento axial vegetativo produz duas células pericentrais ligeiramente menores que as medulares circunvizinhas (Figs 386, 403). No ápice dos ramos, a primeira célula pericentral é produzida ao lado da célula basal do tricoblasto (Figs 387, 404).

Plantas masculinas com râmulos férteis cilíndricos a claviformes, caracteristicamente mais intumescidos que os demais, com 1500-5500 μm de diâm. (Figs 388, 389). Em corte longitudinal, depressão espermatangial em forma de taça, com uma fileira de células axiais discerníveis na base da depressão espermatangial (Fig. 390). Espermatângios produzidos por tricoblastos originados da célula axial próxima à célula apical, formados em densos grupos de filamentos ramificados dicotomicamente. Dois ramos laterais são formados sobre a célula suprabasal do tricoblasto, um deles permanece estéril, o outro torna-se fértil com numerosos espermatângios (Fig. 391). Ramos férteis terminados em uma única célula vesicular estéril, com 17,5-52,5 x 12,5-37,5 μm . Espermatângios com um único espermácio ovóide, com 7,5-12,5 x 5-7,5 μm com um núcleo na extremidade de cada célula.

Plantas femininas com procarpo desenvolvido a partir da célula basal do tricoblasto próximo à célula apical do râmulo. Procarpo com quatro células pericentrais, sendo que a quarta torna-se a célula suporte (Fig. 394) do ramo carpogonial com quatro células e dois grupos de células estéreis (basal e lateral) (Figs 395, 396). Desenvolvimento do procarpo é semelhante ao descrito para *L. aldingensis*. Filamentos gonimoblásticos formam inúmeros carposporângios terminais, cuneiformes alongados, com 105-175 μm x 25-52,5 μm , cuja liberação dos carpóporos ocorre através de abertura apical, o ostíolo. Cistocarpos piriformes, parcialmente imersos no talo e dispostos subapicalmente nos râmulos, com 920-1200 μm de diâm., com ostíolo proeminente (Figs 392, 393, 397).

Ramos tetrasporangiais cilíndricos, simples ou compostos, com 1050-6700 x 750-1200 µm (Figs 398, 399). No ápice dos râmulos, cada segmento axial produz duas células pericentrais adicionais em posição oposta às duas pericentrais pré-existentes. A terceira e a quarta pericentrais adicionais e a segunda pericentral tornam-se férteis; a primeira permanece vegetativa (Figs 400, 405). Cada célula pericentral fértil corta distalmente duas células pré-esporangiais de cobertura, a célula-mãe do tetrasporângio, abaxialmente, e uma célula pós-esporangial de cobertura (Fig. 401). A célula pós-esporangial se divide e contribui para a formação da corticação em volta do tetrasporângio. As células pré-esporangiais de cobertura permanecem indivisas e sem ligações secundárias entre elas. Em vista superficial do râmulo fértil, células pré-esporangiais estão alinhadas transversalmente em relação ao eixo do râmulo fértil. Os tetrasporângios são formados e deslocados da porção apical, em espiral no sentido horário, à medida que novos tetrasporângios são produzidos, conferindo um arranjo final do tipo ângulo reto em relação ao eixo do râmulo fértil (Figs 399, 402). Tetrasporângios tetraedicamente divididos, com 55-70 µm em diâmetro.

Habitat: Plantas epilíticas crescendo da região entremarés ao infralitoral em locais moderadamente expostos ou expostos à forte arrebentação das ondas.

Material examinado: BRASIL: Rio de Janeiro: Armação dos Búzios, Praia Rasa, 05.iv.2002, planta tetraspórica, V. Cassano (SP399.858), 14.vi.2003, planta masculina, feminina e tetraspórica, V. Cassano (SP399.859), 17.vii.2004, planta tetraspórica, V. Cassano (SP399.860), 13.i.2005, planta tetraspórica, V. Cassano & J.C. De-Paula (SP399.861), 21.vii.2005, planta masculina e tetraspórica, V. Cassano & J.C. De-Paula (SP399.862), 07.vii.2008, V. Cassano & J.C. De-Paula (SP399.863), Rio das Ostras, Areias Negras, 03.viii.2005, planta tetraspórica, V. Cassano & M.B. Barros-Barreto (SP399.864), Praia do Cemitério, 02.viii.2005, V. Cassano & M.B. Barros-Barreto (SP399.941).

Comentários

Palisada flagellifera foi descrita originalmente como *Laurencia flagellifera* por J. Agardh (1852) a partir de material coletado na Indonésia. A localidade-tipo dada pelo autor “ad oras Indiae orientalis” foi designada equivocadamente como Índia por Silva *et al.* (1996). As mudanças nomenclaturais para *Chondrophyucus* e, posteriormente, para *Palisada* foram providenciadas por Nam (1999, 2007), respectivamente. Detalhes da morfologia vegetativa e

reprodutiva dos espécimes brasileiros de *P. flagellifera* foram fornecidos por Fujii *et al.* (2006), quando também a sua posição filogenética foi inferida através de sequências do gene *rbcL*.

A espécie é tida como um membro típico do gênero *Palisada*, pertencente ao subgênero *Palisadae*, seção *Palisadae* pelas células corticais alongadas e arrançadas em paliçada, em seção transversal do talo, sem ligações secundárias entre elas, duas células pericentraes por segmento axial vegetativo, presença de uma célula estéril no segmento tetrasporangial e tetrasporângios dispostos em ângulo reto (Nam 1999). A espécie de fácil reconhecimento pelo seu talo cartilaginoso rígido, pouco ramificado e pela combinação das características acima descritas. No entanto, com base na análise morfológica realizada neste estudo, *P. flagellifera* não está totalmente de acordo com a circunscrição do gênero *Palisada* dada por Nam (2006). Nos espécimes analisados a primeira célula pericentral é produzida ao lado da célula basal do tricoblasto, como ocorre em *Chondrophycus*, e não abaixo, como em *Palisada* e *Laurencia*. O número de células pericentraes que formam o procarpo no tricoblasto feminino nem sempre é de fácil interpretação, dependendo da fase de desenvolvimento do segmento fértil. No material analisado, foram verificadas quatro células pericentraes formadoras do segmento procárpico, o que está de acordo com o descrito para o gênero *Palisada* por Nam (2006). Ao contrário, Fujii *et al.* (2006) deram uma diferente interpretação, descrevendo cinco células pericentraes para o procarpo desta espécie.

Filogeneticamente, *Palisada flagellifera* possui maior afinidade com *P. perforata*, o que está de acordo com os resultados de Fujii *et al.* (2006) e Díaz-Larrea (2008). As duas espécies são facilmente diferenciadas pelo hábito e pela presença de ramos papiliformes em *P. perforata*, ausentes em *P. flagellifera*. As espécies diferem ainda pelo número de células pericentraes férteis adicionais produzidas nos segmentos tetrasporangiais, sendo duas para *P. flagellifera* e uma para *P. perforata*. A comparação das características anatômicas e reprodutivas entre essas duas espécies é mostrada na Tabela 11, pág. 240.

Os dados moleculares confirmaram que *Chondrophycus cf. thuyoides*, coletado nas Ilhas Canárias (Tab. 6, pág. 36), corresponde a *P. flagellifera* (Fig. 437, pág. 262). A espécie *Palisada thuyoides* (Kützing) Cassano, Senties, Gil-Rodríguez *et* M.T. Fujii (Cassano *et al.* 2009) foi descrita para o Mar Adriático por Kützing (1865) como *Laurencia thuyoides*. A espécie se assemelha a *P. flagellifera* pelo hábito e pelas células corticais em paliçada, entretanto difere pela ausência de células pericentraes adicionais férteis nos segmentos tetrasporangiais e pela posição da primeira célula pericentral em relação ao tricoblasto (Tab. 11).

Palisada flagellifera constitui uma nova ocorrência para as Ilhas Canárias, assim como para o oceano Atlântico oriental.

Figs 380-385. *Palisada flagellifera* (J. Agardh) K.W. Nam.

Fig. 380. Hábito da planta.

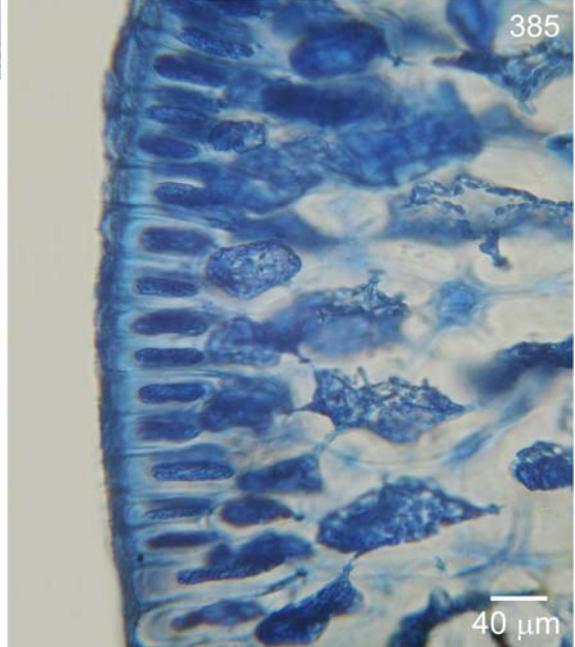
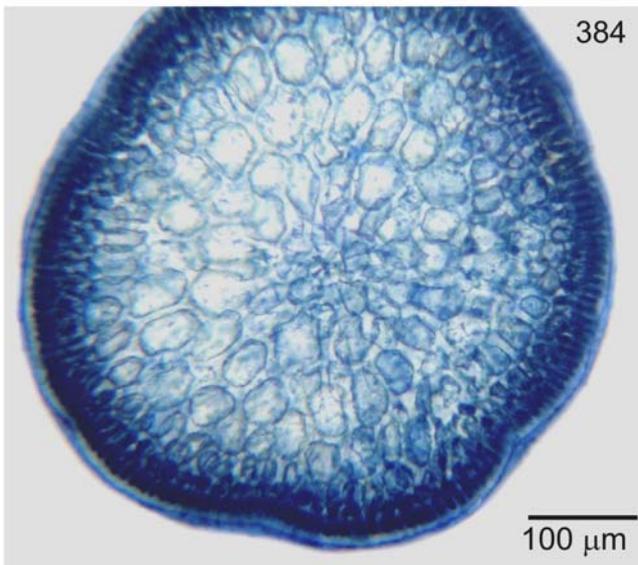
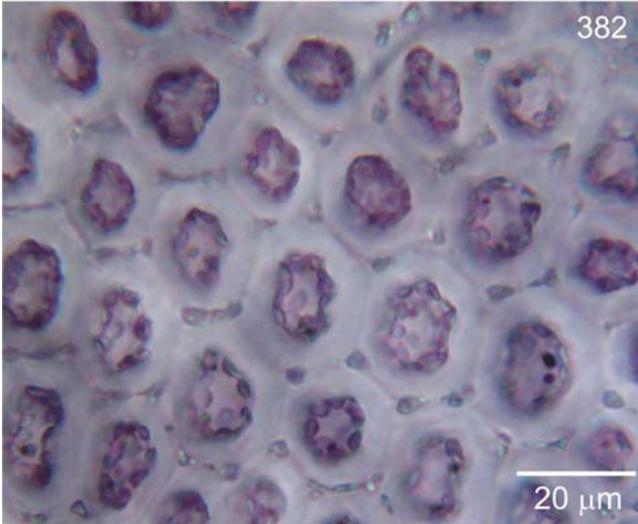
Fig. 381. Detalhe da porção basal do talo com apressório discóide e ramo basal descendente, fixo por apressório menor (seta).

Fig. 382. Vista superficial da porção apical do talo mostrando células corticais sem ligações secundárias.

Fig. 383. Corte longitudinal de um ramo mostrando células corticais com paredes não projetadas.

Fig. 384. Corte transversal do talo mostrando duas camadas de células corticais pigmentadas e quatro camadas de células medulares.

Fig. 385. Detalhe das células corticais com arranjo em paliçada.



Figs 386-390. *Palisada flagellifera* (J. Agardh) K.W. Nam.

Fig. 386. Corte transversal mostrando segmento axial vegetativo com duas células pericentrais (p) e célula axial (a).

Fig. 387. Corte transversal da porção apical de um râmulo mostrando a primeira célula pericentral (p1) produzida ao lado da célula basal do tricoblasto (bt); segunda célula pericentral (p2).

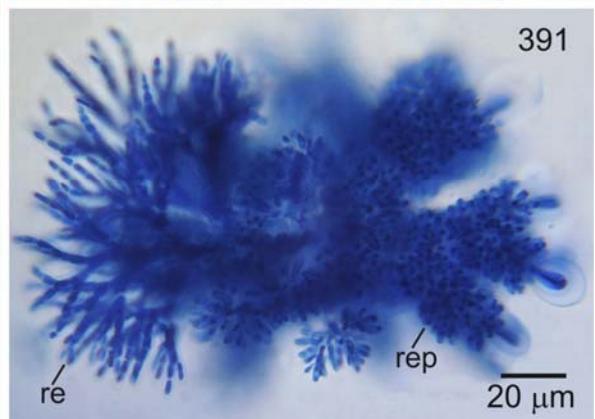
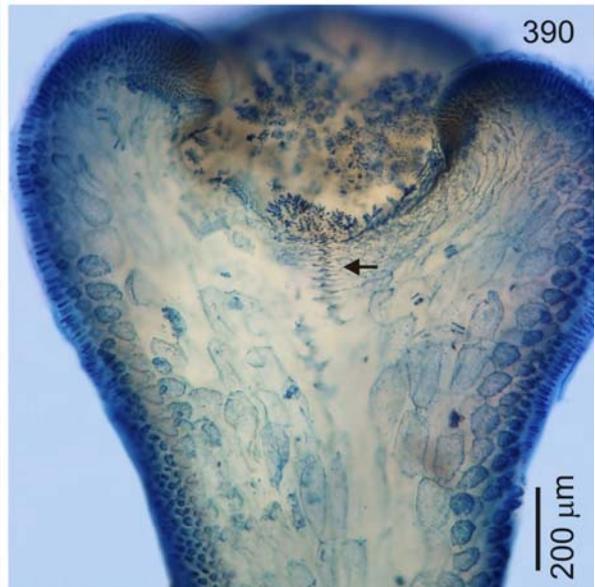
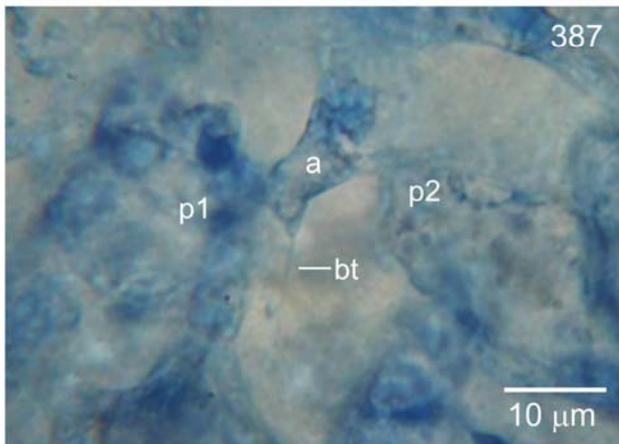
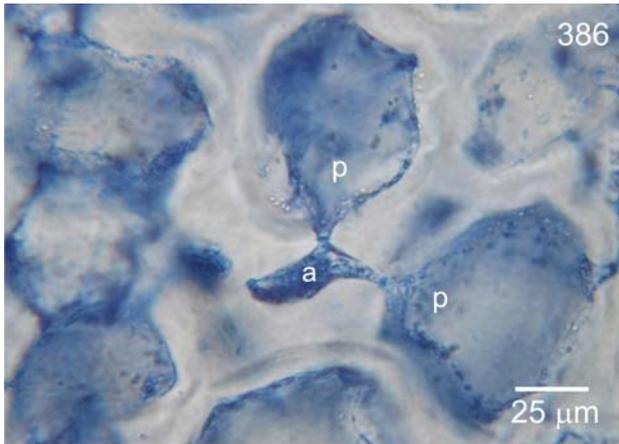
Figs 388-391. Detalhe das plantas masculinas.

Fig. 388. Porção apical do talo com râmulos espermatangiais.

Fig. 389. Detalhe dos râmulos espermatangiais.

Fig. 390. Corte longitudinal de um râmulo espermatangial mostrando depressão em forma de taça e fileira de células axiais discerníveis na base da depressão espermatangial (seta).

Fig. 391. Detalhe do filamento espermatangial mostrando ramos férteis (rep) e ramos estéreis (re) com espermatângios e células vesiculares estéreis.



Figs 392-397. *Palisada flagellifera* (J. Agardh) K.W. Nam. Detalhe das plantas femininas.

Fig. 392. Porção apical do talo mostrando ramos com cistocarpos.

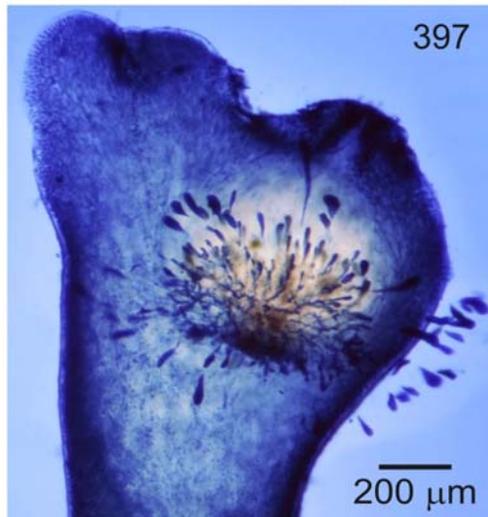
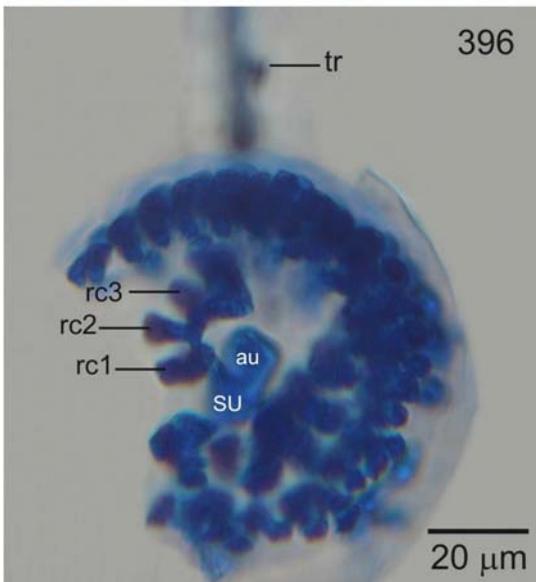
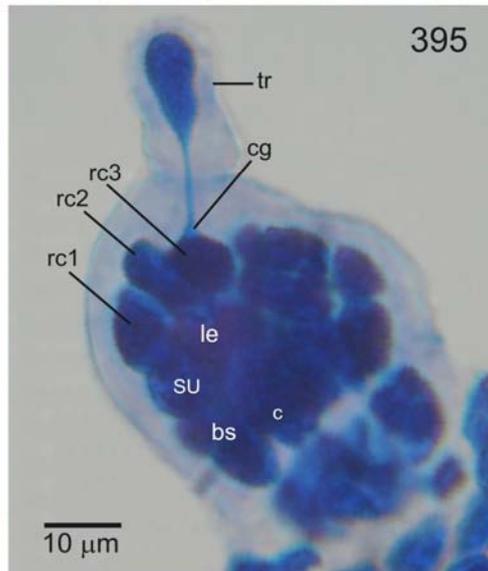
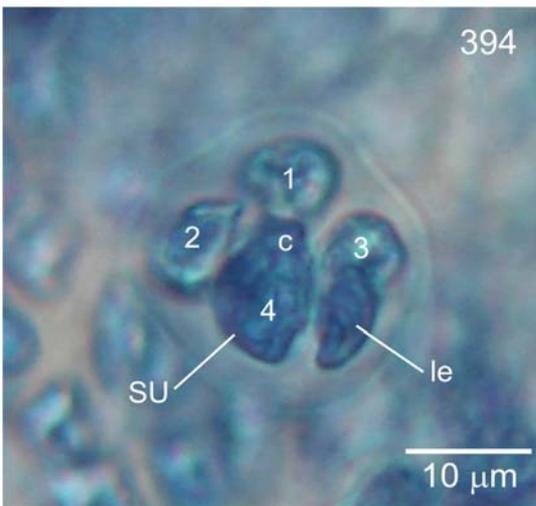
Fig. 393. Detalhe de ramos com cistocarpos.

Fig. 394. Procarpo com quatro células pericentrais, sendo a quarta a célula suporte (SU) do ramo carpogonial; célula central do segmento que origina o procarpo (c); célula inicial do grupo de células laterais estéreis (le).

Fig. 395. Procarpo antes da fertilização com ramo carpogonial com quatro células (rc1-3 e carpogônio, cg); tricogine (tr); grupo de células laterais estéreis (le); grupo de células basais estéreis (be).

Fig. 396. Estádio pós-fertilização mostrando célula auxiliar (au) formada a partir da célula suporte.

Fig. 370. Corte longitudinal de um râmulo feminino com cistocarpo parcialmente imerso no talo.



Figs 398-402. *Palisada flagellifera* (J. Agardh) K.W. Nam. Detalhe das plantas tetraspóricas.

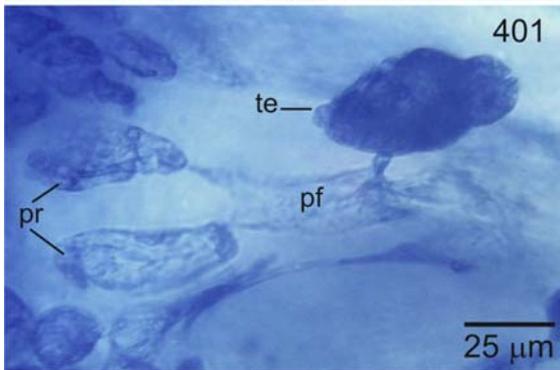
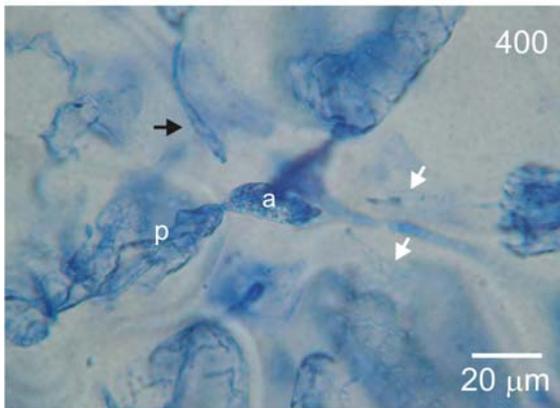
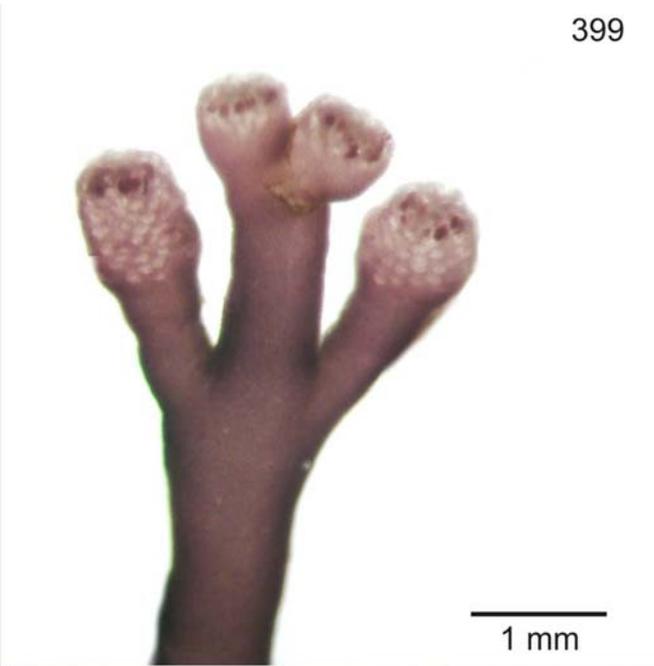
Fig. 398. Porção apical do talo com râmulos tetrasporangiais.

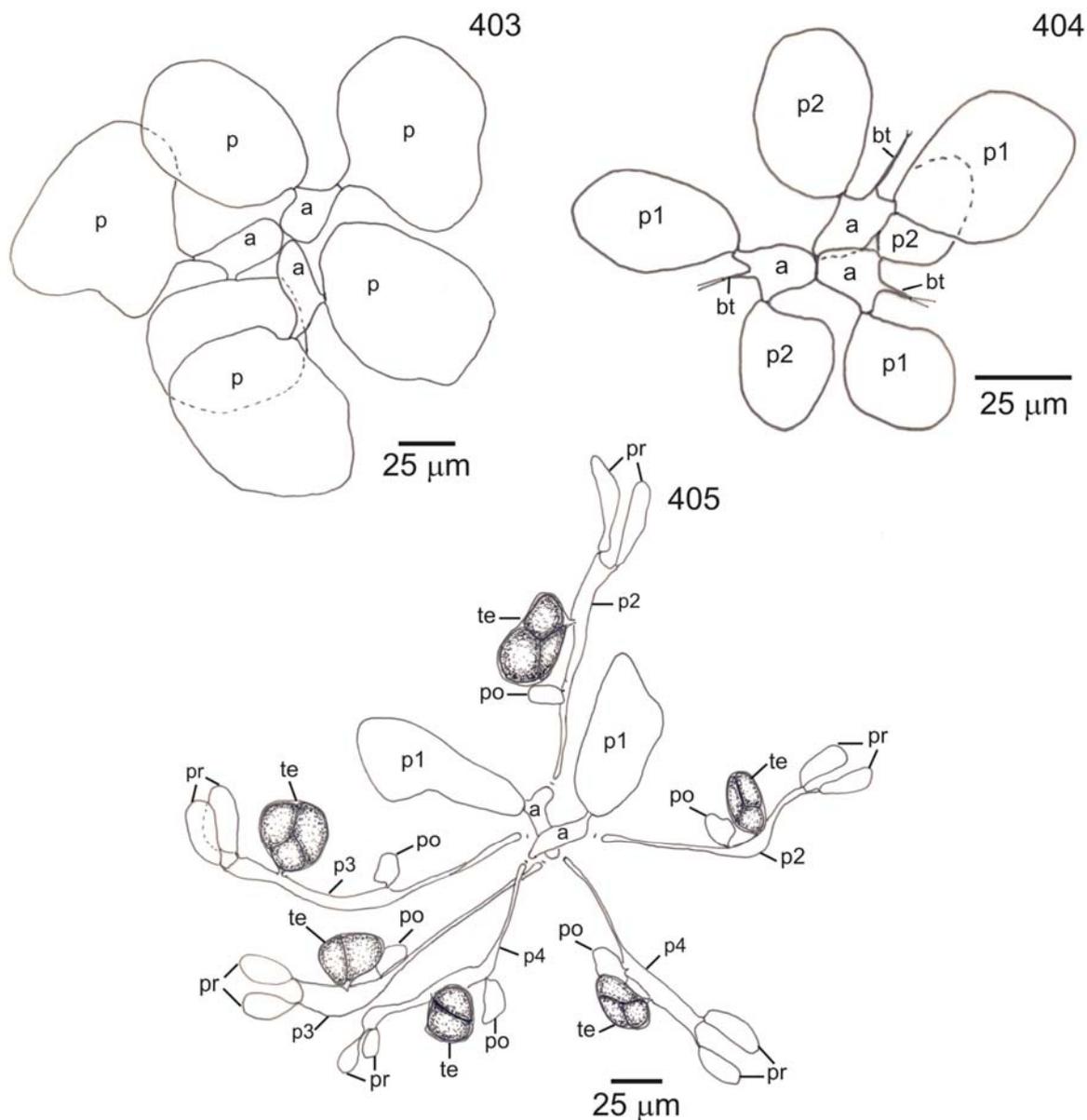
Fig. 399. Detalhe de râmulos tetrasporangiais com tetrasporângios dispostos em ângulo reto.

Fig. 400. Corte transversal mostrando segmento tetrasporangial com três células pericentrais férteis; duas adicionais (setas brancas), formadas em posição oposta às duas pré-existentes, a segunda célula pericentral torna-se fértil (seta preta) e a primeira permanece vegetativa (p); célula axial (a).

Fig. 401. Detalhe da célula pericentral fértil (pf) com duas células pré-esporangiais de cobertura (pr) e a inicial do tetrasporângio (te). Célula pós-esporangial de cobertura não visualizada.

Fig. 402. Corte longitudinal mostrando arranjo dos tetrasporângios em ângulo reto.





Figs 403-405. *Palisada flagellifera* (J. Agardh) K.W. Nam.

Fig. 403. Corte transversal da porção apical de um ramo mostrando três segmentos axiais com duas células pericentrais (p) e célula axial (a).

Fig. 404. Corte transversal próximo ao ápice de um râmulo mostrando três segmentos axiais vegetativos com célula axial (a) e células pericentrais (p1-p2), com a primeira célula pericentral (p1) produzida ao lado da célula basal do tricoblasto (bt).

Fig. 405. Representação esquemática de um corte transversal próximo ao ápice de um râmulo mostrando dois segmentos tetrasporangiais sobrepostos com duas células pericentrais adicionais férteis, a terceira e a quarta (p3-p4); a segunda vegetativa pré-existente torna-se fértil (p2) e a primeira pericentral permanece vegetativa (p1); tetrasporângios (te), duas células pré-esporangiais de cobertura (pr) e uma pós-esporangial de cobertura (po).

***Palisada perforata* (Bory) K.W. Nam, *Algae* 22: 54. 2007.**

Basiônimo: *Fucus perforatus* Bory (1803: 505, pl. 5 fig. 1).

Holótipo: Museu Nacional de História Natural de Paris, França (PC).

Localidade tipo: Tenerife, Ilhas Canárias, Espanha.

Sinônimos: *Laurencia perforata* (Bory) Montagne (1840: 155); *Chondrophyucus perforatus* (Bory) K.W. Nam (1999: 463); *Fucus papillosus* Forsskål (1775: 190), *nom. illeg* (homônimo posterior de *Fucus papillosus* S.G. Gmelin 1768); *Chondria papillosa* C. Agardh (1822: 344); *Laurencia papillosa* (C. Agardh) Greville (1830: lii); *Chondrophyucus papillosus* (C. Agardh) Garbary & J.T. Harper (1998: 195); *Palisada papillosa* (C. Agardh) K.W. Nam (2007: 54).

Figs. 406-430.

Nomes mal aplicados para o Brasil: *Laurencia catarinensis* (Figueiredo 1989: 174-175, fig. 132, Figueiredo-Creed & Yoneshigue-Valentin 1997: 36), *Laurencia obtusa* (Figueiredo (1989: 176-177, fig. 133, Figueiredo-Creed & Yoneshigue-Valentin (1997: 36).

Distribuição: Oceano Atlântico: Brasil: Paraná (Ugadim 1973), São Paulo (Joly 1965, Ugadim 1976, Fujii 1990, Széchy & Paula 1997, Fujii & Senties 2005), Rio de Janeiro (Pedrini 1980, Figueiredo 1989, Figueiredo-Creed & Yoneshigye-Valentin 1997, Falcão *et al.* 1992, Pedrini *et al.* 1994, Széchy & Paula 1997, Gestinari *et al.* 1998, Brito *et al.* 2002, Széchy & Nassar 2005, Figueiredo & Tâmega 2007), Espírito Santo (Oliveira Filho 1969), ES, Ilha da Trindade (Pedrini *et al.* 1989, Nassar 1994), Bahia (Altamiro & Nunes 1997, Nunes 1998), Pernambuco (Pereira 1977, Cocentino 1994, Pereira *et al.* 2002), PE, Arquipélago de Fernando de Noronha (Széchy *et al.* 1989, Pedrini *et al.* 1992, Pereira *et al.* 1996), Ceará (Pinheiro-Joventino *et al.* 1998), Rio Grande do Norte (Paes e Mello & Pereira 1990), **Bermudas, Colômbia, Venezuela, Bahamas, Belize, Costa Rica, Panamá, Barbados, Ilhas Caicos, Ilhas Cayman, Cuba, Jamaica, Pequenas Antilhas, Puerto Rico, Trinidad, Ilhas Virgens** (Taylor 1960, Ganesan 1990, Littler & Littler 2000), **México** (Taylor 1960, Senties & Fujii 2002, Senties *et al.* 2009), **EUA, Flórida** (Taylor 1960), **Itália** (Furnari *et al.* 2001), **Malta** (Cormaci, *et al.* 1997), **Espanha** (Conde *et al.* 1996) e **Ilhas Canárias** (Gil-Rodríguez & Haroun 1993, Haroun & Gil-Rodríguez 1995), **França** (Feldmann 1943), **África** (Lawson & John 1987, Silva *et al.* 1996). **Oceano Índico: Índia, Sri Lanka, Indonésia, Bahrain, Irã, Kuwait, Qatar, Yemen** (Silva *et al.* 1996). **Oceano Pacífico: Filipinas** (Silva *et al.* 1987), **Austrália e Nova Zelândia** (Price & Scott 1992),

Japão (Titlyanov *et al.* 2006), **Vietnam** (Pham-Hoàng 1969). **Oceano Antártico: Antártica e Ilhas Subantárticas: Ilhas Antípodes** (Papenfuss 1964).

Plantas de coloração marrom-violácea a marrom-esverdeada formando almofadas frouxas ou fortemente compactas, de hábito parcialmente prostrado, com até 5 cm de altura, ou formando tufos eretos densos, com até 10 cm de altura. (Figs 406-408). Talos de consistência rígida, cartilagosos em textura, não aderindo ao papel de herbário quando secos. Fixação por apressório discóide do qual partem ramos arqueados e decumbentes, com 550-1400 µm de diâmetro, fixos secundariamente por rizóides ou apressórios discóides menores (Fig. 406). Ramos descendentes e estoloníferos podem ser produzidos a partir da porção inferior do talo (Figs 408, 409). Eixos eretos cilíndricos com ramificação unilateral, alterna-espiralada a irregular com 2-3 (-4) ordens de ramos, com 800-1600 µm de diâmetro nas porções medianas do talo. Ramos eretos densamente recobertos por numerosos râmulos curtos nas porções superiores do talo, comumente papiliformes. Râmulos de última ordem cilíndricos ou clavados a papiliformes com 800-3600 x 450-1125 µm.

Em vista superficial, células corticais ligeiramente alongadas radialmente nas porções superiores do talo; poligonais, isodiamétricas nas porções medianas, com 17,5-52,5 x 15-47,5 µm, e poligonais-alongadas nas porções inferiores. Ligações secundárias entre as células corticais adjacentes ausentes (Fig. 410). *Corps en cerise* ausentes. Em corte longitudinal mediano, células corticais não projetadas além da superfície do talo (Fig. 411). Em corte transversal, talo com uma ou duas camadas de células corticais pigmentadas e quatro a cinco camadas de células medulares hialinas (Fig. 412). Células corticais quadráticas a radialmente alongadas e arrançadas como paliçada, com 20-45 x 12,5-32,5 µm na porção mediana dos eixos principais (Figs 413, 414). O arranjo em paliçada pode faltar nos râmulos de última ordem. Células medulares arredondadas a ligeiramente alongadas radialmente, diminuindo gradativamente de tamanho em direção ao centro do talo, com 50-155 x 40-122,5 µm na porção mediana dos eixos principais. Paredes das células medulares uniformemente espessadas, mas sem espessamentos lenticulares. Cada segmento axial vegetativo produz duas células pericentrais (Figs 415, 428). No ápice dos ramos, a primeira célula pericentral é produzida abaixo da célula basal do tricoblasto (Fig. 429).

Plantas masculinas com râmulos férteis claviformes, caracteristicamente mais intumescidos que os demais, com 800-1600 µm de diâm. (Figs 416, 417). Em corte longitudinal, depressão espermatangial em forma de taça, com uma fileira de células axiais

discerníveis na base da depressão espermatangial (Fig. 418). Espermatângios produzidos por tricoblastos originados da célula axial próxima à célula apical, formados em densos grupos de filamentos ramificados dicotomicamente. Dois ramos laterais são formados sobre a célula suprabasal do tricoblasto, um deles permanece estéril, o outro torna-se fértil com numerosos espermatângios (Fig. 419). Ramos férteis terminados em uma única célula vesicular estéril com 22,5-37,5 x 17,5-35 μm ; spermatângios com um único espermácio ovóide, com 6,5-12,5 x 5-7,5 μm com um núcleo na extremidade de cada célula (Fig. 419).

Plantas femininas com procarpo desenvolvido a partir da célula basal do tricoblasto próximo à célula apical do râmulo. Procarpo com quatro células pericentrais, sendo que a quarta torna-se a célula suporte (Fig. 421) do ramo carpogonial com quatro células e dois grupos de células estéreis (basal e lateral) (Fig. 422). Desenvolvimento do procarpo é semelhante ao descrito para *L. aldingensis*. Filamentos gonimoblásticos formam inúmeros carposporângios terminais, cuneiformes alongados, com 105-200 μm x 25-55 μm , cuja liberação dos carpóporos ocorre através de abertura apical, o ostíolo. Cistocarpos piriformes, parcialmente imersos no talo e dispostos subapicalmente nos râmulos, com 700-1160 μm de diâm., com ostíolo proeminente (Figs 420, 423).

Ramos tetrasporangiais cilíndricos ou papiliformes, simples ou compostos, com 750-3000 x 650-1180 μm (Fig. 424). No ápice dos râmulos, cada segmento axial produz uma célula pericentral adicional em posição oposta às duas células pericentrais pré-existentes. A terceira adicional e a segunda células pericentrais tornam-se férteis e a primeira permanece vegetativa (Figs 425, 430). Cada célula pericentral fértil corta distalmente duas células pré-esporangiais de cobertura, a célula-mãe do tetrasporângio, abaxialmente, e uma célula pós-esporangial de cobertura (Fig. 426). A célula pós-esporangial se divide e contribui para a formação da corticação em volta do tetrasporângio. As células pré-esporangiais de cobertura permanecem indivisas e sem ligações secundárias entre elas. Em vista superficial do râmulo fértil, células pré-esporangiais estão alinhadas transversalmente em relação ao eixo do râmulo fértil. Os tetrasporângios são formados e deslocados da porção apical, no sentido horário à medida que novos tetrasporângios são produzidos, conferindo um arranjo final do tipo ângulo reto em relação ao eixo do râmulo fértil (Figs 424, 427). Tetrasporângios tetraedicamente divididos, com 50-117,5 μm em diâmetro.

Habitat: Plantas epilíticas crescendo da região entremarés ao infralitoral em locais protegidos ou expostos à forte arrebentação das ondas.

Material examinado: *Palisada perforata* BRASIL: Rio de Janeiro: Rio das Ostras, Areias Negras, 03.viii.2005, V. Cassano & M.B. Barros-Barreto (SP 371.777), Armação dos Búzios, Praia Rasa, 21.vii.2005, planta masculina, V. Cassano (SP 371.776); Parati, Praia Vermelha, 09.ii.2005, V. Cassano, HRJ 10906); 30.xii.2005, planta tetraspórica, V. Cassano (SP 371.774), Praia da Lula, 09.ii.2005, planta tetraspórica, V. Cassano (SP 371.775), 25.ii. 2007, planta masculina, feminina e tetraspórica, V. Cassano (HRJ 10908); Baía da Ilha Grande: Angra dos Reis, Ilha Grande: Praia da Feiticeira, 29.vii.2005, planta masculina, feminina e tetraspórica, V. Cassano & J.C. De-Paula (SP371.778); Praia da Júlia, 19.v.2004, planta tetraspórica, V. Cassano J.C. De-Paula (SP399.913), Ilha dos Macacos, 29.vii.2005, V. Cassano & J.C. De-Paula (SP399.914), Baía da Ribeira, Saco de Piraquara de Fora, Ponta do Arame, 22.vi.2006, planta tetraspórica, V. Cassano J.C. De-Paula (SP399.915). **MÉXICO: Quintana Roo:** Isla Mujeres, 19.ii.2006, A. Senties (UAMIZ 1040), 02.iii.2007, A. Senties & M.C. Gil-Rodríguez (UAMIZ 1041). **ESPANHA: Ilhas Canárias, Tenerife:** Punta del Hidalgo, 12.vii.2006, M.C. Gil-Rodríguez A. Senties & M.T. Fujii (TFC Phyc 13133); Puerto de la Cruz, San Telmo, 13.vii.2006, planta tetraspórica, M.C. Gil-Rodríguez, A. Senties, & M.T. Fujii (TFC Phyc 13170); **como *Palisada papillosa*: Rio de Janeiro:** Cabo Frio, Praia do Perú, 31.xii.2004, planta tetraspórica, J. Torres & L. Gestinari (SP371.780), Arraial do Cabo, Prainha, 27.vii.2005, V. Cassano & M.B. Barros-Barreto (HRJ 10899), Rio das Ostras, Areias Negras, 03.viii.2005, planta feminina e tetraspórica, V. Cassano & M.B. Barros-Barreto (SP 371.782); Praia da Joana, 02.viii.2005, V. Cassano & M.B. Barros-Barreto (SP 371.783); Armação dos Búzios, Praia Rasa, 13.i.2005, planta masculina, feminina e tetraspórica, V. Cassano & J.C. De-Paula (SP399.904), 01.ii.2006, V. Cassano (HRJ 10900); 10.viii.1994, M.B. Barros-Barreto (SP399.906) Baía da Ilha Grande: Angra dos Reis, Baía de Angra dos Reis, Praia das Gordas, 22.iii.2004, planta masculina, feminina e tetraspórica, M.T.M. Széchy (SP399.902), Tanguazinho, 23.vi.2004, planta tetraspórica, M.T.M. Széchy (SP399.903), Praia Brava, 23.x.2004, planta feminina e tetraspórica V. Cassano & J.C. De-Paula (SP371.779); Ilha do Bonfim, 13.xii.2006, V. Cassano, M.T.M. Széchy & M.T. Fujii (HRJ10904); Baía da Ribeira, Saco de Piraquara de Dentro, Ponta do Caiobá, 23.x.2004, V. Cassano (SP399.810), Saco de Piraquara de Fora, Praia do Velho, 22.i.2006, planta feminina, V. Cassano & M.T.M. Széchy (SP399.907), Ponta do Arame, 22.i.2006, V. Cassano & M.T.M. Széchy (SP399.908), 12.xii.2006, V. Cassano, M.T.M. Széchy & M.T. Fujii (HRJ10822), Ilha Grande, Praia da Feiticeira, 25.ii.2005, V. Cassano & J.C. De-Paula (SP399.909), Parati, Trindade, Praia do Meio, 08.ii. 2005, V. Cassano & José B. de Carvalho (HRJ 10903), Praia da Sapeca, 30.xii.2005, V. Cassano (SP371.781); Ilha do Mantimento, 25.ii.2007, V. Cassano

(HRJ 10836); Ilha Comprida, 25.ii.2007, V. Cassano (SP399.811), **como *Laurencia catarinensis*: Rio de Janeiro:** Parati, Praia de Trindade, 15.viii.1985, M.O. Figueiredo (RB 281836), 16.xi.1984, R.P. Reis (RB 220.499), Praia de Fora, 16.xi.1984, M.O. Figueiredo (RB281837), **como *Laurencia obtusa*: Rio de Janeiro:** Parati, Praia de Trindade, 16.xi.1984, M.O. Figueiredo (RB281838), **como *Laurencia microcladia*: Fernando de Noronha:** Boldeó, 27.x.1985, E.C. Oliveira (SPF51771), **como *Palisada papillosa*: ESPANHA: Ilhas Canárias, Tenerife:** Adeje, Playa Paraíso, 14.vii.2006, planta feminina, M.C. Gil-Rodríguez, A. Sentés & M.T.Fujii (TFC Phyc 13134).

Material adicional examinado: Isótipo: *Fucus papillosus* Forsskål (LD 36784).

Como *Chondrophyucus papillosus* (C. Agardh) Garbary & J. T. Harper. – **Itália.** Sicília, Siracusa, Brucoli, 29.v.1993, D. Serio (CAT-Sectio Algae 1698).

Materiais de outras espécies examinados para comparação:

Chondrophyucus thuyoides (Kützinger) G. Furnari – **Itália.** Sicília, Apulia, Gargano, outono 1997, 5 m de profundidade, Fanelli (CAT-Sectio Algae 1635).

Chondrophyucus patentirameus (Montagne) K.W. Nam – **Espanha.** Terragona, Delta del Ebro, 20.viii.1996, F. Boisset (CAT-Sectio Algae 1594).

Observações do material-tipo:

Fucus papillosus Forsskål

Isótipo: LD 36784

Figs 431-436.

O isótipo de *Fucus papillosus* (LD 36784) consiste em um espécime tetraspórico com 5,5 cm de altura, com ramificação alterna-espiralada a irregular e recoberto por inúmeros râmulos curtos, papiliformes, simples ou compostos (Figs 431-436). As células corticais não são conectadas entre si por ligações secundárias e são poligonais, isodiamétricas em vista superficial do talo. Em corte transversal dos râmulos, as células corticais são alongadas e arrançadas como paliçada (Figs 432, 433). O arranjo em paliçada não foi verificado em alguns râmulos de última ordem, cujas células são quadráticas (Fig. 434). Cada segmento tetrasporangial possui duas células pericentrais férteis (a segunda pré-existente, que se torna fértil, e a terceira adicional formada em posição oposta às pericentrais pré-existentes); a primeira célula pericentral permanece vegetativa (Fig.435). O arranjo dos tetrasporângios é em ângulo reto típico do gênero (Fig. 436).

Figs 406-411. *Palisada perforata* (Bory) K.W. Nam.

Fig 406-408. Hábito das plantas.

Fig. 406. Planta com hábito parcialmente prostrado com ramos arqueados fixos secundariamente por pequenos apressórios (setas). Note ramificação unilateral.

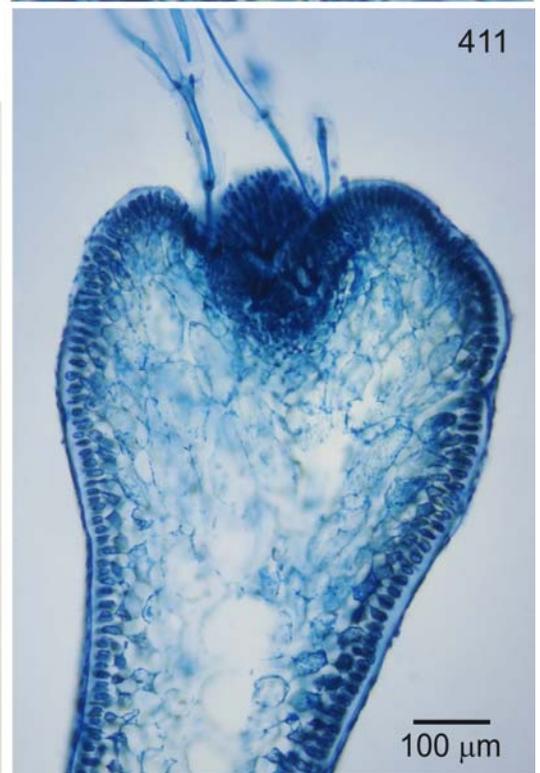
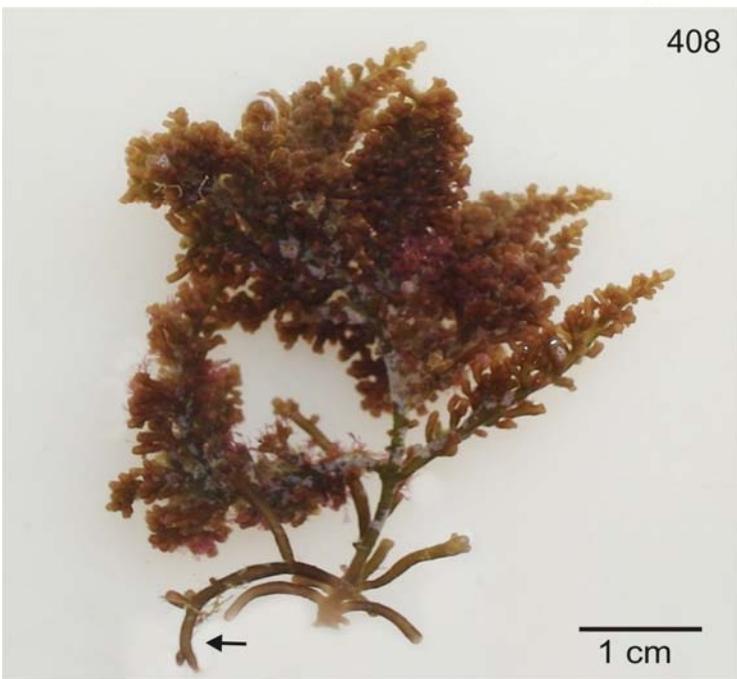
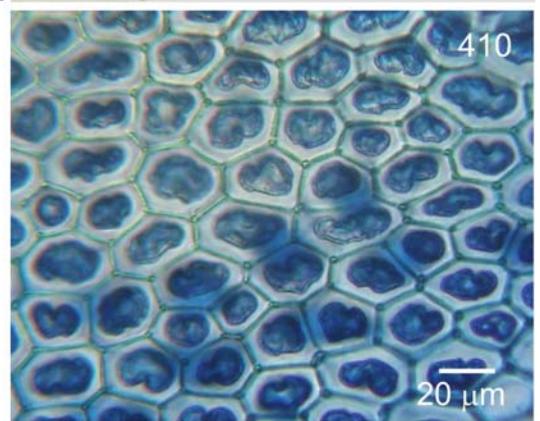
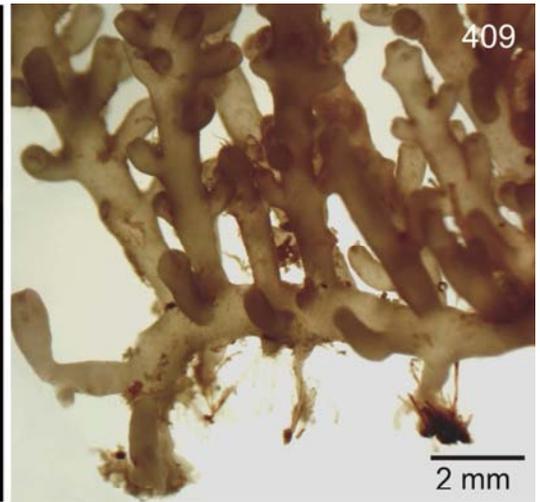
Fig. 407. Planta com hábito ereto formando tufos densos com ramificação radial.

Fig. 408. Planta mostrando porção basal com ramos descendentes fixos por apressórios menores (seta).

Fig. 409. Detalhe da porção basal formada por ramos estoloníferos.

Fig. 410. Vista superficial da porção apical do talo mostrando células corticais sem ligações secundárias.

Fig. 411. Corte longitudinal de um ramo mostrando células corticais com paredes não projetadas.



Figs 412-417. *Palisada perforata* (Bory) K.W. Nam.

Fig. 412. Corte transversal do talo mostrando duas camadas de células corticais pigmentadas e cinco camadas de células medulares.

Fig. 413. Detalhe das células corticais dos eixos principais mostrando células arranjadas em paliçada.

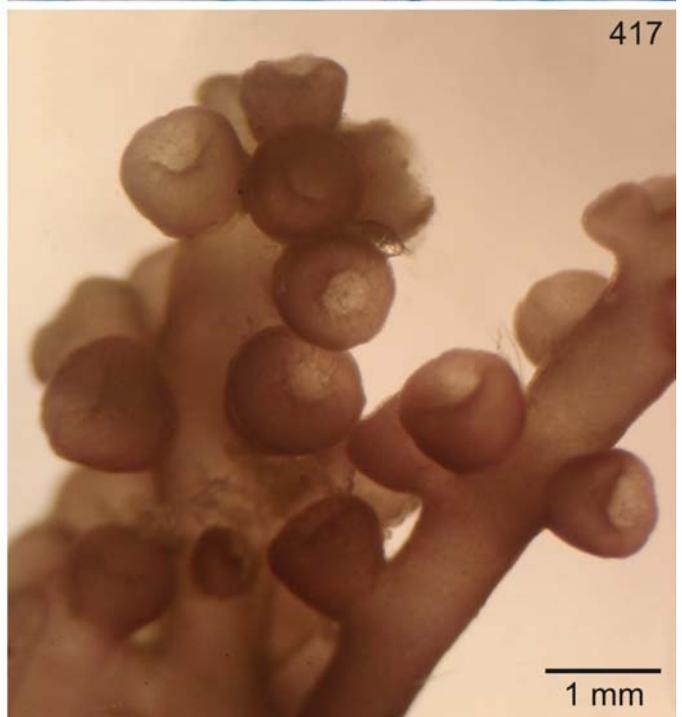
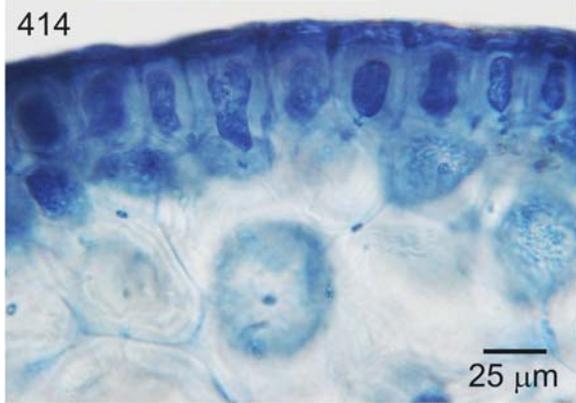
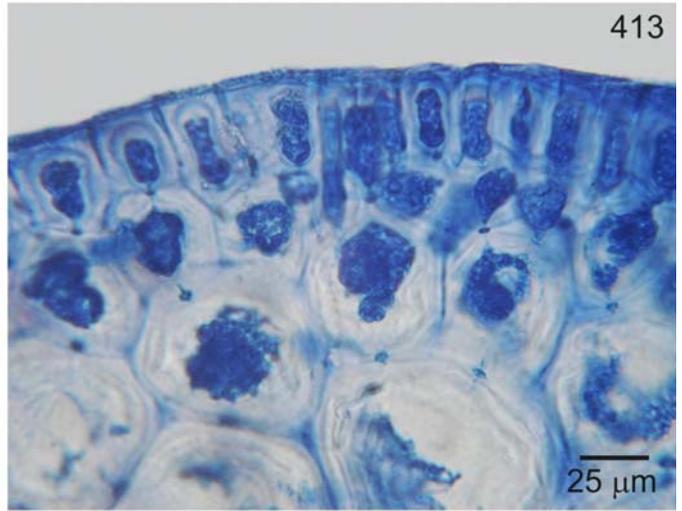
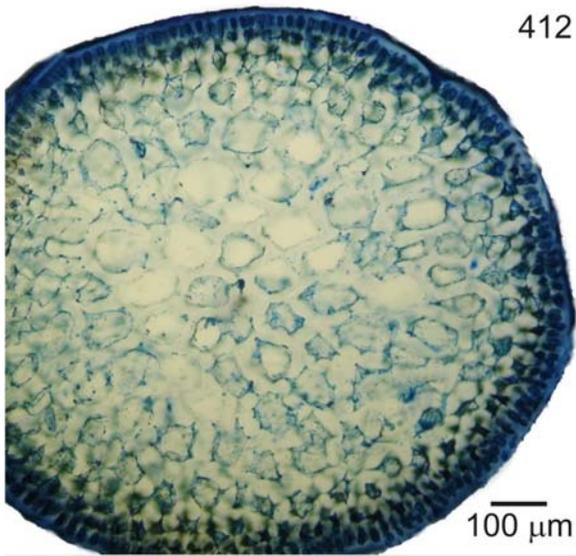
Fig. 414. Detalhe das células corticais dos râmulos de última ordem mostrando células arranjadas em paliçada.

Fig. 415. Corte transversal mostrando segmento axial vegetativo com duas células pericentrais (p) e célula axial (a).

Figs 416-417. Detalhe das plantas masculinas.

Fig. 416. Porção apical do talo com râmulos espermatangiais.

Fig. 417. Detalhe dos râmulos espermatangiais.



Figs 418-423. *Palisada perforata* (Bory) K.W. Nam.

Fig. 418. Corte longitudinal de um râmulo espermatangial mostrando depressão em forma de taça e fileira de células axiais discerníveis na base da depressão espermatangial (seta).

Fig. 419. Detalhe do filamento espermatangial mostrando ramos férteis (rep) e ramos estéreis (re) com espermatângios e células vesiculares estéreis.

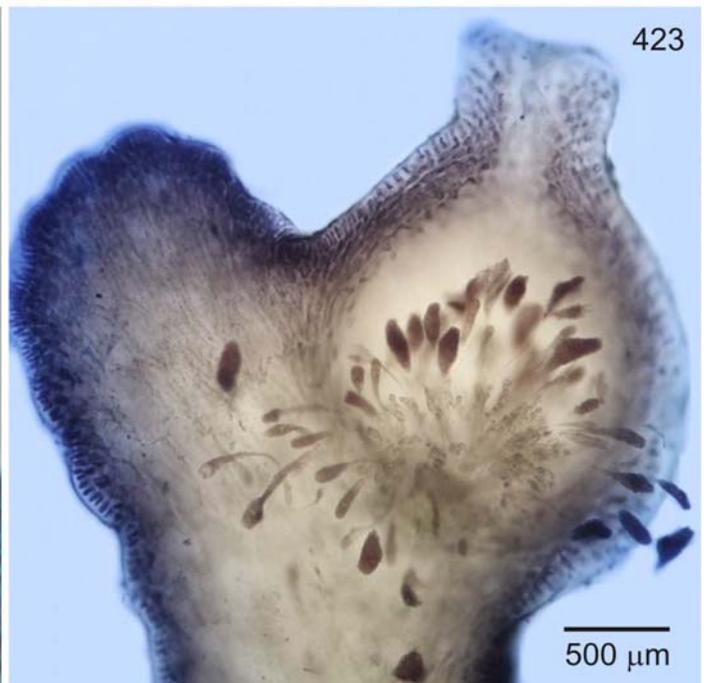
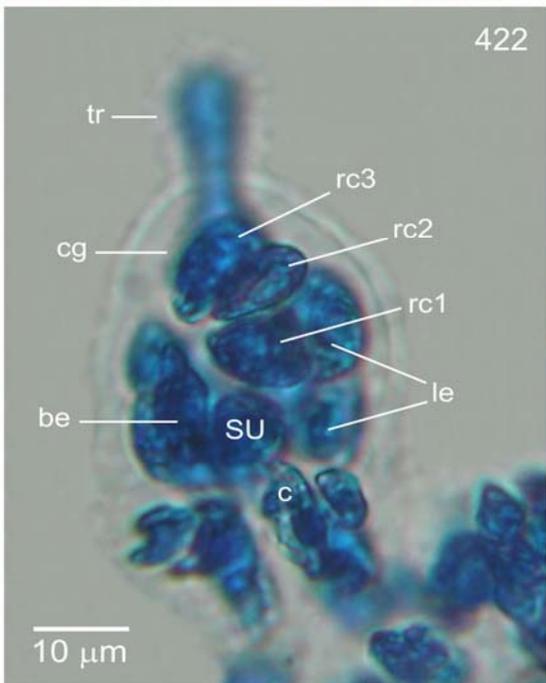
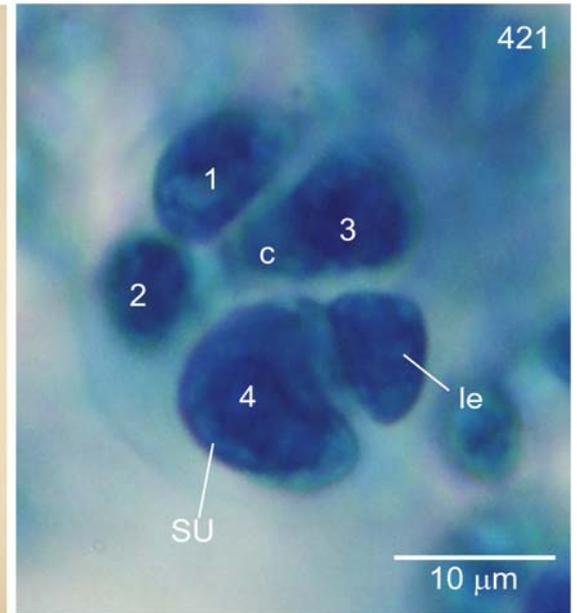
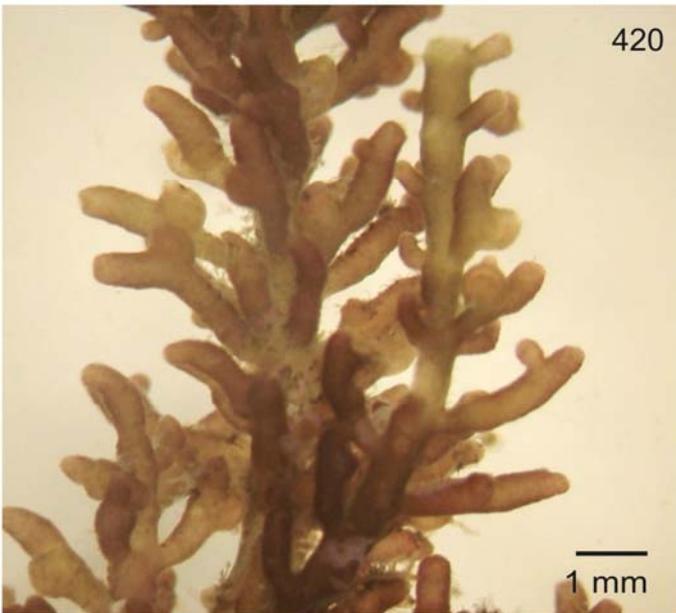
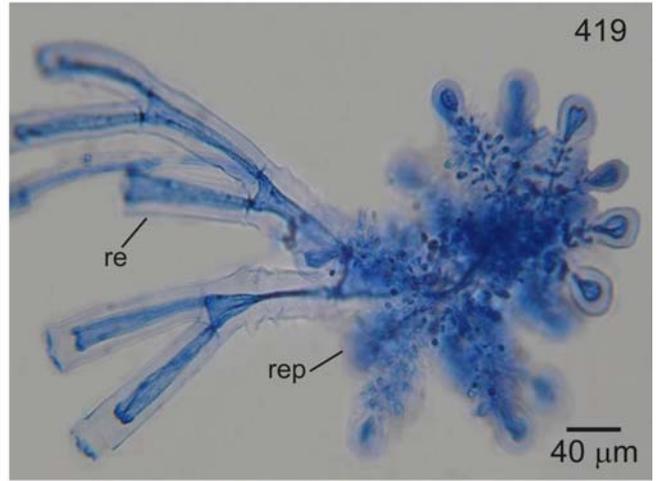
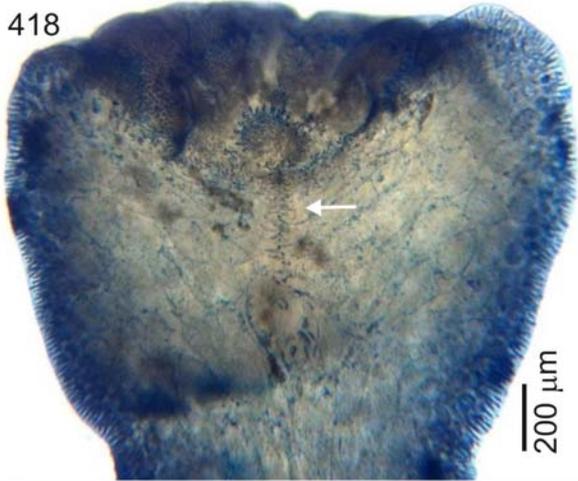
Figs 420-423. Detalhe das plantas femininas.

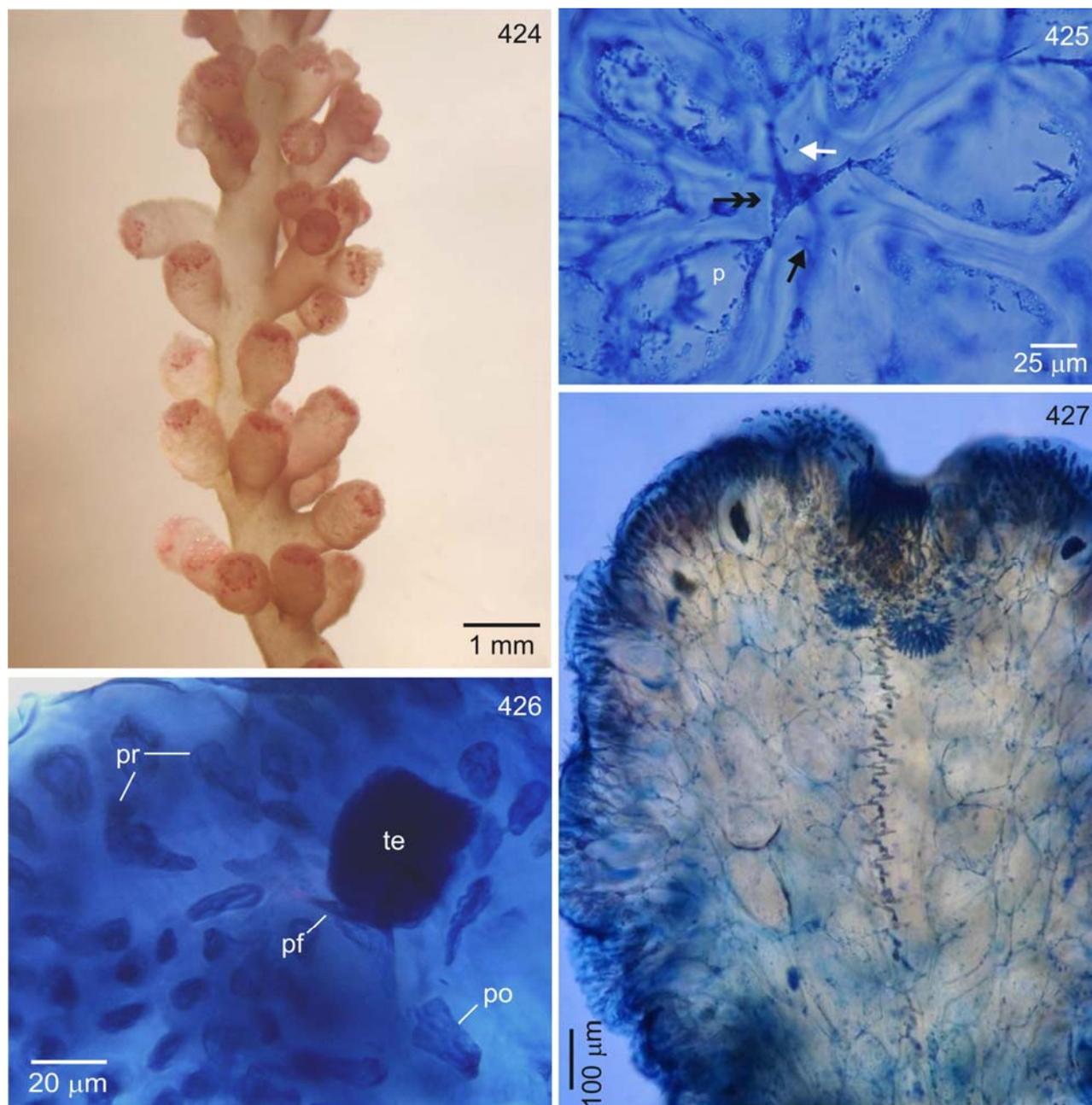
Fig. 420. Porção apical do talo mostrando ramos com cistocarpos.

Fig. 421. Procarpo com quatro células pericentrais, sendo a quarta a célula suporte (SU) do ramo carpogonial; célula central do segmento que origina o procarpo (c); célula inicial do grupo de células laterais estéreis (le).

Fig. 422. Procarpo antes da fertilização com ramo carpogonial com quatro células (rc1-3 e carpogônio, cg); tricogine (tr); grupo de células laterais estéreis (le); grupo de células basais estéreis (be).

Fig. 423. Corte longitudinal de um râmulo feminino com cistocarpo parcialmente imerso no talo e ostíolo proeminente.





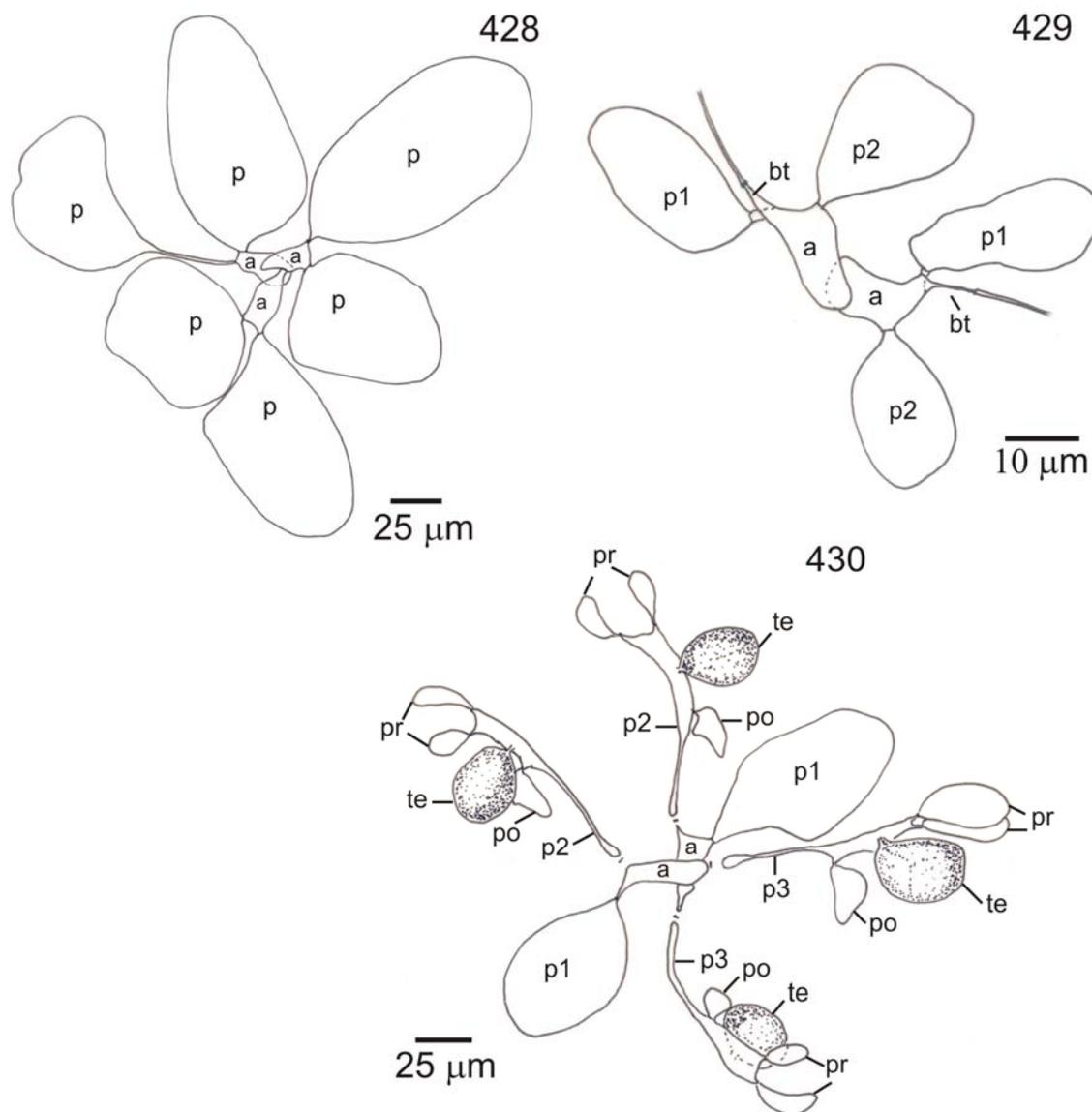
Figs 424-427. *Palisada perforata* (Bory) K.W. Nam.

Fig. 424. Porção apical do talo com râmulos tetrasporangiais.

Fig. 425. Corte transversal mostrando segmento tetrasporangial com duas células pericentrais férteis, uma adicional (seta branca), formada em posição oposta as duas pré-existentes; a segunda célula pericentral torna-se fértil (seta preta) e a primeira permanece vegetativa (p); célula axial (seta dupla).

Fig. 426. Detalhe da célula pericentral fértil (pf) com duas células pré-esporangiais de cobertura (pr), a inicial do tetrasporângio (te) e uma célula pós-esporangial de cobertura.

Fig. 427. Corte longitudinal mostrando arranjo em ângulo reto dos tetrasporângios.



Figs 428-429. *Palisada perforata* (Bory) K.W. Nam.

Fig. 428. Corte transversal da porção apical de um ramo mostrando três segmentos axiais com duas células pericentrais (p) e célula axial (a).

Fig. 429. Corte transversal próximo ao ápice de um râmulo mostrando dois segmentos axiais vegetativos com célula axial (a) e células pericentrais (p1-p2) com a primeira célula pericentral (p1) produzida ao abaixo da célula basal do tricoblasto (bt).

Fig. 430. Representação esquemática de um corte transversal próximo ao ápice de um râmulo mostrando dois segmentos tetrasporangiais sobrepostos com uma célula pericentral fértil adicional, a terceira (p3), formada em posição oposta às duas pré-existentes; a segunda pericentral torna-se fértil (p2) e a primeira permanece vegetativa (p1); tetrasporângios (te); duas células pré-eporangiais de cobertura (pr); uma pós-eporangial de cobertura (po).

Figs 431-436. *Fucus papillosus* Forsskål. Isótopo (LD 36784).

Fig. 431. Hábito da planta.

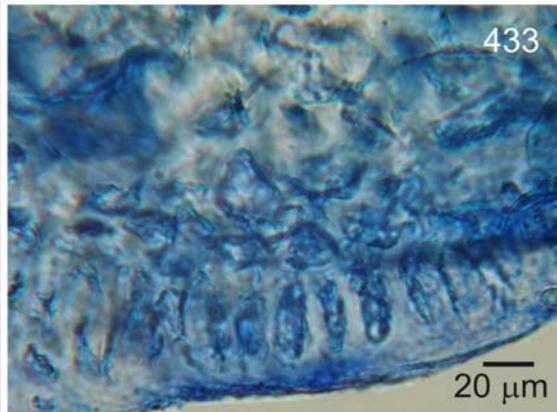
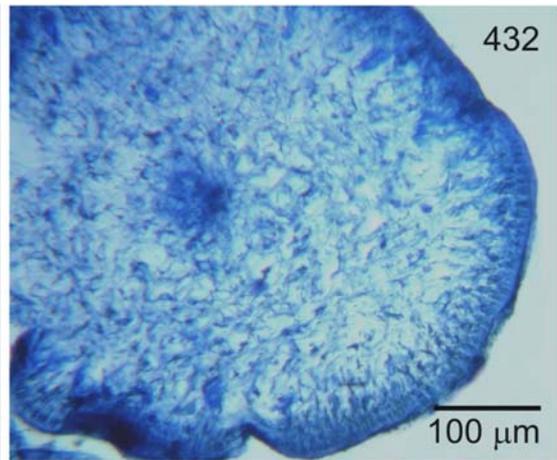
Fig. 432. Corte transversal do talo.

Fig. 433. Detalhe das células corticais dos râmulos de última ordem mostrando arranjo em paliçada.

Fig. 434. Detalhe das células corticais dos râmulos de última ordem mostrando células quadráticas, sem arranjo em paliçada.

Fig. 435. Corte transversal mostrando segmento tetrasporangial com duas células pericentrais férteis, uma adicional (seta branca), formada em posição oposta as duas pré-existentes; a segunda célula pericentral torna-se fértil (seta preta) e a primeira permanece vegetativa (p); célula axial (seta dupla).

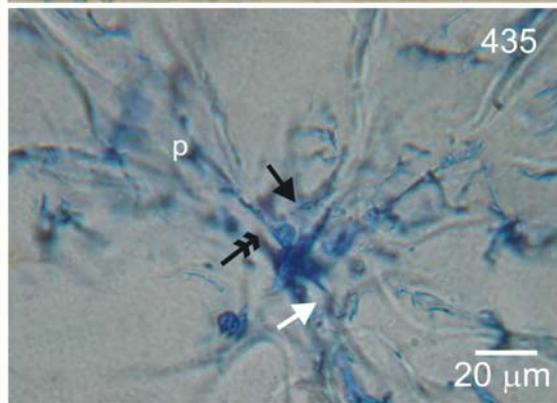
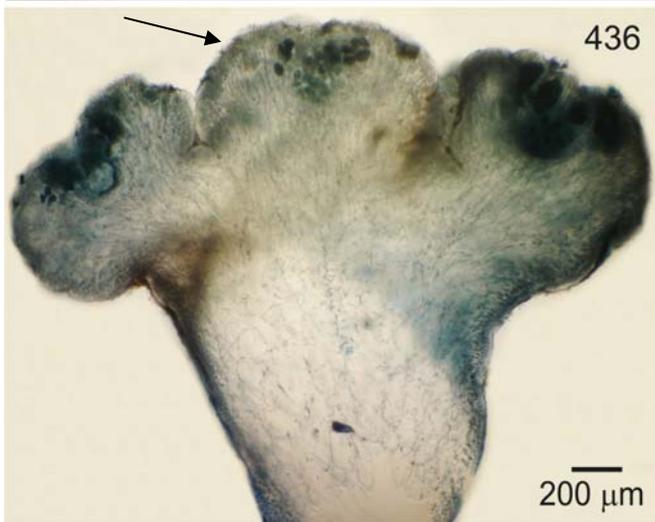
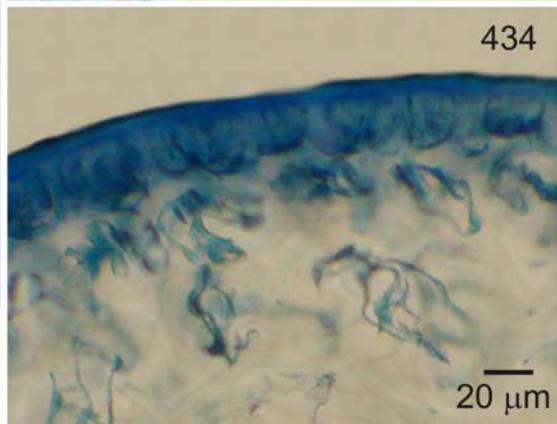
Fig. 436. Corte longitudinal mostrando arranjo em ângulo reto dos tetrasporângios (seta).



Fucus papillosus. Forssk.
 ex reliquiis Forsskalæanis
 Hafnia.
 (P.M. 1821)

36784 seems to be intended (P. Lassen 1989)

ISOTYPE OF: *Fucus papillosus* Forsskål
 Fl. aegypt.-arab. 190. 1775.
 = *Chondria papillosa* C. Agardh nom. nov.
 Species algarum 1(2): 344. 1822.
 Not *Fucus papillosus* S. G. Gmelin
 Historia fucorum 188. 1768.
 H. P. Calumpong, 1988.



Comentários

Palisada perforata foi primeiramente proposta como *Fucus perforatus* por Bory (1803) a partir de material coletado em Tenerife, Ilhas Canárias, Espanha. A espécie é morfologicamente relacionada com *Palisada papillosa*, descrita originalmente como *Fucus papillosus* por Forsskål (1775) para o Mar Vermelho.

As espécies foram transferidas para o gênero *Laurencia*: *Laurencia perforata* (Bory) Montagne (1840) e *L. papillosa* (C. Agardh) Greville (1830), seguindo a circunscrição do gênero dada por Lamouroux (1813). Garbary & Harper (1998) ao elevarem o subgênero *Chondrophyucus* em nível de gênero, transferiram *L. papillosa* para *Chondrophyucus*, propondo a nova combinação: *Chondrophyucus papillosus* (C. Agardh) Garbary & J.T. Harper. A mudança nomenclatural de *Laurencia perforata* para *Chondrophyucus* foi efetivada por Nam (1999) com a nova combinação *Chondrophyucus perforatus* (Bory) K.W. Nam. Com o estabelecimento do gênero *Palisada*, as duas espécies foram transferidas para o novo gênero por Nam (2006, 2007): *Palisada papillosa* (C. Agardh) K.W. Nam e *P. perforata* (Bory) Nam.

Palisada perforata e *P. papillosa* eram diferenciadas pela morfologia externa: talo formando “turf”, com ramos arqueados terminados em pequenos apressórios e ramificação unilateral em *P. perforata*, e talo formando tufos isolados, fixos por ramos estoloníferos e ramificação radial em *P. papillosa*. Internamente, o arranjo em paliçada das células corticais era considerado diagnóstico para a separação das espécies, presente em *P. perforata* e ausente em *P. papillosa* (Nam 2006).

Yamada (1931) incluiu as duas espécies na seção *Palisadae* Yamada pelo arranjo em paliçada das células corticais, confirmado pelo exame de ambos os holótipos: *Fucus perforatus*, herbário de Thuret, Paris e *F. papillosus*, herbário de Forsskål, Copenhagen. Entretanto, Nam & Saito (1991b) re-examinaram o holótipo de *P. papillosa* e verificaram que a camada em paliçada das células corticais não era claramente visível nos râmulos de última ordem, em seção transversal. Mais tarde, Nam (1999) elevou a seção *Palisadae* em nível subgenérico (subgênero *Palisada* K.W. Nam) e transferiu *P. papillosa* para a seção *Papillosae* J. Agardh *emend.* K.W. Nam pela ausência de células corticais em paliçada. Por outro lado, Masuda *et al.* (1997b) e Furnari *et al.* (2001) argumentaram que células corticais em paliçada estão presentes nos eixos principais, ramos indeterminados e râmulos de última ordem em *P. papillosa*, embora elas possam faltar nesses últimos. Em detrimento aos argumentos acima, Nam (2006) manteve esta característica como distintiva entre *P. papillosa* e *P. perforata*.

Nossos resultados confirmaram a presença de células corticais em paliçada em ambas as espécies, embora elas possam faltar em *P. papillosa*, conforme verificado por Masuda *et al.* (1997b) e Furnari *et al.* (2001). O exame do isótipo de *Fucus papillosus* (LD 36784) mostrou que o material tipo está de acordo com os espécimes do Brasil, Ilhas Canárias e México analisados neste estudo. O isótipo mostrou igualmente ramos com e sem células corticais em paliçada (Figs 433, 434), o que indica que este critério não é aplicável para separação dessas duas espécies.

As diferenças observadas no hábito de *P. papillosa* e *P. perforata* parecem estar relacionadas às condições ambientais. As espécies são reconhecidamente polimórficas e comumente assumem a morfologia de “turf” quando crescem na região do mesolitoral em áreas expostas à forte ação das ondas (Fujii & Senties 2005). O sistema basal usado para separar as espécies é variável. Os ramos semelhantes a estolão podem faltar em *P. papillosa* e os ramos basais originados das porções inferiores dos eixos eretos podem assumir um hábito arqueado e se fixar por apressórios menores, como ocorre em *P. perforata*. Fujii & Senties (2005), após estudo comparativo dessas espécies, já haviam sugerido que os espécimes de *P. perforata* e *P. papillosa* do Brasil eram variações morfológicas de uma mesma espécie.

A comparação morfológica entre as espécies de *Palisada* consideradas neste estudo é mostrada na Tabela 11. *Palisada perforata* e *P. papillosa* compartilham as seguintes características: primeira célula pericentral produzida abaixo da célula basal do tricoblasto, presença de arranjo em paliçada das células corticais, produção de duas células pericentraes férteis nos segmentos tetrasporangiais, ramos espermatangiais produzidos sobre a célula suprabasal do tricoblasto, sendo que apenas um ramo lateral se torna fértil, o outro permanece estéril, e procarpo com quatro células pericentraes. Embora, a espécie já tenha sido amplamente reportada para várias regiões do mundo, detalhes do procarpo foram descritos pela primeira vez por Cassano *et al.* (2009).

As análises filogenéticas confirmaram que *P. perforata* e *P. papillosa* constituem uma mesma entidade taxonômica com os espécimes do Brasil, México, Ilhas Canárias e Flórida apresentando baixa variação genética entre as sequências do *rbcL* (Fig. 437, pág. 262). *Palisada papillosa*-*P. perforata* é monofilético com alto suporte em todas as análises realizadas com o *rbcL* e com suporte de moderado a alto com o *cox1*, tendo *P. papillosa* da Baja Califórnia, México (Oceano Pacífico) maior divergência genética em relação aos espécimes do Atlântico (Figs 438-440, págs 264-268).

Tabela 11. Comparação das espécies de *Palisada* (Yamada) K.W. Nam consideradas no estudo morfológico e filogenético¹.

Espécies/ Características	Fixação	Ramos arqueados	Posição da 1ª. célula pericentral relativa ao tricoblasto	Ligações secundárias	Arranjo das células corticais em CT	Projeção das paredes das células corticais	Ramos Espermatangiais	Número de células pericentraes no procarpo	Posição das células pericentraes tetrasporangiais	Células pericentraes estéreis nos eixos tetrasporangiais	Referências
<i>Palisada patentiramea</i>	Disco e estolão	Ausente	Abaixo ²	Ausente	NPD	Ausente	REL	4P	2 ^a	IPE	Boisset <i>et al.</i> (2000) Furnari <i>et al.</i> (2001)
<i>P. thuyoides</i>	Disco	Ausente	Abaixo ²	Ausente	PD	Ausente	?	?	2 ^a	IPE	Boisset <i>et al.</i> (2000) Furnari <i>et al.</i> (2001)
<i>P. corallopsis</i>	Disco	Ausente	?	Ausente	PD	Ausente	?	?	2 ^a , 3 ^a , 4 ^{a*}	IPE	Fujii & Senties (2005) Senties & Díaz-Larrea (2008)
<i>P. flagellifera</i>	Disco	Ausente	Ao lado	Ausente	PD	Ausente	REL	4P	2 ^a , 3 ^a , 4 ^{a*}	IPE	Fujii <i>et al.</i> (2006) Nam (2006) Este estudo
<i>P. papillosa</i>	Disco e estolão	Ausente (raramente presente)	Abaixo	Ausente	PD	Ausente	REL	4P	2 ^a , 3 ^{a*}	IPE	Wynne <i>et al.</i> (2005) Nam (2006) Este estudo
<i>P. perforata</i>	Disco e fixação secundária nos ramos arqueados	Presente	Abaixo	Ausente	PD	Ausente	REL	4P	2 ^a , 3 ^{a*}	IPE	Wynne <i>et al.</i> (2005) Nam (2006) Este estudo
<i>P. poiteaui</i> var. <i>poiteaui</i>	Disco	Ausente	?	Presente	NPD	Ausente	?	5P	2 ^a , 3 ^a , 4 ^{a*}	IPE	Fujii <i>et al.</i> (1996) Fujii & Senties (2005)
<i>P. poiteaui</i> var. <i>gemmifera</i>	Disco	Ausente	?	Presente	NPD	Apiculada	?	5P	2 ^a , 3 ^a , 4 ^{a*}	IPE	Fujii <i>et al.</i> (1996) Fujii & Senties (2005) Senties & Díaz-Larrea (2008)

¹Modificado de Nam (1999). ²Interpretado a partir das ilustrações de Boisset *et al.* (2000); CT, corte transversal; NPD, não em paliçada; PD, em paliçada; P, células pericentraes; PE, célula pericentral estéril; REL, ramos espermatangiais laterais - produzidos a partir de apenas um ramo lateral do tricoblasto; ?, desconhecido; *, produzida adicionalmente.

As similaridades morfológicas e os dados moleculares apóiam a coespecificidade de *P. papillosa* com *P. perforata*, conforme proposta por Cassano *et al.* (2009). Considerando os critérios estabelecidos por Nam (2006) para o gênero *Palisada* e as evidências apresentadas nas análises filogenéticas, Cassano *et al.* (2009) propuseram ainda as seguintes mudanças nomenclaturais para duas espécies de *Chondrophycus*, que foram transferidas para o gênero *Palisada*:

Palisada patentiramea (Montagne) Cassano, Senties, Gil-Rodríguez & M.T. Fujii comb. nov.
Basiônimo: *Chondria obtusa* (Hudson) C. Agardh var. *patientiramea* Montagne (1836, vol 6, 322, pl. 18, fig. 3).

Sinônimos: *Chondrophycus patientirameus* ['*patientiramea*'] (Montagne) K.W. Nam (1999: 463); *Laurencia patientiramea* (Montagne) Kützing (1849: 854); *Laurencia obtusa* var. *patientiramea* (Montagne) Rabenhorst (1847: 155).

Palisada thuyoides (Kützing) Cassano, Senties, Gil-Rodríguez & M.T. Fujii comb. nov.

Basiônimo: *Laurencia thuyoides* Kützing (1865, vol. 15, 26, pl. 74, figs a, b).

Sinônimos: *Chondrophycus thuyoides* (Kützing) G. Furnari (*in* Furnari *et al.* 2001: 341, figs 1-3); *Chondrophycus paniculatus* (C. Agardh) G. Furnari (*in* Boisset *et al.* 2000: 392, figs 18-23); *Chondria obtusa* var. *paniculata* C. Agardh (1822: 343); *Laurencia obtusa* var. *paniculata* (C. Agardh) Zanardini (1847: 20); *Laurencia paniculata* (C. Agardh) J. Agardh (1852: 755) *nom illeg.* [Homônimo posterior de *L. paniculata* Kützing (1849: 855)].

3.1.4. Comparação das principais características morfológicas das espécies estudadas

As principais características morfológicas consideradas de valor diagnóstico são comparadas entre as espécies estudadas na Tabela 12.

Tabela. 12. Comparação das principais características morfológicas das espécies do complexo *Laurencia* estudadas¹.

Espécies / Características	Número de células pericentrais por segmento axial vegetativo	Posição da 1ª célula pericentral relativa ao tricoblasto	Ligações secundárias	Arranjo das células corticais em CT	Projeção das paredes das células corticais	Espessamentos lenticulares	Ramos Espermatangiais	Número de células pericentrais no procarpo	Posição das células pericentrais tetrasporangiais	Células pericentrais estéreis nos eixos tetrasporangiais	Arranjo dos tetrasporângios nos rêmulos férteis
<i>Laurencia aldingensis</i>	4	Abaixo	Presente	NPD	Ausente	Ausente	REL	5P	(2 ^a) 3 ^a , 4 ^a	(1) 2PE	Paralelo
<i>L. caduciramulosa</i>	4	Abaixo	Presente	NPD	Presente	Presente (abundantes)	-	-	-	-	-
<i>L. catarinensis</i>	4	Abaixo	Presente	NPD	Presente (ligeira ou distintamente projetadas)	Ausente	REL	? ²	3 ^a , 4 ^a	2PE	Paralelo
<i>L. dendroidea</i>	4	Abaixo	Presente	NPD	Presente (ligeira ou distintamente projetadas) ou ausente	Presente ou ausente	REL	5P	4 ^a	1PE	Paralelo
<i>L. oliveirana</i>	4	Abaixo	Presente	NPD	Ausente	Presente	REL	5P	3 ^a , 4 ^a	2PE	Paralelo
<i>Laurencia</i> sp.1	4	Abaixo	Presente	NPD	Ausente	Presente (abundantes)	REL	5P	3 ^a , 4 ^a	2PE	Paralelo
<i>L. translucida</i>	2	Ao lado	Ausente	NPD	Ausente	Ausente	REL	5P	3 ^{a*} , 4 ^{a*}	2PE	Paralelo
<i>P. flagellifera</i>	2	Ao lado	Ausente	PD	Ausente	Ausente	REL	4P	2 ^a , 3 ^{a*} , 4 ^{a*}	1PE	Ângulo reto
<i>P. perforata</i>	2	Abaixo	Ausente	PD	Ausente	Ausente	REL	4P	2 ^a , 3 ^{a*}	1PE	Ângulo reto

¹Modificado de Nam (1999). CT, corte transversal; NPD, não em paliçada; PD, em paliçada; P, células pericentrais; PE, células pericentrais estéreis; REL, ramos espermatangiais laterais - produzidos a partir de somente um ramo lateral do tricoblasto; ?, desconhecido; ²provavelmente 5P; *, produzida adicionalmente.

3.2. Filogenia Molecular

3.2.1. Análises filogenéticas

Neste trabalho foi obtido um total de 94 sequências de marcadores moleculares a partir do gene *rbcL*/região espaçadora (*rbcL*-S) e do gene *cox1*. O gene *rbcL* foi completamente sequenciado (1467 pb) para as 48 amostras estudadas, enquanto o espaçador *rbcL*-S foi completamente sequenciado para 67% das amostras (118 pb); as 33% restantes estão incompletas (Tab. 3, pág. 30; anexo 1). Foram verificados indels no *rbcL*-S nas posições 1503-1510 e 1523-1538. A região 5' do gene *cox1* foi completamente sequenciada (710 pb) para 45 amostras e apenas para *Palisada papillosa* (Baja Califórnia, México) a sequência que está incompleta (599 pb) (Tab. 3, pág. 30; anexo 2).

Para a análise filogenética baseada apenas no *rbcL* foi gerada uma matriz de alinhamento com 86 sequências (1448 pb), incluindo as obtidas neste estudo e as retiradas do GenBank. Nesta análise, 477 sítios foram filogeneticamente informativos para parcimônia. Para a análise do *cox1* foi gerada uma matriz de alinhamento com 46 sequências (665 pb), onde 146 sítios foram filogeneticamente informativos para parcimônia.

Foram feitas ainda análises onde foram combinados os três marcadores, *rbcL*, espaçador *rbcL*-S e *cox1*, geradas a partir de 45 amostras. Para cada uma das 45 amostras de algas foram obtidas sequências para os três marcadores. A matriz de alinhamento resultou em 2229 pb, com as posições de 1-1564 referentes ao gene *rbcL* e ao espaçador *rbcL*-S e de 1565-2229, ao gene *cox1*. Nesta análise, 451 sítios foram informativos para parcimônia. Para fins de comparação das topologias das árvores foram feitas, com as mesmas 45 amostras, análises individuais do *rbcL/rbcL*-S (1564 posições, 305 sítios parcimoniosamente informativos) e do *cox1* (665 posições, 146 sítios parcimoniosamente informativos).

3.2.1.1. Análises do *rbcL*. Para a matriz do *rbcL* com 86 sequências (1448 pb) foram geradas árvores de máxima parcimônia (MP), de distância (NJ) e de análise bayesiana. Três Rhodomelaceae [*Bostrychia radicans* (Montagne) Montagne, *Chondria collinsiana* M.A. Howe e *C. dasyphylla* (Woodwar) C. Agardh] e duas Ceramiaceae [*Centroceras* sp. (como *C. clavulatum* (C. Agardh) Montagne e *Ceramium brevizonatum* H.E. Petersen)] foram utilizadas como grupos externos. A Figura 437 mostra a árvore consenso de análise bayesiana gerada com valores de

probabilidade posterior (PP) e bootstrap para MP e NJ representados nos ramos. Essa análise mostrou que o complexo *Laurencia* é monofilético com suporte moderado de bootstrap (73% MP e 80% NJ), mas com PP de 100% (indicado como número 1 na Fig. 437) em relação aos táxons utilizados como grupos externos.

O gênero *Osmundea* é monofilético e foi o mais basal da topologia com alto suporte para as três análises (número 2). O grupo formado por *Osmundea* se dividiu em dois subgrupos separados geograficamente: o primeiro (2a), com baixo suporte, é representado pelas espécies do Atlântico Norte, enquanto o segundo (2b), com alto suporte, corresponde às espécies do Pacífico Norte.

O grupo monofilético formado pelos gêneros *Palisada* e *Laurencia* (3) apresentou alto suporte apenas para a análise bayesiana (94% PP). O primeiro ramo (3a), com suporte moderado a alto, agrupou *Palisada* II com *L. flexilis* (*Laurencia* III), uma espécie não encontrada no Brasil. Dentro do grupo *Palisada* II, as relações entre as espécies de *Palisada* e *Chondrophycus* foram bem resolvidas com suporte de moderado a alto. O segundo ramo (3b) que incluiu *Laurencia* I, *Laurencia* II e *Palisada* I apresentou suporte apenas na análise bayesiana (93% PP).

O grupo *Laurencia* II é monofilético com alto suporte para todas as análises e é representado apenas por linhagens do Atlântico, incluindo *L. marilzae* das Ilhas Canárias e *Laurencia* spp. do Brasil e Caribe mexicano. Na análise bayesiana, *Laurencia* II se apresenta como um grupo irmão de um outro agrupamento maior formado por *Palisada* I e *Laurencia* I (4, 91% PP). O grupo *Palisada* I é monofilético apresentando alto suporte para as três análises e é formado apenas pelas duas variedades de *P. poiteaui* encontradas no Caribe e Golfo do México. Entretanto, o posicionamento de *Laurencia* II e *Palisada* I foi instável e não pôde ser resolvido nas análises de MP e NJ.

Laurencia I é monofilético e incluiu 40 táxons, mas apresentou baixo suporte nas análises de MP e NJ e suporte moderado na análise bayesiana (93% PP) (4b). Nesse agrupamento *L. complanata* é basal, seguida de dois subgrupos: o primeiro, com alto suporte para todas as análises, é formado apenas por espécies do Atlântico sob as denominações de *L. arbuscula*, *L. majuscula*, *L. obtusa*, *L. filiformis* e *L. cf. filiformis*; o segundo subgrupo incluiu várias espécies de *Laurencia* de diferentes localizações geográficas. As relações dentro deste último subgrupo foram parcialmente resolvidas e pôde-se distinguir 4 outros subgrupos: i. *Laurencia caraibica* do México divergindo na base; ii. Um subgrupo com melhor suporte bayesiano (100% PP), formado

por *Laurencia* sp.1 do Brasil e espécies que ocorrem no Atlântico Norte, Golfo do México e Caribe; iii. Um subgrupo formado por *L. aldingensis*, *L. intricata*/*L. catarinensis* do Brasil e *L. intricata* das Ilhas Canárias, com alto suporte para todas as análises e iv. Um subgrupo que se dividiu em dois: *L. translucida* e *L. cf. brongniartii*, sem suporte para as análises geradas; e *L. flexuosa* como espécie basal, que é separada de outras seis espécies de *Laurencia*, na maioria de pequeno porte, com melhor suporte na análise bayesiana (100% PP). *Laurencia caraibica* do Brasil se manteve distante filogeneticamente de *L. caraibica* do México.

3.2.1.2. Análises do *cox1*, *rbcL/rbcL-S* e combinada entre os marcadores. Para a análise do *cox1*, do *rbcL/rbcL-S* e da combinada com os três marcadores foram geradas árvores de MP, NJ, máxima verossimilhança (ML) e de análise bayesiana. *Chondria collinsiana* foi utilizada como grupo externo. Nestas análises nenhum representante de *Osmundea* foi incluído por falta de sequências disponíveis do *cox1*. As Figs 438, 439 e 440 mostram, respectivamente, as árvores consenso de MP para o *cox1*, de ML para o *rbcL/rbcL-S* e combinada, geradas com valores de bootstrap de MP, NJ, ML e PP representados nos ramos.

Nas árvores do *rbcL/rbcL-S* (Fig. 439) e combinada (Fig. 440), a topologia foi semelhante formando dois grupos monofiléticos, representados pelos gêneros *Palisada* e *Laurencia*. Na árvore do *cox1* (Fig. 438), três grupos se formaram: *Palisada*, *Laurencia* e um terceiro grupo formado por duas espécies não identificadas de *Laurencia* (*Laurencia* sp.2 e *Laurencia* sp.3).

Nas análises do *rbcL/rbcL-S* e combinada, o gênero *Palisada* foi bem sustentado por altos valores de bootstrap e PP, enquanto que na análise do *cox1* o gênero apresentou suporte de moderado a alto, sem suporte para ML. Nas árvores consenso, *Palisada perforata* e *P. papillosa* formaram um grupo monofilético com suporte moderado a alto, com *P. papillosa* da Baja Califórnia, México (Oceano Pacífico), basal em relação aos demais representantes do Atlântico. *Chondrophyucus furcatus* se agrupou com *Palisada* com suporte moderado a alto em todas as análises realizadas.

Nas análises do *rbcL/rbcL-S* e combinada, o gênero *Laurencia* apresentou suporte baixo a alto, com melhor suporte bayesiano (99% PP) nas duas análises. Dois grupos monofiléticos foram formados dentro do agrupamento de *Laurencia*, sendo o mais basal representado pelos táxons *Laurencia* sp.2 e *Laurencia* sp.3, bem sustentado em todas as análises, e separado de um grupo maior formado por todas as outras espécies de *Laurencia* estudadas. Essas espécies se

dividiram em três grupos distintos: i. um grupo foi formado por *Laurencia caduciramulosa* e *L. oliveirana* apresentando maior suporte bayesiano (100%) nas duas análises; ii. Um segundo grupo formado por *L. aldingensis* e *L. intricata/L. catarinensis*, bem sustentado em todas as análises e iii. Um terceiro grupo, com suporte moderado a baixo, dividido em dois subgrupos monofiléticos, sendo o basal representado por *Laurencia* sp.1 do Brasil e *L. intricata* de Cuba, e o outro representado apenas por *L. dendroidea*, sob diferentes denominações: *L. arbuscula*, *L. majuscula*, *L. obtusa* e *L. filiformis*.

Na análise do *cox1*, o gênero *Laurencia* apresentou suporte apenas para MP (85%). O grupo formado por *Laurencia* sp.2 e *Laurencia* sp.3 não se agrupou com as demais espécies do gênero e apresentou melhor suporte bayesiano (100%). As demais espécies de *Laurencia* se dividiram em quatro grupos com suporte de moderado a alto. O primeiro grupo incluiu apenas *L. caduciramulosa*, o segundo agrupou *L. aldingensis* e *L. intricata/L. catarinensis*, o terceiro foi representado apenas por *Laurencia* sp.1, que se manteve como um ramo isolado, enquanto o quarto agrupou *L. dendroidea*. Nesta análise, o posicionamento de *L. oliveirana* e *L. intricata* de Cuba não foi resolvido.

A divergência entre as sequências do *rbcL* obtidas neste estudo foi analisada para um total de 49 amostras e a matriz de identidade (1448 posições) é mostrada no anexo 3. Os valores de divergência entre *Chondria collisiana*, utilizada como grupo externo, e as espécies do complexo *Laurencia* estudadas variaram de 11% (159 nt divergentes) a 12,2% (176 nt). A divergência entre as sequências do espaçador *rbcL-S* foi analisada para um total de 49 amostras. A matriz de identidade foi gerada com 116 posições. Para as sequências que se apresentavam incompletas, as porcentagens de divergência foram calculadas a partir de uma matriz com 91 posições. *Chondria collisiana* divergiu das espécies do complexo *Laurencia* de 35,2% (40 nt) a 59,3% (68 nt).

A divergência entre as sequências do *cox1* foi analisada para um total de 47 amostras (anexo 4) e a matriz de identidade foi gerada com 665 posições. Para a sequência de *P. papillosa* da Baja Califórnia (México) as porcentagens de divergência foram calculadas a partir de 577 posições. *Chondria collisiana* divergiu das espécies do complexo *Laurencia* de 12,8% (85 nt) a 25,5% (169 nt).

Grupo *Laurencia* I. Em *Laurencia* I (Fig. 437) e *Laurencia* (Figs 438-440), os táxons identificados como *L. filiformis*, *L. majuscula*, *L. arbuscula* e *L. obtusa* formaram um grupo

monofilético em todas as análises geradas e apresentaram baixa variação genética nos três marcadores utilizados. As sequências do *rbcL* (Tab. 13) e do espaçador *rbcL-S* apresentaram 100% de identidade entre os espécimes do Rio de Janeiro, enquanto que *L. filiformis* da Bahia divergiu dos demais espécimes em 0,6% (8 nt) para o *rbcL* e em apenas 1 nucleotídeo para o *rbcL-S*. *Laurencia majuscula* das Ilhas Canárias, Espanha divergiu dos espécimes brasileiros de 0,7 a 1% (9 a 14 nt) (Tab. 13). A divergência verificada entre as sequências do *cox1* variou de 0 a 0,8% (5 nt) entre os espécimes do Rio de Janeiro. *Laurencia filiformis* da Bahia divergiu dos demais espécimes do RJ em 2,6% (17 nt).

O posicionamento filogenético e a baixa divergência entre as sequências de *L. arbuscula*, *L. filiformis*, *L. majuscula* e *L. obtusa* do Brasil e das Ilhas Canárias indicam que todas representam uma única entidade taxonômica, identificada como *L. dendroidea*. A análise morfológica detalhada realizada nos espécimes brasileiros mostrou que não há critérios diagnósticos capazes de separar esses táxons. O exame de materiais tipo e/ou de referência confirmou que os espécimes estudados estão de acordo com as características de *L. dendroidea*, cuja localidade-tipo é o Brasil. Por outro lado, *L. obtusa* da Irlanda se manteve filogeneticamente distante dos espécimes brasileiros e das Ilhas Canárias apresentando alta divergência genética (5,6-6,1%, 69 a 86 nt) (Tab. 13), confirmando que se trata de uma espécie distinta. *Laurencia* cf. *filiformis* do Caribe mexicano constitui um táxon independente, divergindo nas sequências do *rbcL* em 5-6% dos espécimes brasileiros e das Ilhas Canárias (Díaz-Larrea 2008).

Tabela 13. Porcentagem de identidade (na porção inferior) e número de nucleotídeos divergentes (na porção superior) entre as sequências do *rbcL* de espécimes de *Laurencia dendroidea* do Brasil e Ilhas Canárias, Espanha (citadas como *L. arbuscula*, *L. filiformis*, *L. majuscula* e *L. obtusa*) e *Laurencia obtusa* da Irlanda. Amostras do GenBank estão identificadas pelo código de acesso*.

Sequências	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1 <i>L. majuscula</i> Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ	ID	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	9	5	0	72
2 <i>L. majuscula</i> Praia do Velho, Angra dos Reis, RJ	100	ID	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	9	5	0	72
3 <i>L. filiformis</i> Praia da Lula, Parati, RJ	100	100	ID	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	9	5	0	72
4 <i>L. filiformis</i> Praia da Lula, Parati, RJ	100	100	100	ID	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	9	5	0	72
5 <i>L. filiformis</i> Praia do Velho, Angra dos Reis, RJ	100	100	100	100	ID	0	0	0	8	0	0	0	0	0	9	5	0	72
6 <i>L. filiformis</i> Ilha Cataguazes, Angra dos Reis, RJ	100	100	100	100	100	ID	0	0	8	0	0	0	0	0	9	5	0	72
7 <i>L. filiformis</i> Ponta do Caiobá, Angra dos Reis, RJ	100	100	100	100	100	100	ID	0	8	0	0	0	0	0	9	5	0	72
8 <i>L. filiformis</i> Praia do Forno, Búzios, RJ	100	100	100	100	100	100	100	ID	8	0	0	0	0	0	9	5	0	72
9 <i>L. filiformis</i> Lauro de Freitas, BA	99,4	99,4	99,4	99,4	99,4	99,4	99,4	99,4	ID	8	8	8	8	8	9	14	8	70
10 <i>L. arbuscula</i> Praia Rasa, Búzios, RJ	100	100	100	100	100	100	100	100	99,4	ID	0	0	0	0	9	5	0	72
11 <i>L. obtusa</i> Praia Rasa, Búzios, RJ	100	100	100	100	100	100	100	100	99,4	100	ID	0	1	0	9	5	0	72
12 <i>L. arbuscula</i> Areias Negras, Rio das Ostras, RJ	100	100	100	100	100	100	100	100	99,4	100	100	ID	0	0	9	5	0	72
13 <i>L. obtusa</i> Ilha de Cabo Frio, RJ	100	100	100	100	100	100	100	100	99,4	100	100	100	ID	0	9	5	0	72
14 <i>L. arbuscula</i> Prainha, Arraial do Cabo, RJ	100	100	100	100	100	100	100	100	99,4	100	100	100	100	ID	9	5	0	72
15 <i>L. majuscula</i> Tenerife, Ilhas Canárias, Espanha (EF686000)*	99,3	99,3	99,3	99,3	99,3	99,3	99,3	99,3	99,3	99,3	99,3	99,3	99,3	99,3	ID	14	9	69
16 <i>L. filiformis</i> (como <i>L. arbuscula</i>), SP (AF465810)*	99,6	99,6	99,6	99,6	99,6	99,6	99,6	99,6	99	99,6	99,6	99,6	99,6	99,6	99	ID	5	86
17 <i>L. filiformis</i> (<i>L. cf. catarinensis</i>), SP (AF465808)*	100	100	100	100	100	100	100	100	99,4	100	100	100	100	100	99,3	99,6	ID	72
18 <i>L. obtusa</i> Irlanda (AF281881)*	94,2	94,2	94,2	94,2	94,2	94,2	94,2	94,2	94,2	94,3	94,2	94,2	94,2	94,2	94,4	93,9	94,2	ID

As espécies inicialmente identificadas como *Laurencia intricata* do Brasil e das Ilhas Canárias se agruparam com *L. catarinensis* da localidade-tipo, com alto suporte para todas as análises utilizando-se os três marcadores. O posicionamento filogenético e a baixa divergência genética verificada entre esses táxons (0-0,6% , 0 a 8 nt para o *rbcL* (Tab. 14); 0 a 1 nt para *rbcL-S* e 0-0,8%, 0 a 5 nt para o *cox1*), indicam que estes táxons podem ser identificados como *L. catarinensis*. O espécime da região nordeste do Brasil (Rio Grande do Norte) mostrou maior afinidade filogenética com os espécimes das Ilhas Canárias do que com os espécimes do sul e sudeste do Brasil.

Os espécimes citados sob a denominação de *L. intricata* do Brasil e das Ilhas Canárias se mantiveram distantes molecularmente de *L. intricata* do México, Flórida (EUA) e Cuba, esta última representando a localidade-tipo (Antilhas), confirmando que esses táxons são distintos. Alta divergência genética foi verificada nos três marcadores utilizados. Entre as sequências do *rbcL*, os espécimes brasileiros e das Ilhas Canárias divergiram dos da Flórida, Cuba e México de 5 a 5,8% (72 a 83 nt) (Tab. 14). *Laurencia intricata* de Cuba, sequenciada neste estudo, divergiu de *L. intricata* do Brasil e das Ilhas Canárias de 15,6-16,4% (18 a 19 nt) para o espaçador *rbcL-S* e de 5,5-6,1% (36 a 40 nt) para o *cox1*.

Morfologicamente, *L. intricata* da localidade-tipo e áreas adjacentes e *L. catarinensis* são difíceis de serem separadas devido ao hábito muito semelhante com talos de aspecto intricado e ramificação frouxa em ângulo aberto a reto. Anatomicamente a única característica observada que distingue *L. intricata* do Caribe e do Golfo do México de *L. catarinensis* é a presença de espessamentos lenticulares na primeira espécie, uma característica de emprego questionável para algumas espécies do complexo *Laurencia*. Essa observação, feita a partir da análise de material em exsicata, discorda dos dados da literatura nos quais espessamentos lenticulares não são mencionados para *L. intricata* (Dawes & Mathieson 2008). No entanto, em espécimes analisados das Pequenas Antilhas e em alguns da Flórida, espessamentos lenticulares não foram observados. Uma ampla revisão de *L. intricata* do Caribe e do Golfo do México, incluindo dados moleculares, é necessária para esclarecer o posicionamento desses táxons.

Tabela 14. Porcentagem de identidade (na porção inferior) e número de nucleotídeos divergentes (na porção superior) entre as sequências do *rbcL* de espécimes de *Laurencia intricata*, *L. catarinensis* e *L. aldingensis*. Amostras do GenBank estão identificadas pelo código de acesso*.

Sequências	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1 <i>L. intricata</i> Ponta dos Castelhanos, ES	ID	3	0	0	1	0	7	11	7	13	13	75	76	81	82	75
2 <i>L. intricata</i> Ilha Comprida, Parati, RJ	99,7	ID	3	3	5	3	8	13	10	8	8	75	78	81	83	75
3 <i>L. intricata</i> Pta Fortaleza, Angra dos Reis, RJ	100	99,7	ID	0	1	0	7	11	7	13	13	75	76	81	82	75
4 <i>L. intricata</i> Pr. do Velho, Angra dos Reis, RJ	100	99,7	100	ID	1	0	7	11	7	13	13	75	76	81	82	75
5 <i>L. intricata</i> Ilha do Bonfim, Angra dos Reis, RJ	99,9	99,6	99,9	99,9	ID	1	7	13	8	13	13	75	78	81	83	75
6 <i>L. catarinensis</i> Florianópolis, SC	100	99,7	100	100	99,9	ID	7	11	7	13	13	75	76	81	82	75
7 <i>L. intricata</i> Maracajaú, RN	99,5	99,4	99,5	99,5	99,5	99,5	ID	7	1	7	7	72	75	78	81	72
8 <i>L. intricata</i> Playa Paraíso, Tenerife, Espanha	99,2	99,1	99,2	99,2	99,1	99,2	99,5	ID	5	11	11	72	75	78	81	72
9 <i>L. intricata</i> El Pris, Tenerife, Espanha	99,5	99,3	99,5	99,5	99,4	99,5	99,9	99,6	ID	7	7	72	73	78	79	72
10 <i>L. aldingensis</i> Praia Rasa, Búzios, RJ	99,1	99,4	99,1	99,1	99,1	99,1	99,5	99,2	99,5	ID	0	75	102	81	81	75
11 <i>L. aldingensis</i> Ilhote de Ubu, Anchieta, ES	99,1	99,4	99,1	99,1	99,1	99,1	99,5	99,2	99,5	1	ID	75	102	81	81	75
12 <i>L. intricata</i> Cayo Coco, Cuba	94,8	94,8	94,8	94,8	94,8	94,8	95	95	95	94,8	94,8	ID	1	10	8	0
13 <i>L. intricata</i> Campeche Bay, México (AF465809)*	94,7	94,6	94,7	94,7	94,6	94,7	94,8	94,8	94,9	92,9	92,9	99,9	ID	37	36	27
14 <i>L. intricata</i> Ojo de Agua, México	94,4	94,4	94,4	94,4	94,4	94,4	94,6	94,6	94,6	94,4	94,4	99,3	97,4	ID	2	10
15 <i>L. intricata</i> Playa del Carmen, México	94,3	94,2	94,3	94,3	94,2	94,3	94,4	94,4	94,5	94,2	94,2	99,4	97,5	99,8	ID	8
16 <i>L. intricata</i> Long Key, Flórida, EUA (AY588410)*	94,8	94,8	94,8	94,8	94,8	94,8	95	95	95	94,8	94,8	100	98,1	99,3	99,4	ID

Laurencia aldingensis mostrou afinidade filogenética com *L. intricata/L. catarinensis* em todas as análises realizadas. A divergência entre as sequências do *rbcL* foi baixa (0,5-0,9%, 7 a 13 nt) (Tab. 14), correspondendo à faixa de variação encontrada entre indivíduos de uma mesma espécie. Por outro lado, a região espaçadora mostrou níveis altos de divergência interespecífica (9,5-10,4%, 11 a 12 nt), com amplitude de variação equiparada à obtida entre diferentes espécies, como por exemplo, entre *L. intricata* de Cuba e *L. catarinensis* do Brasil e entre *L. catarinensis* e *L. dendroidea*. Os valores de divergência verificados para a região espaçadora dentro de uma mesma espécie foram extremamente baixos para todos os táxons estudados (0 a 1 nt). É esperado que sequências de regiões não-codificantes do DNA tenham uma taxa de mutação mais rápida do que as de regiões codificantes e os valores mais altos de divergência do espaçador *rbcL-S* podem indicar que *L. aldingensis* seja um caso de especiação recente.

Em relação ao *cox1*, a divergência interespecífica verificada entre *L. aldingensis* e *L. intricata/L. catarinensis* também foi baixa (1,6-1,9%, 10 a 12 nt), quando comparada às obtidas entre as outras espécies de *Laurencia* estudadas (5,5-13,6%, 36 a 90 nt). Resultado semelhante foi descrito por Saunders (2005) para as espécies relacionadas de Gigartinales, *Mazzaella linearis* (Setchell & N.L. Gardner) Fredericq e *M. splendens* (Setchell & N.L. Gardner) Fredericq e *Dilsea carnosus* (Schmidel) Kuntze e *D. integra* (Kjellman) Rosenvinge, que apresentaram baixa divergência interespecífica, 0,8 a 1,2% (5 a 8 nt) e 1,1% (7 nt), respectivamente. A divergência verificada por Saunders (2005) entre outras espécies dos gêneros foi bem mais elevada (5,3-13,7%, 35 a 91 nt). Apesar da baixa divergência observada entre as espécies mencionadas acima, Saunders (2005) as manteve como independentes, uma vez que o *cox1* foi eficiente em identificar as espécies que formaram grupos distintos nas análises filogenéticas. O mesmo foi verificado entre *L. aldingensis* e *L. intricata/L. catarinensis* nas análises do *cox1* e do *rbcL*. Morfologicamente, *L. aldingensis* e *L. catarinensis* são facilmente separadas pela diferença no hábito das plantas. *Laurencia aldingensis* possui talo ereto, enquanto que em *L. catarinensis* o talo é emaranhado, formando almofadas características. A presença de células corticais ligeira e distintamente projetadas próximo ao ápice dos râmulos de *L. catarinensis* e a sua ausência em *L. aldingensis* pode ser uma característica adicional que auxilia na separação desses táxons. Com base no exposto acima, nós consideramos *L. aldingensis* e *L. catarinensis* como espécies distintas. O reconhecimento de *L. aldingensis* como uma espécie independente torna *L. catarinensis* parafilética, separada em dois grupos, um representado pelos espécimes de SC, RJ e ES e outro pelos espécimes do RN e das Ilhas Canárias. Esses espécimes são molecular e

morfológicamente muito próximos e mais dados morfológicos e moleculares são necessários para esclarecer o posicionamento taxonômico deste grupo, especialmente de espécimes da região nordeste do Brasil e das Ilhas Canárias.

Laurencia translucida apresentou afinidade filogenética com *L. cf. brongniartii*, como já verificado por Fujii *et al.* (2006) e Díaz-Larrea (2008). Entretanto, a morfologia das espécies é bastante distinta. *Laurencia brongniartii* possui talo achatado com ramificação oposta e apresenta as características típicas do gênero *Laurencia* (Senties & Fujii 2002). Por outro lado, *L. translucida* possui uma camada de células corticais externas translúcidas muito característica e talo cilíndrico a levemente achatado nas porções apicais, com ramificação radial. Além disso, a espécie apresenta características compartilhadas com *Laurencia* (cinco células pericentrais no procarpo e tetrasporângios com arranjo em paralelo) e com *Chondrophyucus* (duas células pericentrais por segmento axial vegetativo, ausência de ligações secundárias entre as células corticais e de *corps en cerise* e células pericentrais adicionais férteis no segmento tetrasporangial). *Laurencia translucida* foi transferida para o gênero *Chondrophyucus* por Garbary & Harper (1998) com base em análise cladística de caracteres morfológicos, principalmente pela presença de duas células pericentrais por segmento axial vegetativo. Entretanto, os dados moleculares obtidos por Fujii *et al.* (2006) confirmaram que esta espécie pertence ao gênero *Laurencia*, resultado corroborando por Díaz-Larrea (2008) e por este estudo.

Um outro agrupamento monofilético dentro de *Laurencia* I foi formado por *Laurencia caduciramulosa*, *L. venusta*, *L. natalensis*, *L. rigida*, *L. oliveirana*, *L. caraibica* e *L. flexuosa*. A maior parte dessas espécies tem em comum o talo de pequeno porte. *Laurencia caduciramulosa* se agrupou com *L. venusta*. No Brasil, essa última espécie é citada apenas para o Espírito Santo (Fujii *et al.* 2005). Caracteristicamente, a espécie possui ramificação verticilada (a única nesse agrupamento com tal característica), enquanto *L. caduciramulosa* apresenta ramificação irregularmente espiralada, frequentemente retendo apenas uma coroa de râmulos jovens nas porções apicais do talo e râmulos decíduos que funcionam como propágulos vegetativos. *Laurencia oliveirana* e *L. caraibica* (Brasil), embora proximamente relacionadas, constituem espécies distintas com base nos dados moleculares e podem ser morfológicamente separadas pelo hábito subereto com ramificação unilateral pectinada, sem anastomoses entre os ramos em *L. oliveirana*, e pelo talo prostrado de aspecto dorsi-ventral com anastomoses frequentes em *L. caraibica*. O posicionamento filogenético e a alta divergência verificada entre sequências do *rbcL* de *Laurencia caraibica* do Brasil e do México (6,8%, 98 nt), mostram que esses táxons são

claramente distintos e necessitam de uma revisão morfológica detalhada para definir seu posicionamento taxonômico.

Laurencia sp.1 foi o único táxon do Brasil que se posicionou no agrupamento formado por *L. obtusa*, *L. viridis* Gil-Rodríguez *et* Haroun, *L. intricata* e *Laurencia* sp.4 do Atlântico Norte, Golfo do México e Caribe. Pelas análises morfológicas realizadas, *Laurencia* sp.1 é próxima da típica *L. filiformis* descrita para a Austrália. Entretanto, nós optamos em mantê-la sem um *status* taxonômico definido até que sequências de *L. filiformis* da localidade-tipo estejam disponíveis e possam esclarecer o posicionamento de *Laurencia* sp.1 do Brasil.

Grupo *Laurencia* II. Este agrupamento incluiu *Laurencia marilzae* Gil-Rodríguez, Senties *et* M.T. Fujii (localidade-tipo, Ilhas Canárias), *Laurencia* sp.2 e *Laurencia* sp.3 (Brasil) e *Laurencia* sp.5 (México, como *L. sp.2*, Díaz-Larrea 2008) e se manteve separado do grupo *Laurencia* I, que incluiu todas as demais espécies do gênero. As sequências do *rbcL* de *Laurencia* sp.2 e *Laurencia* sp.3 apresentaram as maiores porcentagens de divergência em relação às demais espécies do gênero estudadas (8,3-9,6%, 120 a 139 nt) e às retiradas do GenBank (21,8 a 22%). O táxon *Laurencia* sp.5 também apresentou as maiores porcentagens de divergência (25 a 28%) quando comparadas com as demais espécies do gênero *Laurencia* estudadas por Díaz-Larrea (2008). Esses valores estão acima das porcentagens de divergência verificadas entre os gêneros do complexo *Laurencia* (Nam *et al.* 2000, McIvor *et al.* 2002a, Díaz-Larrea *et al.* 2007, Díaz-Larrea 2008, Cassano *et al.* 2009). *Laurencia* sp.2 e *Laurencia* sp.3 divergiram das amostras de *L. marilzae* em 1,5-1,6% (21 a 22 nt) e entre si em 0,8% (11 nt) (Tab. 15). *Laurencia marilzae* foi recentemente descrita por Gil-Rodríguez *et al.* (2009) e a característica mais distintiva da espécie é a presença de *corps en cerise* em todas as células do talo: corticais e medulares, incluindo as pericentrais e as axiais e tricoblastos. *Laurencia* sp.2 e *Laurencia* sp.3 possuem *corps en cerise* apenas nas células corticais e tricoblastos, como a grande maioria das espécies de *Laurencia*. Nas Ilhas Canárias, *L. marilzae* é facilmente reconhecida em campo por sua coloração distintamente alaranjada. Os metabólitos secundários desta espécie foram investigados por Fernández *et al.* (2005) quando foram reportados novos diterpenos do tipo dactilomelano, não encontrados em nenhum outro representante de *Laurencia*.

Tabela 15. Porcentagem de identidade (na porção inferior) e número de nucleotídeos divergentes (na porção superior) entre as sequências do *rbcL* de *Laurencia* sp.2 e *Laurencia* sp.3 (Brasil) e *L. marilzae* (Ilhas Canárias, Espanha). Amostras do GenBank estão identificadas pelo código de acesso*.

Sequências	1	2	3	4	5
1 <i>Laurencia</i> sp.3, Ilha Vitória, SP	ID	11	22	22	22
2 <i>Laurencia</i> sp.2, Ilhote de Ubu, Anchieta, ES	99,2	ID	21	22	21
3 <i>L. marilzae</i> Punta del Hidalgo, Tenerife, Espanha (EF686002)*	98,4	98,5	ID	1	2
4 <i>L. marilzae</i> Faro, Punta del Hidalgo, Tenerife, Espanha (EF686003)*	98,4	98,4	99,9	ID	3
5 <i>L. marilzae</i> Playa Paraíso, Tenerife, Espanha (EF686001)*	98,4	98,5	99,8	99,7	ID

Os valores de divergência interespecífica para a região espaçadora entre as sequências de *Laurencia* sp.2 e *Laurencia* sp.3 também foram os maiores observados em comparação com as demais espécies de *Laurencia* estudadas (18,4%, 21 nt entre *Laurencia* sp.2 e *L. caduciramulosa-L. filiformis* (BA) e 22,5%, 26 nt entre *Laurencia* sp.3 e *L. intricata/L. catarinensis*). Os dois táxons divergiram entre si em 3,8% (4 nucleotídeos).

Laurencia sp.2 e *Laurencia* sp.3 também formaram um grupo a parte nas análises filogenéticas realizadas com o *cox1* (Fig. 438). Como verificado nos demais marcadores, esses dois táxons apresentaram alta divergência genética em relação às outras espécies de *Laurencia*, 13,6% (90 nt) e 11,3% (75 nt), respectivamente, e divergiram entre si em 6,5% (43 nt).

O posicionamento filogenético e as altas porcentagens de divergência entre *L. marilzae*, *Laurencia* sp.2, *Laurencia* sp.3 e *Laurencia* sp.5 e as demais espécies do gênero constituem argumentos para o estabelecimento de quatro espécies distintas dentro de um novo gênero. As descrições de *Laurencia* sp.2 e de *Laurencia* sp.3 como novas para a ciência dependem de nova aquisição de material vegetativo e reprodutivo que permita uma descrição morfológica detalhada.

Grupo *Laurencia* III. *Laurencia flexilis* Setchell (1926, localidade-tipo Taiti) se posicionou como espécie basal no grupo *Palisada* II. O mesmo resultado foi obtido por Abe *et al.* (2006). Esses autores consideraram a identificação desse táxon duvidosa, provavelmente se tratando de *L. tropica* Yamada (1931, localidade-tipo Saipan, Ilhas Marianas, Oceano Índico). Essas duas espécies são próximas morfológicamente e *L. tropica* foi considerada uma variedade de *L. flexilis* por Xia & Zhang (1982). Atualmente, *L. flexilis* e *L. tropica* são tratadas como espécies independentes, confirmadas por dados moleculares (Abe *et al.* 2006). As duas espécies diferem dos representantes típicos de *Laurencia* pela ausência de ligações secundárias entre as

células corticais e de *corps en cerise* em *L. flexilis* (Xia & Zhang 1982, Masuda *et al.* 1999, Abe *et al.* 2006), caráter não descrito para *L. tropica*. Por outro lado, *Laurencia flexilis* compartilha com o gênero *Laurencia* a produção de quatro células pericentrais por segmento axial vegetativo (Masuda *et al.* 1999), sendo o número de células pericentrais desconhecido para *L. tropica*. Pelos nossos resultados e de Abe *et al.* (2006), *L. flexilis* possui afinidade filogenética com o gênero *Palisada*. No entanto, as características morfológicas dessa espécie devem ser melhor esclarecidas e uma análise filogenética mais ampla deve ser feita para a definição do seu posicionamento taxonômico, assim como de *L. tropica*.

Grupo *Palisada* I. O posicionamento filogenético do agrupamento *Palisada* I, que incluiu apenas *Palisada poiteaui* var. *poiteaui* e *P. poiteaui* var. *gemmaifera*, não foi resolvido pelas análises geradas. O posicionamento de *Palisada* I foi instável permanecendo como um ramo isolado nas análises de MP e NJ. Esse grupo apresentou as maiores porcentagens de divergência interespecífica em relação às demais espécies do gênero (9,4-11%, 131-153 nt), estando na faixa de variação observada entre os gêneros do complexo e não entre espécies. Díaz-Larrea *et al.* (2007) e Díaz-Larrea (2008) obtiveram resultado semelhante a partir de análises de sequências do *rbcL*, *rbcL-S* e 18S. Morfológicamente, *Palisada poiteaui* apresenta uma combinação de características compartilhadas com *Palisada* e *Laurencia*, como: presença de ligações secundárias entre as células corticais adjacentes e procarpo com cinco células pericentrais (características de *Laurencia*) e duas células pericentrais por segmento axial vegetativo e arranjo dos tetrasporângios em ângulo reto (característica de *Palisada*) (Fujii *et al.* 1996, Nam 2006). A presença de células corticais projetadas na variedade *gemmaifera* e a sua ausência na variedade típica constitui a principal característica que separa esses táxons (Fujii *et al.* 1996, Senties & Fujii 2002). A falta de sequências disponíveis de *Chondrophycus sensu stricto* tem limitado o entendimento das relações dentro do complexo *Laurencia* e a sua inclusão nas análises filogenéticas é extremamente necessária para se inferir melhor o posicionamento do grupo *Palisada* I. Análises filogenéticas incluindo *Chondrophycus sensu stricto* poderão definir se *Palisada poiteaui* é filogeneticamente próximo à *Chondrophycus* ou se pode constituir de um novo gênero para a ciência.

Grupo *Palisada* II. No grupo *Palisada* II (Fig. 437) e *Palisada* (Figs 438-440), as relações entre *P. perforata* (Ilhas Canárias, México e Brasil) e *P. papillosa* (Ilhas Canárias,

Flórida, EUA e Brasil) não foram resolvidas. A baixa variação genética observada entre as sequências do *rbcL* (0-0,3%, 3 nt) e as similaridades morfológicas entre essas duas espécies, levaram Cassano *et al.* (2009) a proporem a coespecificidade desses dois táxons, tendo o nome *P. perforata* prioridade sobre *P. papillosa*. O táxon *P. papillosa* da Baja Califórnia (Pacífico mexicano) divergiu dos espécimes do Atlântico em até 1% (14 nt) (este estudo – Tab. 16; Cassano *et al.* 2009) e em 2% (Díaz-Larrea 2008). Com base nos seus resultados, Díaz-Larrea (2008) sugeriu que *P. papillosa* da Baja Califórnia deveria ser tratada como uma espécie independente das demais do Atlântico. Uma revisão morfológica desse táxon é necessária para esclarecer seu posicionamento taxonômico, como já sugerido anteriormente por Fujii *et al.* (2006).

Em relação ao espaçador *rbcL-S*, *Palisada perforata* - *P. papillosa* apresentaram 100% de identidade entre suas respectivas sequências. A divergência entre as sequências do *cox1* variou de 0 a 4,1% (27 nt) entre os espécimes brasileiros e das Ilhas Canárias, e a maior divergência encontrada (5,1%, 29 nt) ocorreu entre os espécimes do Atlântico e do Pacífico mexicano. Embora proporcionalmente os níveis de variação nas sequências do *cox1* tenham sido mais elevados do que os do *rbcL*, uma clara separação biogeográfica entre os espécimes do Atlântico ocidental, Atlântico oriental e Pacífico pôde ser percebida a partir da análise das sequências do *cox1*, corroborando os resultados obtidos com o *rbcL* e com a análise combinada com os três marcadores.

O posicionamento de *Chondrophycus patentirameus* e *C. thuyoides*, ambos das Filipinas, indicou que essas espécies pertencem ao gênero *Palisada*. As mudanças nomenclaturais desses táxons foram propostas por Cassano *et al.* (2009), com as novas combinações: *Palisada patentiramea* (Montagne) Cassano, Senties, Gil-Rodríguez *et* M.T. Fujii e *Palisada thuyoides* (Kützing) Cassano, Senties, Gil-Rodríguez *et* M.T. Fujii. Por outro lado, *Chondrophycus* cf. *thuyoides* das Ilhas Canárias agrupou-se com *Palisada flagellifera* do Brasil, cujas sequências do *rbcL* divergiram em apenas 0,3% (3 nt), confirmando que essas amostras correspondem à mesma entidade taxonômica: *P. flagellifera*. A confirmação da ocorrência de *P. flagellifera* nas Ilhas Canárias constitui um novo registro para o oceano Atlântico oriental.

Tabela 16. Porcentagem de identidade (na porção inferior) e número de nucleotídeos divergentes (na porção superior) entre as sequências do *rbcL* de *Palisada perforata* e *P. papillosa*. Amostras do GenBank estão identificadas pelo código de acesso*.

Sequências	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1 <i>P. perforata</i> Tenerife, Ilhas Canárias, Espanha (EU256329)*	ID	0	0	2	2	2	2	3	3	3	14
2 <i>P. papillosa</i> Tenerife, Ilhas Canárias, Espanha (EU256325)*	100	ID	0	2	2	2	2	3	3	3	14
3 <i>P. perforata</i> Praia da Lula, Parati, RJ	100	100	ID	2	2	2	2	3	3	3	14
4 <i>P. perforata</i> Praia Vermelha, Parati, RJ (EU256331)*	99,8	99,8	99,8	ID	0	0	0	2	1	1	12
5 <i>P. papillosa</i> Praia Brava, Angra dos Reis, RJ	99,8	99,8	99,8	100	ID	0	0	2	1	1	12
6 <i>P. perforata</i> Areias Negras, Rio das Ostras, RJ (EU256330)*	99,8	99,8	99,8	100	100	ID	0	2	1	1	12
7 <i>P. papillosa</i> Areias Negras, Rio das Ostras, RJ (EU256326)*	99,8	99,8	99,8	100	100	100	ID	2	1	1	12
8 <i>P. papillosa</i> Flórida, EUA (AF465807)*	99,7	99,7	99,7	99,8	99,8	99,8	99,8	ID	3	1	14
9 <i>P. papillosa</i> Marataízes, ES (AF465806)*	99,7	99,7	99,7	99,9	99,9	99,9	99,9	99,7	ID	2	14
10 <i>P. perforata</i> Isla Mujeres, México (EF658641)*	99,7	99,7	99,7	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9	99,8	ID	14
11 <i>P. papillosa</i> Baja Califórnia, México (AY88409)*	99	99	99	99,1	99,1	99,1	99,1	99	99	99	ID

Chondrophyucus furcatus se posicionou no grupo *Palisada* II em todas as análises realizadas, indicando que esta espécie é melhor alocada no gênero *Palisada*. Embora *C. furcatus* apresente características compartilhadas com *Palisada* (duas células pericentraes por segmento axial vegetativo e tetrasporângios em ângulo reto) e *Laurencia* (presença de ligações secundárias entre as células corticais e procarpo com cinco células pericentraes) (Cordeiro-Marino & Fujii 1994, Fujii 1998, Fujii & Senties 2005), os dados moleculares apóiam sua maior afinidade com o gênero *Palisada*. A transferência de *C. furcatus* para o gênero *Palisada* será providenciada em publicação posterior. Consequentemente, o gênero *Chondrophyucus* não terá mais representantes no litoral brasileiro.

Grupo *Osmundea*. Nas análises filogenéticas realizadas neste estudo, o grupo monofilético formado pelo gênero *Osmundea* foi bem resolvido em todas as análises. O padrão de distribuição geográfica disjunto verificado por McIvor *et al.* (2002a) foi confirmado com os três novos táxons sequenciados (*O. truncata*, *O. cf. pinnatifida* e *Osmundea* sp.) agrupando-se com as demais espécies do Atlântico europeu, e mantendo-se separados de *O. sinicola*, *O. spectabilis*, *O. blinskii* e *O. splendens* do Pacífico norte. Os dados moleculares confirmaram a

identificação de *O. truncata* (localidade-tipo Croácia, Mar Adriático) para as Ilhas Canárias que se agrupou com *O. truncata* da Irlanda. O posicionamento de *O. cf. pinnatifida* e de *Osmundea* sp. mostrou que esses táxons são distintos dos demais analisados. Dados morfológicos e filogenéticos adicionais são necessários para definir o posicionamento taxonômico *O. cf. pinnatifida* e de *Osmundea* sp. das Ilhas Canárias.

3.2.2. Divergência entre as sequências dos marcadores estudados

A comparação da amplitude de variação entre as sequências do *rbcL*, *rbcL-S* e *cox1* é sumarizada na Tabela 17. Os valores de divergência intergenérica e interespecífica obtidos neste estudo para o gene *rbcL* permaneceram na faixa de amplitude verificada por outros autores para o complexo *Laurencia*, 6 a 13% e 2 a 10%, respectivamente (Nam *et al.* 2000, McIvor *et al.* 2002b, Díaz-Larrea *et al.* 2007, Díaz-Larrea 2008, Cassano *et al.* 2009, Gil-Rodríguez *et al.* 2009).

Tabela. 17. Amplitude de variação da % de divergência entre as sequências dos marcadores estudados.

Marcadores / % de divergência	<i>rbcL</i>	<i>rbcL-S</i>	<i>cox1</i>
Grupo externo x grupo interno	11 - 11,2	35,2 - 59,3	12,8 - 25,5
Intergenérica	5,6* - 11,4	15,7* - 47	3,2* - 11,5
Interespecífica	1,9 - 6,2 ¹	1,5 - 15,6 ¹	1,6 - 13,6
Intraespecífica	0 - 1	0 - 1	0 - 5,1

1. Excluídos da comparação os táxons *Laurencia* sp.2 e *Laurencia* sp.3.

* Os valores mais baixos de divergência intergenérica nos três marcadores que se sobrepõem aos valores de divergência interespecífica, correspondem à baixa divergência genética encontrada entre *Chondrophycus furcatus* e *Palisada*.

Em relação ao espaçador *rbcL-S*, as porcentagens de variação intergenérica foram relativamente mais altas do que as registradas por Díaz-Larrea (2008) e Lewis *et al.* (2008), 12 a 39%. No entanto, os valores de divergência interespecífica foram semelhantes aos verificados pelos mesmos autores, 2 a 16%.

Embora as taxas de mutação de regiões não codificantes do DNA sejam mais altas do que as das regiões codificantes, sequências do espaçador *rbcL-S* têm se mostrado altamente conservadas intraespecificamente para diferentes grupos de algas vermelhas e pardas, variando de 0 a 0,1% entre indivíduos de uma mesma espécie (Goff *et al.* 1994, Stache-Grain *et al.* 1997,

Brodie *et al.* 1998, Kamiya *et al.* 2000, Seo *et al.* 2003, Niwa *et al.* 2005, Milstein 2006, Coimbra 2006). Neste estudo a divergência intraespecífica encontrada para a grande maioria dos táxons analisados foi de 0 a 0,1%. Díaz-Larrea (2008) encontrou variações maiores para as espécies do complexo *Laurencia*, como por exemplo, 0,7% entre amostras de *L. marilzae*, 1% para *Laurencia* sp.5 (como *L. sp.2*), 0 a 11% para *L. intricata* e 0-17% para *P. perforata* - *P. papillosa*. Taxas relativamente mais altas de divergência intraespecífica para o *rbcL-S* (0 a 7,8%) também foram registradas para outras espécies de Ceramiales, como para *Caloglossa continua* (Okamura) R.J. King *et Puttock*, *Murrayella pericladus* (C. Agardh) F. Schmitz e *Spyridia filamentosa* (Wulfen) Harvey (Kamiya *et al.* 1999, Zuccarello *et al.* 2002).

Os resultados obtidos com o *cox1* foram compatíveis com os verificados por Saunders (2005), Geraldino *et al.* (2006), Robba *et al.* (2006) e Yang *et al.* (2007) para diferentes ordens de Rhodophyta (Bangiales, Corallinales, Gigartinales, Rhodymeniales e Gracilariales). As sequências do *cox1* foram mais variáveis em nível inter- e intraespecífico do que as do *rbcL*, como mencionado em estudos anteriores (Geraldino *et al.* 2006, Yang *et al.* 2007). Maior variação entre as sequências do *cox1* é esperada, uma vez que o genoma mitocondrial apresenta taxas maiores de mutação no DNA do que o genoma do cloroplasto (Avice 1994). Em comparação com as sequências da região espaçadora da Rubisco, o *cox1* foi mais variável em nível intraespecífico, o que também foi verificado por Robba *et al.* (2006). Esses autores demonstraram que o *cox1* foi um marcador mais acurado do que o *rbcL-S* em revelar especiação incipiente e diversidade críptica devido às diferenças nas taxas de mutação entre os marcadores.

As porcentagens de variação interespecífica para a maioria das espécies analisadas oscilaram de 5,5 a 13,6% (36 a 90 nt) em um total de 665 posições. Essa amplitude de variação está quase que precisamente na faixa verificada por Saunders (2005) para as Gigartinales e Rhodymeniales (4,5 a 13,6% de divergência, 30 a 90 nt) em um total de 664 posições. Para outras ordens de algas vermelhas como Corallinales, Robba *et al.* (2006) encontraram 90 nt divergentes entre *Corallina elongata* J. Ellis *et Solander* e *C. officinalis* Linnaeus e, para as Bangiales, diferentes espécies de *Porphyra* C. Agardh divergiram de 37 a 69 nt. A variação interespecífica entre todos os táxons estudados por Robba *et al.* (2006) oscilou entre 28 a 148 nt. Para as Gracilariales, Yang *et al.* (2007) reportaram variação de 3,2-16,1% (41 a 201 nt) entre espécies de *Gracilaria* em 1245 posições.

Em relação à variação intraespecífica, Saunders (2005) verificou valores de 0-0,3% (0 a 2 nt) e Robba *et al.* (2006) registraram variação de 0 a 4 nt em 539 posições. Maior divergência foi

verificada por Robba *et al.* (2006) para amostras de *Gracilaria gracilis* (Stackhouse) M. Steentoft, L.M. Irvine *et* W.F. Farnham (11 nt), *Mastocarpus stellatus* (Stackhouse) Guiry (0 a 14 nt) e *Porphyra umbilicalis* Kützing provenientes de diferentes localidades. As variações observadas nessas espécies foram consideradas exemplos de especiação incipiente. O mesmo foi observado por Geraldino *et al.* (2006) entre 21 amostras de *Hypnea flexicaulis* Yamagishi *et* Masuda de diferentes localidades, com 1 a 7 nt divergentes em 1422 posições entre amostras da Coreia e Taiwan, e 31 a 34 nt divergentes entre as amostras dessas duas localidades e das Filipinas. A alta divergência intraespecífica encontrada também entre as sequências do *cox1* de *Gracilaria vermiculophylla* (Ohmi) Papenfuss (0,9%, 11 nt) por Yang *et al.* (2007) levou esses autores a sugerir cautela no uso do *cox1* para “barcoding”, uma vez que as amostras poderiam ser identificadas equivocadamente como espécies diferentes. No entanto, por ser um marcador de uso recente em algas, um valor mínimo de variação no “barcode” ainda deve ser definido para cada grupo taxonômico estudado, conforme foi advertido por Savolainen *et al.* (2005). Os valores de variação intraespecífica obtidos nesse trabalho para as espécies do complexo *Laurencia* foram relativamente elevados (0 a 5,1%, 0-29 nt), sendo que as maiores porcentagens de divergência dentro de uma mesma espécie foram obtidas entre amostras provenientes de áreas geograficamente mais distantes, como verificado por outros autores.

De acordo com Yang *et al.* (2007) a alta variação nas sequências do *cox1* pode limitar sua utilidade para estudos de relações interespecíficas, o que foi confirmado neste estudo. O *cox1* não foi eficiente em resolver as relações entre as espécies do gênero *Laurencia*, entretanto mostrou-se um marcador acurado na identificação das espécies, confirmando o seu potencial uso para “barcoding”.

Dados de variação intergenérica não têm sido relatados para o *cox1*, uma vez que sequências desse marcador têm sido empregadas e testadas para “barcoding”. Apenas Robba *et al.* (2006) reportaram uma divergência entre *Bangia fuscopurpurea* (Dillwyn) Lyngbye e diferentes espécies *Porphyra* em até 99 nucleotídeos. A divergência encontrada neste estudo entre os gêneros do complexo *Laurencia* foi de até 80 nucleotídeos.

Fig. 437. Árvore consenso enraizada de Análise Bayesiana inferida para sequências do *rbcL* de espécimes do complexo *Laurencia*. *Bostrychia radicans*, *Centroceras* sp. (como *Centroceras clavulatum*), *Ceramium brevizonatum*, *Chondria dasyphylla* e *C. collinsiana* foram utilizadas como grupos externos. A espessura dos ramos representa os valores de probabilidade posterior: os ramos mais espessos representam valores entre 0,95 e 1,00; ramos de espessura intermediária representam valores entre 0,90 e 0,94 e ramos de espessura normal abaixo de 0,94. Os valores de bootstrap (2000 réplicas) referentes às análises de Máxima Parcimônia (MP) e de Neighbor-joining (NJ) estão expressos nos ramos, em negrito e itálico, respectivamente. * indica valores de bootstrap = 100%. Sequências obtidas do GenBank têm seu número de acesso entre parênteses.

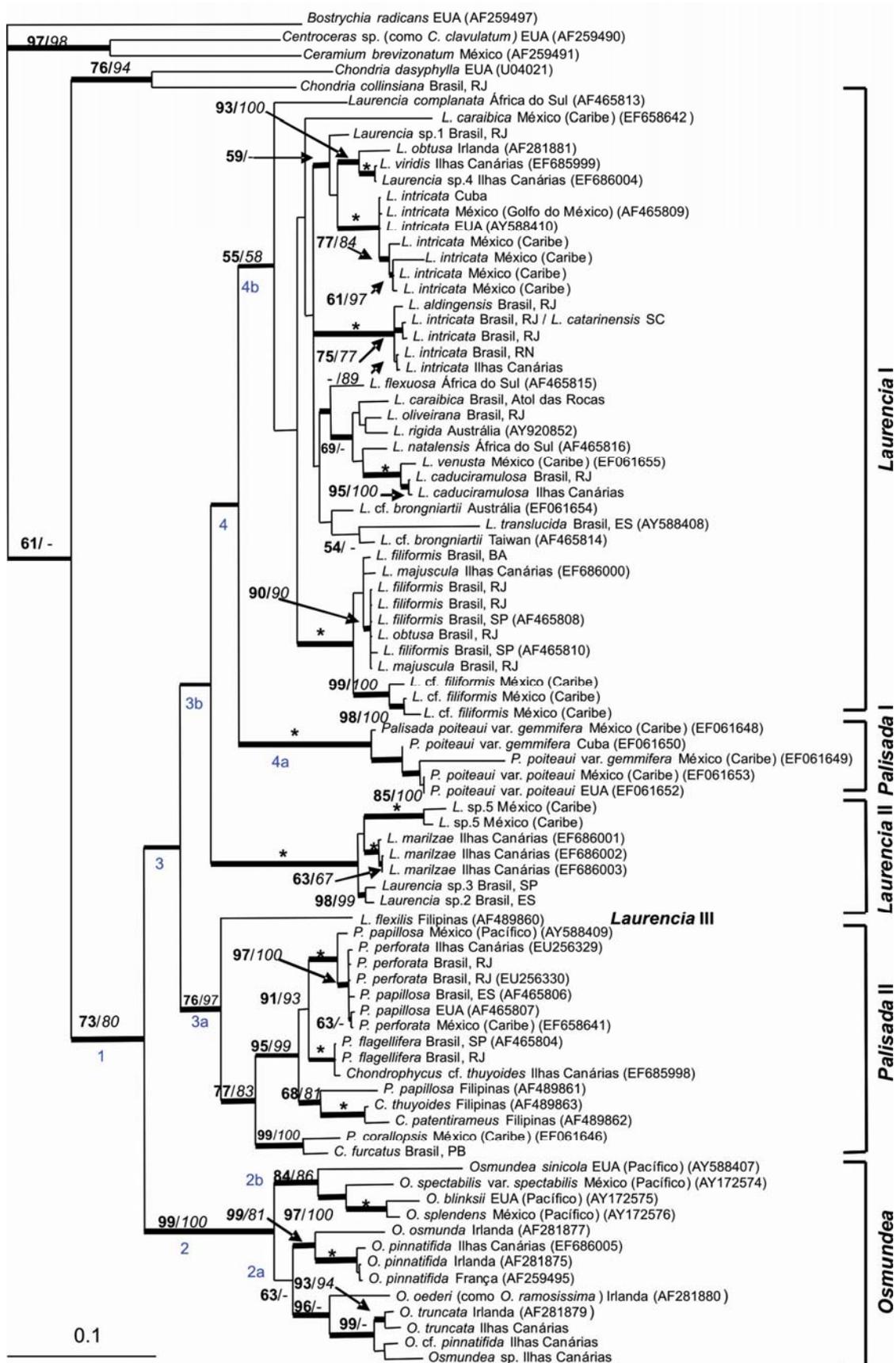


Fig. 438. Árvore consenso enraizada de Máxima Parcimônia inferida para sequências do *cox1* de espécimes do complexo *Laurencia*. *Chondria collinsiana* foi utilizada como grupo externo. A espessura dos ramos representa os valores de probabilidade posterior: os ramos mais espessos representam valores entre 0,95 e 1,00; ramos de espessura intermediária representam valores entre 0,90 e 0,94 e ramos de espessura normal abaixo de 0,94. Os valores de bootstrap (2000 réplicas) referentes às análises de Máxima Parcimônia (MP) e de Neighbor-joining (NJ) estão expressos acima dos ramos, em negrito e itálico, respectivamente. Os valores de bootstrap (100 réplicas) de Máxima Verossimilhança (ML), estão expressos abaixo dos ramos, sublinado. * indica valores de bootstrap = 100%. Blocos coloridos foram utilizados para identificação das diferentes espécies. Todas as sequências foram obtidas nesse trabalho.

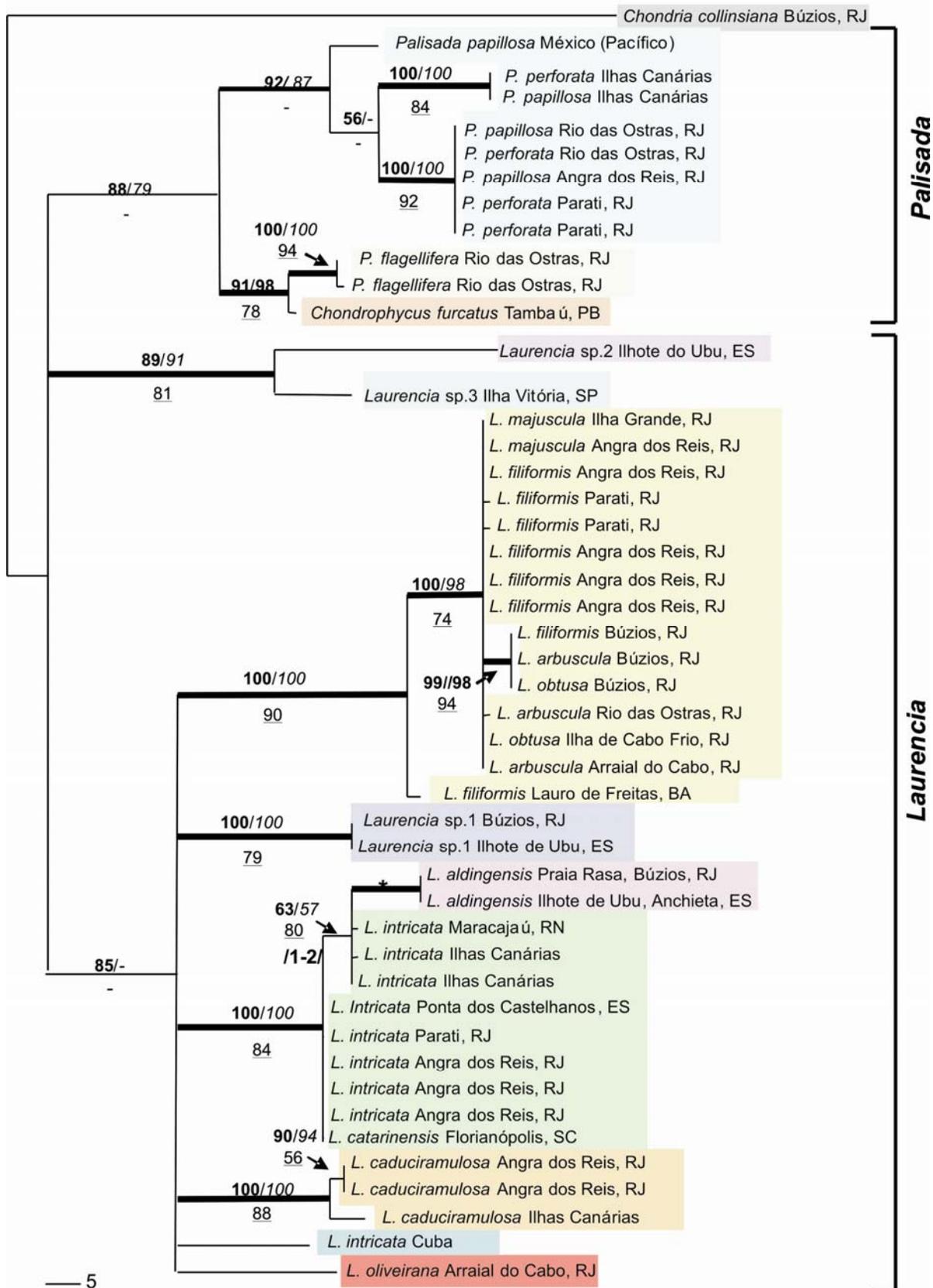


Fig. 439. Árvore consenso enraizada de Máxima Verossimilhança inferida para sequências do *rbcL/rbcL-S* de espécimes do complexo *Laurencia*. *Chondria collinsiana* foi utilizada como grupo externo. Ramos mais espessos representam valores de probabilidade posterior entre 0,95 e 1,00. Os valores de bootstrap (2000 réplicas) referentes às análises de Máxima Parcimônia (MP) e de Neighbor-joining (NJ) estão expressos acima dos ramos, em negrito e itálico, respectivamente. Os valores de bootstrap (100 réplicas) de Máxima Verossimilhança (ML) estão expressos abaixo dos ramos, sublinado. * indica valores de bootstrap = 100%. Blocos coloridos foram utilizados para identificação das diferentes espécies. Todas as sequências foram obtidas nesse trabalho.

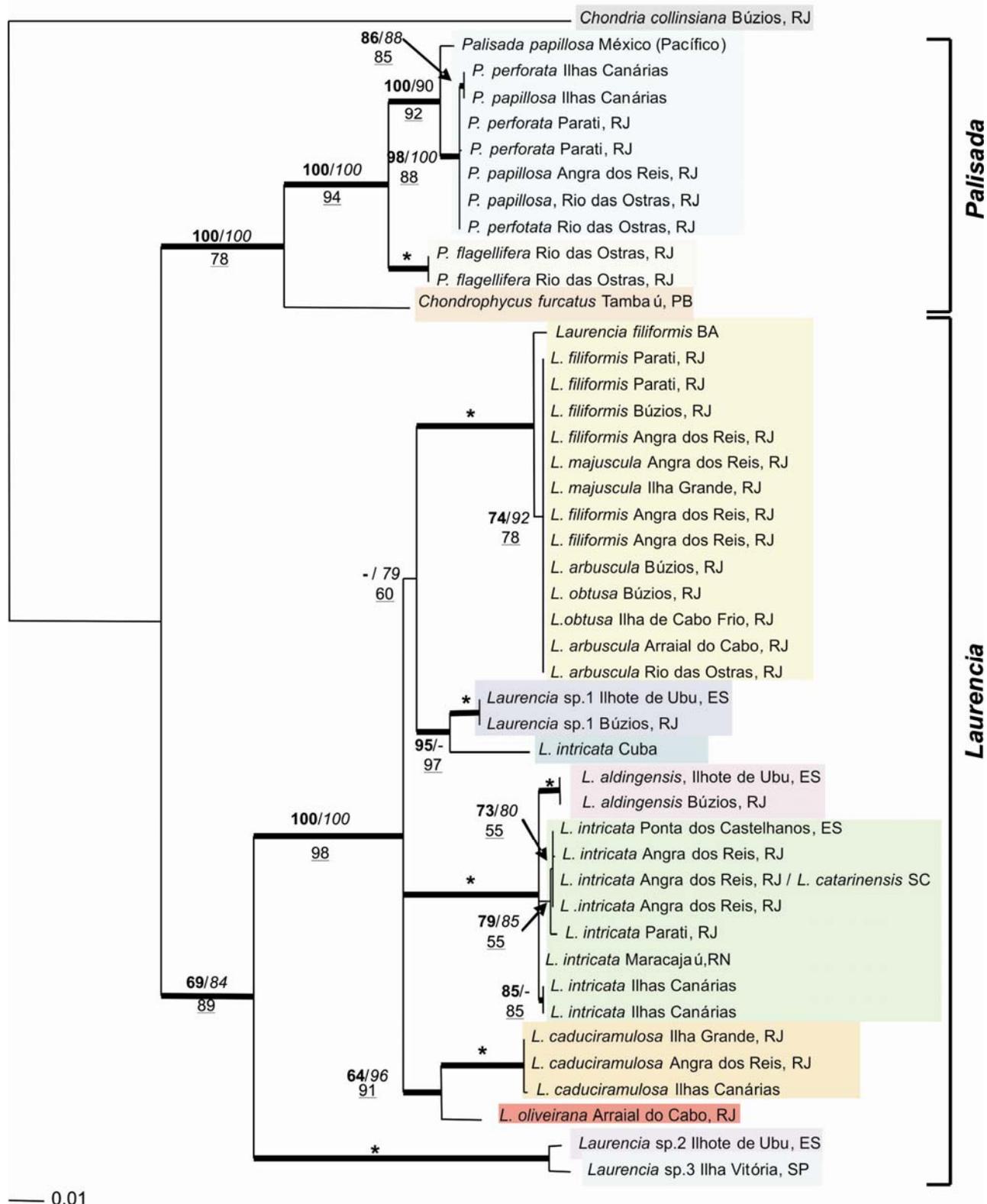
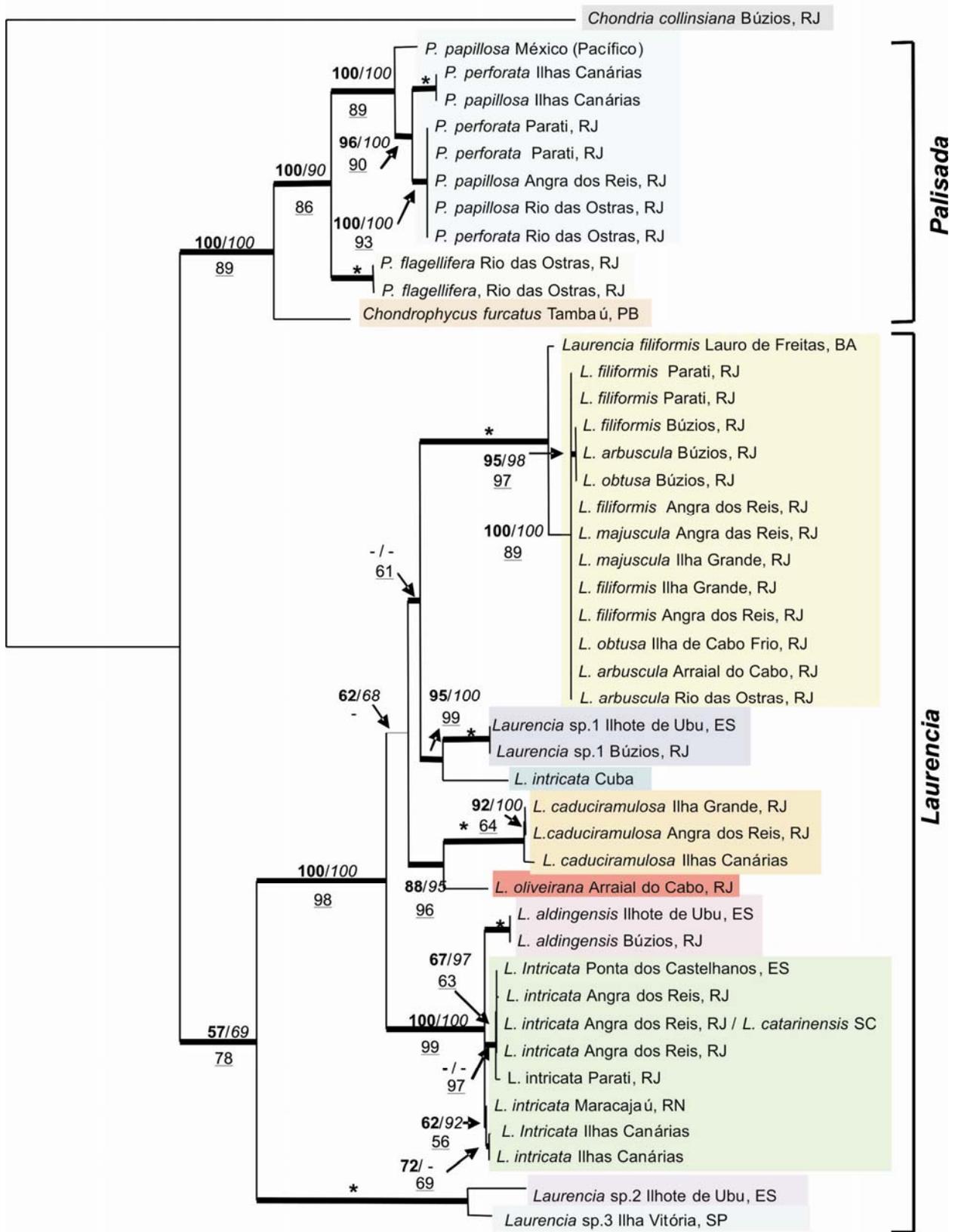


Fig. 440. Árvore consenso enraizada de Máxima Verossimilhança inferida para sequências do *rbcL*, *rbcL-S* e *cox1* de espécimes do complexo *Laurencia*. *Chondria collinsiana* foi utilizada como grupo externo. Ramos mais espessos representam valores de probabilidade posterior entre 0,95 e 1,00. Os valores de bootstrap (2000 réplicas) referentes às análises de Máxima Parcimônia (MP) e de Neighbor-joining (NJ) estão expressos acima dos ramos, em negrito e itálico, respectivamente. Os valores de bootstrap (100 réplicas) de Máxima Verossimilhança (ML) estão expressos abaixo dos ramos, sublinado. * indica valores de bootstrap = 100%. Blocos coloridos foram utilizados para identificação das diferentes espécies. Todas as sequências foram obtidas nesse trabalho.



Anexo 1. Alinhamento das sequências.

Alinhamento das sequências do *rbcL* e *rbcL-S* das amostras do complexo *Laurencia* estudadas. A sequência completa é dada apenas para o primeiro isolado. Posições idênticas são expressas por pontos (.) e lacunas por traços (-). Os números acima dos nucleotídeos indicam a posição neste alinhamento. As letras minúsculas no início e no final do alinhamento indicam as sequências dos “primers”. As sequências são identificadas pelas siglas à esquerda conforme a Tab. 3, pág. 30.


```

PPAN .....T.....T.....T..T.....C.....A.....G.....
PPPB .....T.....T.....T..T.....C.....A.....G.....
PSTE .....T.....T.....T..T.....C.....A.....G.....
PEPV .....T.....T.....T..T.....C.....A.....G.....
PEPL .....T.....T.....T..T.....C.....A.....G.....
PEAN .....T.....T.....T..T.....C.....A.....G.....
PETE .....T.....T.....T..T.....C.....A.....G.....
OPLP .....A.....T.....TC.A.T..T.....T.....C.....G.....A.A.....
OTTE .....A.....T.....TC.A.T..T..G.....C.....C.....G.....A.A.....
OSTE .....A.....T..G.....TC.A.T..T.....T.....C.....C.G.....G.....A.A.....

      510      520      530      540      550      560      570      580      590      600
CCPR TAAATTTGGACGTCACATTTTGGAGCAACAGTAAACCTAAATTAGGCTCTTCTGGTAAAAATTATGCTAGAGTAGTTTATGAAGGCTTAAAGGTTGGA
CFPB .....R.....T.....T.....T.....T.A.....C.....TC.....T.....
LARJ .....C.....T.....GC.....T.A.C.....C.....A.C.....TC.....T.....
LAES .....C.....T.....GC.....T.A.C.....C.....A.C.....TC.....T.....
LAPR .....G.C.....C.....A.C.....A.....A.....TC.....T.....
LAAC .....G.C.....C.....A.C.....A.....A.....TC.....T.....
LAAN .....G.C.....C.....A.C.....A.....A.....TC.....T.....
LCPV .....C.....C.....T.....A.C.....T.A.....C.....G.A.....T.....
LCIG .....C.....C.....T.....A.C.....T.A.....C.....G.A.....T.....
LCTE .....C.....C.....T.....A.C.....T.A.....C.....G.A.....T.....
LCAR .....C.....C.....A.C.....T.A.....C.....A.....T.....
LFPV .....G.C.....C.....A.C.....A.....A.....TC.....T.....
LFPV1 .....G.C.....C.....A.C.....A.....A.....TC.....T.....
LFIC .....G.C.....C.....A.C.....A.....A.....TC.....T.....
LFPC .....G.C.....C.....A.C.....A.....A.....TC.....T.....
LFPL .....G.C.....C.....A.C.....A.....A.....TC.....T.....
LFPL1 .....G.C.....C.....A.C.....A.....A.....TC.....T.....
LFPF .....G.C.....C.....A.C.....A.....A.....TC.....T.....
LFBA .....G.C.....C.....A.C.....A.....A.....TC.....T.....
LIIB .....C.....T.....GC.....T.A.C.....C.....A.C.....TC.....T.....
LIPF .....C.....T.....GC.....T.A.C.....C.....A.C.....TC.....T.....
LIPV .....C.....T.....GC.....T.A.C.....C.....A.C.....TC.....T.....
LIIC .....C.....T.....GC.....T.A.C.....C.....A.C.....TC.....T.....
LIES .....C.....T.....GC.....T.A.C.....C.....A.C.....TC.....T.....
LIRN .....C.....T.....GC.....T.A.C.....C.....A.C.....TC.....T.....
LICU .....CC.T.....T.....A.....T.A.....C.....A.C.....T.....G.....T.....
LITE .....C.....T.....GC.....T.A.C.....C.....A.C.....TC.....T.....
LITE1 .....C.....T.....GC.....T.A.C.....C.....A.C.....TC.....T.....
LMPV .....G.C.....C.....A.C.....A.....A.....TC.....T.....
LMIM .....G.C.....C.....A.C.....A.....A.....TC.....T.....
LOCF .....G.C.....C.....A.C.....A.....A.....TC.....T.....
LOPR .....G.C.....C.....A.C.....A.....A.....TC.....T.....
LOAC .....C.....T.....A.C.....T.A.....C.....C.....A.....T.....
L1RJ .....C.....T.....A.....T.A.....C.....A.C.....T.....T.....
L1ES .....C.....T.....A.....T.A.....C.....A.C.....T.....T.....
L2ES .....C.....T.....T.....A.C.....T.A.....C.....C.....G.....T.....
L3SP .....C.....T.....T.....A.C.....T.A.....C.....C.....G.....T.....
PFAN C.G.....T.....T.....C.....T.A.....C.....T.....C.....T.....T.....
PFCM C.G.....T.....T.....C.....T.A.....C.....C.....T.....T.....T.....
PPAN .....G.....T.....T.....C.....CT.A.....C.....C.....TC.....A.T.....
PPPB .....G.....T.....T.....C.....CT.A.....C.....C.....TC.....A.T.....
PSTE .....G.....T.....T.....C.....CT.A.....C.....C.....TC.....A.T.....
PEPV .....G.....T.....T.....C.....CT.A.....C.....C.....TC.....A.T.....
PEPL .....G.....T.....T.....C.....CT.A.....C.....C.....TC.....A.T.....
PEAN .....G.....T.....T.....C.....CT.A.....C.....C.....TC.....A.T.....
PETE .....G.....T.....T.....C.....CT.A.....C.....C.....TC.....A.T.....
OPLP .....C.....T.....T.....A.....C.....C.....C.....C.....T.....
OTTE .....T.....T.....T.....A.....C.....C.....C.....C.....T.....
OSTE .....C.....T.....T.....A.....C.....C.....C.....C.....T.....

      610      620      630      640      650      660      670      680      690      700
CCPR TTAGACTTTCTTAAAGATGACGAAAAATTAACCTCAACCAATTTATGCGTTGGAAAGAAAGATTTCTTTACTCAATGGAGGCTGTAATCGTTCATTTG
CFPB .....T.....T.....C.....T.....G..T.....G.....CT.A..T..T.....A.....C..A.....
LARJ .....T..C.....T.....T.....T.....G.....T.A.....T.....A.....C..T.....
LAES .....T..C.....T.....T.....G.....T.A.....T.....A.....C..T.....
LAPR .....T..C.....T.....C.....G.....T.A.....T.....A.....C..T.....
LAAC .....T..C.....T.....C.....G.....T.A.....T.....A.....C..T.....
LAAN .....T..C.....T.....C.....G.....T.A.....T.....A.....C..T.....
LCPV .....C.....T.....C.....T.....T.....A.....T.....A.....T.....T.....
LCIG .....C.....T.....C.....T.....T.....A.....T.....A.....T.....T.....
LCTE .....C.....T.....C.....T.....T.....A.....T.....A.....T.....T.....
LCAR .....T..C.....T.....T.....T.....T.....A.....T.....A.....C..T.....
LFPV .....T..C.....T.....C.....G.....T.A.....T.....A.....C..T.....
LFPV1 .....T..C.....T.....C.....G.....T.A.....T.....A.....C..T.....
LFIC .....T..C.....T.....C.....G.....T.A.....T.....A.....C..T.....
LFPC .....T..C.....T.....C.....G.....T.A.....T.....A.....C..T.....
LFPL .....T..C.....T.....C.....G.....T.A.....T.....A.....C..T.....
LFPL1 .....T..C.....T.....C.....G.....T.A.....T.....A.....C..T.....
LFPF .....T..C.....T.....C.....G.....T.A.....T.....A.....C..T.....

```

```

LFBA .....T.C.....T.....C.....G...T.A...T...A.....C...
LIIB .....T.C.....T.....T.....G...T.A...T...A.....C.T...
LIPF .....T.C.....T.....T.....G...T.A...T...A.....C.T...
LIPV .....T.C.....T.....T.....G...T.A...T...A.....C.T...
LIIC .....T.C.....T.....T.....G...T.A...T...A.....C.T...
LIES .....T.C.....T.....T.....G...T.A...T...A.....C.T...
LIRN .....T.C.....T.....T.....G...T.A...T...A.....C.T...
LICU C.....C.....T.....C.....G...T.A...T...A...G...C.T...
LITE .....T.C.....T.....T.....G...T.A...T...A.....C.T...
LITE1 .....T.C.....T.....T.....G...T.A...T...A.....C.T...
LMPV .....T.C.....T.....C.....G...T.A...T...A.....C...
LMIM .....T.C.....T.....C.....G...T.A...T...A.....C...
LOCF .....T.C.....T.....C.....G...T.A...T...A.....C...
LOPR .....T.C.....T.....C.....G...T.A...T...A.....C...
LOAC .....T.C.....T.....C.....T.A...T...A.....C.T...
L1RJ .....C.....T.....C.....T.A...T...A.....C.T...
L1ES .....C.....T.....C.....T.A...T...A.....C.T...
L2ES C...T.....T.....C.T.....T.A...T...A.....C.T...
L3SP C...T.....T.....C.T.....T.A...T...A.....T...
PFAN .....T.....T.....T.....G...C.A.T.T...A...A.T.C...
PFCM .....T.....T.....T.....G...C.A.T.T...A...A.T.C...
PPAN .....T.....T.....T.C.....G...C.A.T.T...A...C.A.T...
PPPB .....T.....T.....T.C.....G...C.A.T.T...A...C.A.T...
PPTE .....T.....T.....T.C.....G...C.A.T.T...A...C.A.T...
PEPV .....T.....T.....T.C.....G...C.A.T.T...A...C.A.T...
PEPL .....T.....T.....T.C.....G...C.A.T.T...A...C.A.T...
PEAN .....T.....T.....T.C.....G...C.A.T.T...A...C.A.T...
PETE .....T.....T.....T.C.....G...C.A.T.T...A...C.A.T...
OPLP ..G.T.....T.....C.T.....T.A.T.T...A...C...T...
OTTE .....T.....T.....C.T.....C.....T.A.T.T...A...C...T...
OSTE C...T.....T.....C.C.....C.....T.A.T.T...A...C...T...

```

```

          710      720      730      740      750      760      770      780      790      800
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
CCPR CTGCTACTGGTGAAGTTAAAGGTCACACATGAACATAACAGCTGCCACTATGGAAGATATGTATGAAAGAGCTGAATTTGCTAAGGAACCTAGGTACAGT
CFPB .....A.....G.....T.....TG.T...A.T.A...A.C.....C.T...A...
LARJ .....A.....A...A.T.....TG.T...A.A.A...C...C.....G...C.T...
LAES .....A.....A...A.T.....TG.T...A.A.A...C...C.....G...C.T...
LAPR .....A.....A...A.T.....T.T...A.A.A.A.G...C...C.....G...C.GT.G...
LAAC .....A.....A...A.T.....T.T...A.A.A.A.G...C...C.....G...C.GT.G...
LAAN .....A.....A...A.T.....T.T...A.A.A.A.G...C...C.....G...C.GT.G...
LCPV ...C.A.C...G...G.T.....TG.T...G.A.A.A...C...C.....C.T.G...
LCIG ...C.A.C...G...G.T.....TG.T...G.A.A.A...C...C.....C.T.G...
LCTE ...C.A.C...G...G.T.....T.T.G.A.A.A...C...C.....C.T...
LCAR .....A.....G.....T.....T.T...A.A.A.A...C...C.....C...C...
LFPV .....A.....A...A.T.....T.T...A.A.A.A.G...C...C.....G...C.GT.G...
LFPV1 .....A.....A...A.T.....T.T...A.A.A.A.G...C...C.....G...C.GT.G...
LFIC .....A.....A...A.T.....T.T...A.A.A.A.G...C...C.....G...C.GT.G...
LFPC .....A.....A...A.T.....T.T...A.A.A.A.G...C...C.....G...C.GT.G...
LFPL .....A.....A...A.T.....T.T...A.A.A.A.G...C...C.....G...C.GT.G...
LFPL1 .....A.....A...A.T.....T.T...A.A.A.A.G...C...C.....G...C.GT.G...
LFPF .....A.....A...A.T.....T.T...A.A.A.A.G...C...C.....G...C.GT.G...
LFBA .....A.....A...A.T.T...T.T...A.A.A.A.G...C...C.....G...C.GT.G...
LIIB .....A.....A...A.T.....TG.T...A.A.A...C...C.....C.T...
LIPF .....A.....A...A.T.....TG.T...A.A.A...C...C.....C.T...
LIPV .....A.....A...A.T.....TG.T...A.A.A...C...C.....C.T...
LIIC .....A.....A...A.T.....TG.T...A.A.A...C...C.....G...C.T...
LIES .....A.....A...A.T.....TG.T...A.A.A...C...C.....C.T...
LIRN .....A.....A...A.T.....TG.T...A.A.A...C...C.....C.T...
LICU .....A.....C...A.T.....T.T...A.A.A...C...C.....AC.T...C...
LITE .....A.....A...A.T.....T.T...A.A.A...C...C.....C.T...
LITE1 .....A.....A...A.T.....T.T...A.A.A...C...C.....C.T...
LMPV .....A.....A...A.T.....T.T...A.A.A.A.G...C...C.....G...C.GT.G...
LMIM .....A.....A...A.T.....T.T...A.A.A.A.G...C...C.....G...C.GT.G...
LOCF .....A.....A...A.T.....T.T...A.A.A.A.G...C...C.....G...C.GT.G...
LOPR .....A.....A...A.T.....T.T...A.A.A.A.G...C...C.....G...C.GT.G...
LOAC .....A.....G...G.T.T...TG.T...A.A.A...C...C.....C.T.G...
L1RJ .....A.....A...A.T.T...TG.T...A.A.A...C...C.....C.T...
L1ES .....A.....A...A.T.T...TG.T...A.A.A...C...C.....C.T...
L2ES .....G.....A.T.T...TG.T.T.A.A.A...C...C.....C...G...
L3SP .....G.....A.T.T...TG.T.T.A.A.A...C...C.....C...C...
PFAN .....C...A.....T.....TG.T...A.T.A...C...G...A.T...
PFCM .....C...A.....T.....TG.T...A.T.A...C...G...A.T...
PPAN .....G.....A...T.....TG.T...A.T.A...C...C...A.T...
PPPB .....G.....A...T.....TG.T...A.T.A...C...C...A.T...
PPTE .....G.....A...T.....TG.T...A.T.A...C...C...A.T...
PEPV .....G.....A...T.....TG.T...A.T.A...C...C...A.T...
PEPL .....A.....A...T.....TG.T...A.T.A...C...C...A.T...
PEAN .....G.....A...T.....TG.T...A.T.A...C...C...A.T...
PETE .....G.....A...T.....TG.T...A.T.A...C...C...A.T...
OPLP ..GA...C...A...A.T...T.T.T.A.G...G...A...C.A.T...
OTTE .....GA...C...A...G.T...TG.T.T.A...G...GC...C.A.T...
OSTE .....GA...C...A...C.T...T.T.T.A.G...G...A...C.A.T...

```



```

LMPV .....T.T.....G.....T.C.....T.
LMIM .....T.T.....G.....T.C.....T.
LOCF .....T.T.....G.....T.C.....T.
LOPR .....T.T.....G.....T.C.....T.
LOAC .....T.T.....A.....C.....T.T.
L1RJ .....T.T.....G.....A.....T.C.....T.
L1ES .....T.T.....G.....A.....T.C.....T.
L2ES .....T.A.....A.C.C.....C.A.....T.C.....T.
L3SP .....T.G.....A.C.C.....C.A.....C.T.C.....T.
PFAN .....T.T.....T.C.....A.....T.....T.
PFCM .....T.T.....T.C.....A.....T.....T.
PPAN .....T.T.....T.C.....C.....A.....T.....T.
PPPB .....T.T.....T.C.....C.....A.....T.....T.
PPTE .....T.T.....T.C.....C.....A.....T.....T.
PEPV .....T.T.....T.C.....C.....A.....T.....T.
PEPL .....T.T.....T.C.....C.....A.....T.....T.
PEAN .....T.T.....T.C.....C.....A.....T.....T.
PETE .....T.T.....T.C.....C.....A.....T.....T.
OPLP .....C.....A.....G.....C.C.....C.....C.A.....T.....T.
OTTE .....C.....A.....G.....C.C.....C.....C.A.....T.....T.
OSTE .....C.....A.....C.....C.....C.....C.A.....T.....T.

          1010      1020      1030      1040      1050      1060      1070      1080      1090      1100
CCPR TAGTAGAAAATTAGAAGGTGATCCTTTAATGATTAAGGGTTTCTATGATACCCATTAGAACCATATCTAAAAGTTAATTTACCTCAAGGTATTTCTT
CFPB .....G.....GA.....T.A.....T.....T.GCT.C.....A.....
LARJ .....C.....A.....A.C.TT.C.....CT.....G.....C.....
LAES .....C.....A.....A.C.TT.C.....CT.....G.....C.....
LAPR .....C.C.....A.....A.....T.G.....GC.....G.....C.....
LAAC .....C.C.....A.....A.....T.G.....GC.....G.....C.....
LAAN .....C.C.....A.....A.....T.G.....GC.....G.....C.....
LCPV .....C.....GA.....CA.....T.C.....CT.G.A.....C.....
LCIG .....C.....GA.....CA.....T.C.....CT.G.A.....C.....
LCTE .....C.....GA.....CA.....T.C.....CT.G.A.....C.....
LCAR .....C.....GA.....CA.....T.C.....CT.....G.....C.....
LFPV .....C.C.....A.....A.....T.G.....GC.....G.....C.....
LFPV1 .....C.C.....A.....A.....T.G.....GC.....G.....C.....
LFIC .....C.C.....A.....A.....T.G.....GC.....G.....C.....
LFPC .....C.C.....A.....A.....T.G.....GC.....G.....C.....
LFPL .....C.C.....A.....A.....T.G.....GC.....G.....C.....
LFPL1 .....C.C.....A.....A.....T.G.....GC.....G.....C.....
LFFF .....C.C.....A.....A.....T.G.....GC.....G.....C.....
LFBA .....C.C.....A.....CA.....T.G.....G.....GC.....G.....C.....
LIIB .....C.....A.A.....A.C.TT.C.....CT.....G.....C.....
LIPF .....C.....A.A.....A.C.TT.C.....CT.....G.....C.....
LIPV .....C.....A.A.....A.C.TT.C.....CT.....G.....C.....
LIIC .....C.....A.A.....A.C.TT.C.....CT.....G.....C.....
L1ES .....C.....A.A.....A.C.TT.C.....CT.....G.....C.....
L1RN .....C.....A.A.....A.C.TT.C.....CT.....G.....C.....
LICU .....C.C.....A.....T.CA.....T.....G.....CT.....A.....C.T.
LITE .....C.....A.A.....A.C.TT.C.....CT.....G.....C.....
LITE1 .....C.....A.A.....A.C.TT.C.....CT.....G.....C.....
LMPV .....C.C.....A.....A.....T.G.....GC.....G.....C.....
LMIM .....C.C.....A.....A.....T.G.....GC.....G.....C.....
LOCF .....C.C.....A.....A.....T.G.....GC.....G.....C.....
LOPR .....C.C.....A.....A.....T.G.....GC.....G.....C.....
LOAC .....C.....A.....T.C.....CT.....C.....
L1RJ .....C.....A.....CA.....T.C.....CT.....A.....C.....
L1ES .....C.....A.....CA.....T.C.....CT.....A.....C.....
L2ES .....C.....A.....T.A.C.G.C.....GCTA.A.....
L3SP .....C.....A.....T.C.....C.....GCTA.A.....
PFAN .....G.....GA.....A.....TT.C.....CT.GCT.....C.A.....A.....
PFCM .....G.....GA.....A.....TT.C.....CT.GCT.....C.A.....A.....
PPAN .....G.....C.....GA.....T.A.....TT.C.....CT.GCT.....C.A.....A.....
PPPB .....G.....C.....GA.....T.A.....TT.C.....CT.GCT.....C.A.....A.....
PPTE .....G.....C.....GA.....T.A.....TT.C.....CT.GCT.....C.A.....A.....
PEPV .....G.....C.....GA.....T.A.....TT.C.....CT.GCT.....C.A.....A.....
PEPL .....G.....C.....GA.....T.A.....TT.C.....CT.GCT.....C.A.....A.....
PEAN .....G.....C.....GA.....T.A.....TT.C.....CT.GCT.....C.A.....A.....
PETE .....G.....C.....GA.....T.A.....TT.C.....CT.GCT.....C.A.....A.....
OPLP .....T.G.....C.....A.....C.....AT.....G.....CT.GC.AA.....
OTTE .....T.G.....C.....A.....C.....AT.....G.....CT.GC.CAA.....G.....C.....
OSTE .....T.....CC.....A.....C.....AT.....G.....CT.G.CAA.....G.....C.....

          1110      1120      1130      1140      1150      1160      1170      1180      1190      1200
CCPR TGAAACAAGACTGGGCATCTTTACGTAAAGTAACTCCAGTTGCTTCAGGTGGTATTTCATTGTGGCCAAATGCATCAATTATTAGATTATTAGGTAAATGAT
CFPB .....T.....AC.T.....T.....T.....C.....T.....C.....C.....C.....
LARJ .....G.....T.....AC.....T.....C.....C.....T.G.....C.C.....C.....
LAES .....G.....T.....AC.....T.....C.....C.....T.G.....C.C.....C.....
LAPR .....G.....T.....A.....T.....C.....C.....
LAAC .....G.....T.....A.....T.....C.....C.....
LAAN .....G.....T.....A.....T.....C.....C.....

```

```

LCPV      . . . . . T . . . . . A . . . . . T . . . . . T . G . . . . . C . C . C . . . . .
LCIG      . . . . . T . . . . . A . . . . . T . . . . . T . G . . . . . C . C . C . . . . .
LCTE      . . . . . T . . . . . A . . . . . T . . . . . T . G . . . . . C . C . C . . . . .
LCAR      . . G . . T . . . . . A . . . . . T . . . . . C . . . . . T . G . . . . . C . C . . . . . C
LFPV      . . G . . T . . . . . A . . . . . T . . . . . T . . . . . C . . . . . C . . . . .
LFPV1     . . G . . T . . . . . A . . . . . T . . . . . T . . . . . C . . . . . C . . . . .
LFIC      . . G . . T . . . . . A . . . . . T . . . . . T . . . . . C . . . . . C . . . . .
LFPC      . . G . . T . . . . . A . . . . . T . . . . . T . . . . . C . . . . . C . . . . .
LFPL      . . G . . T . . . . . A . . . . . T . . . . . T . . . . . C . . . . . C . . . . .
LFPL1     . . G . . T . . . . . A . . . . . T . . . . . T . . . . . C . . . . . C . . . . .
LFPF      . . G . . T . . . . . A . . . . . T . . . . . T . . . . . C . . . . . C . . . . .
LFBA      . . G . . T . . . . . A . . . . . T . . . . . T . . . . . C . . . . . C . . . . .
LIIB      . . G . . T . . . . . AC . . . . . T . . . . . C . C . T . G . . . . . C . C . . . . . C
LIPF      . . G . . T . . . . . AC . . . . . T . . . . . C . C . T . G . . . . . C . C . . . . . C
LIPV      . . G . . T . . . . . AC . . . . . T . . . . . C . C . T . G . . . . . C . C . . . . . C
LIIC      . . G . . T . . . . . AC . . . . . T . . . . . C . C . T . G . . . . . C . C . . . . . C
LIES      . . G . . T . . . . . AC . . . . . T . . . . . C . C . T . G . . . . . C . C . . . . . C
LIRN      . . G . . T . . . . . AC . . . . . T . . . . . C . C . T . G . . . . . C . C . . . . . C
LICU      . . . . . T . . . . . AC . . . . . T . . . . . C . C . T . G . . . . . C . . . . . C . C . . . . . C
LITE      . . G . . T . . . . . AC . . . . . T . . . . . C . C . T . G . . . . . C . C . . . . . C
LITE1     . . G . . T . . . . . AC . . . . . T . . . . . Y . . . . . C . C . T . G . . . . . C . C . . . . . Y
LMPV      . . G . . T . . . . . A . . . . . T . . . . . T . . . . . C . . . . . C . . . . .
LMIM      . . G . . T . . . . . A . . . . . T . . . . . T . . . . . C . . . . . C . . . . .
LOCF      . . G . . T . . . . . A . . . . . T . . . . . T . . . . . C . . . . . C . . . . .
LOPR      . . G . . T . . . . . A . . . . . T . . . . . T . . . . . C . . . . . C . . . . .
LOAC      . . G . . T . . . . . A . . . . . C . . . . . T . . . . . T . G . . . . . GC . . . . . C . . . . . C
L1RJ      . . . . . T . . . . . GC . . . . . T . . . . . T . . . . . C . . . . . C . . . . . C . . . . . C
L1ES      . . . . . T . . . . . GC . . . . . T . . . . . T . . . . . G . . . . . C . . . . . C . . . . . C . . . . . C
L2ES      . . . . . T . . . . . T . A . . . . . C . . . . . T . . . . . C . T . G . . . . . C . . . . . G . A . . . . .
L3SP      . . . . . T . . . . . T . A . . . . . C . . . . . T . . . . . C . T . G . . . . . C . . . . . G . A . . . . .
PFAN      . . . . . T . . . . . AC . T . . . . . T . . . . . T . . . . . C . . . . . C . . . . . C . . . . . C
PFCM      . . . . . T . . . . . AC . T . . . . . T . . . . . T . . . . . C . . . . . C . . . . . C . . . . . C
PPAN      . . . . . T . . . . . AC . T . . . . . T . . . . . C . . . . . C . C . . . . . T . . . . . C . C . . . . . C
PPPB      . . . . . T . . . . . AC . T . . . . . T . . . . . C . . . . . C . C . . . . . T . . . . . C . C . . . . . C
PPTE      . . . . . T . . . . . AC . T . . . . . T . . . . . C . . . . . C . C . . . . . T . . . . . C . C . . . . . C
PEPV      . . . . . T . . . . . AC . T . . . . . T . . . . . C . . . . . C . C . . . . . T . . . . . C . C . . . . . C
PEPL      . . . . . T . . . . . AC . T . . . . . T . . . . . C . . . . . C . C . . . . . T . . . . . C . C . . . . . C
PEAN      . . . . . T . . . . . AC . T . . . . . T . . . . . C . . . . . C . C . . . . . T . . . . . C . C . . . . . C
PETE      . . . . . T . . . . . AC . T . . . . . T . . . . . C . . . . . C . C . . . . . T . . . . . C . C . . . . . C
OPLP      C . . . . . T . . . . . A . . . . . T . . . . . G . . . . . C . . . . . C . C . . . . . T . . . . . C . . . . . C
OTTE      C . . . . . T . . . . . A . . . . . T . . . . . T . . . . . C . . . . . C . C . . . . . T . . . . . C . G . . . . . C
OSTE      . . . . . T . . . . . A . . . . . T . . . . . T . . . . . G . . . . . C . . . . . C . C . . . . . T . . . . . C . . . . . C

```

```

          1210      1220      1230      1240      1250      1260      1270      1280      1290      1300
. . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . | . . . . |
CCPR    GTAGTACTTCAATTTGGCCGAGGAACATTTGGACATCCAGACGGAATTC AAGCAGGAGCAACAGCAAATAGAGTAGCTTTAGAAAGCTATGGTTATAGCAC
CFPB    . . T . . . . . G . . . . . T . C . T . . . . . T . . . . . G . T . T . C . . . . . T . . . . . CC . T . T . C . . . . . A . . . . . A . T . . . . A
LARJ    . . . . . T . T . . . . T . . . . . T . . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . G . . . . . A . T . . . . A
LAES    . . . . . T . T . . . . T . . . . . T . . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . G . . . . . A . T . . . . A
LAPR    . . . . . G . . . . . T . T . T . . . . . T . . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . A . . . . . A . T . . . . A
LAAC    . . . . . G . . . . . T . T . T . . . . . T . . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . A . . . . . A . T . . . . A
LAAN    . . . . . G . . . . . T . T . T . . . . . T . . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . A . . . . . A . T . . . . A
LCPV    . . . . . G . . . . . T . T . T . . . . . T . . . . . T . T . . . . G . T . T . G . . . . . C . T . . . . A . . . . . A . T . . . .
LCIG    . . . . . G . . . . . T . T . . . . T . . . . . T . T . . . . G . T . T . G . . . . . C . T . . . . A . . . . . A . T . . . .
LCTE    . . . . . G . . . . . T . T . . . . T . . . . . T . T . . . . G . T . T . G . . . . . C . T . . . . A . . . . . A . T . . . .
LCAR    . . . . . G . . . . . T . T . T . . . . . T . . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . A . . . . . A . T . . . . A
LFPV    . . . . . G . . . . . T . T . T . . . . . T . . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . A . . . . . A . T . . . . A
LFPV1   . . . . . G . . . . . T . T . T . . . . . T . . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . A . . . . . A . T . . . . A
LFIC    . . . . . G . . . . . T . T . T . . . . . T . . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . A . . . . . A . T . . . . A
LFPC    . . . . . G . . . . . T . T . T . . . . . T . . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . A . . . . . A . T . . . . A
LFPL    . . . . . G . . . . . T . T . T . . . . . T . . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . A . . . . . A . T . . . . A
LFPL1   . . . . . G . . . . . T . T . T . . . . . T . . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . A . . . . . A . T . . . . A
LFPF    . . . . . G . . . . . T . T . T . . . . . T . . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . A . . . . . A . T . . . . A
LFBA    . . . . . G . . . . . T . T . T . . . . . T . . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . A . . . . . A . T . . . . A
LIIB    . . . . . G . . . . . T . T . . . . G . . . . . T . T . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . G . . . . . A . T . . . . A
LIPF    . . . . . G . . . . . T . T . . . . G . . . . . T . T . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . G . . . . . A . T . . . . A
LIPV    . . . . . G . . . . . T . T . . . . G . . . . . T . T . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . G . . . . . A . T . . . . A
LIIC    . . . . . G . . . . . T . T . . . . G . . . . . T . T . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . G . . . . . A . T . . . . A
LIES    . . . . . G . . . . . T . T . . . . G . . . . . T . T . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . G . . . . . A . T . . . . A
LIRN    . . . . . G . . . . . T . T . . . . T . . . . . T . T . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . G . . . . . A . T . . . . A
LICU    . . . . . G . . . . . T . T . T . . . . . T . . . . . T . T . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . A . . . . . A . T . . . . A
LITE    . . . . . G . . . . . T . T . . . . T . . . . . T . T . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . G . . . . . A . T . . . . A
LITE1   . . . . . G . . . . . T . T . . . . T . . . . . T . T . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . G . . . . . A . T . . . . A
LMPV    . . . . . G . . . . . T . T . T . . . . . T . . . . . T . T . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . A . . . . . A . T . . . . A
LMIM    . . . . . G . . . . . T . T . T . . . . . T . . . . . T . T . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . A . . . . . A . T . . . . A
LOCF    . . . . . G . . . . . T . T . T . . . . . T . . . . . T . T . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . A . . . . . A . T . . . . A
LOPR    . . . . . G . . . . . T . T . T . . . . . T . . . . . T . T . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . A . . . . . A . T . . . . A
LOAC    . . . . . G . . . . . T . T . T . . . . . T . . . . . T . T . . . . T . C . . . . T . . . . . C . T . . . . A . . . . . A . T . . . . A
L1RJ    . . . . . G . . . . . T . T . T . . . . . T . . . . . T . T . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . A . . . . . A . T . . . . A
L1ES    . . . . . G . . . . . T . T . T . . . . . T . . . . . T . T . . . . T . T . . . . T . T . . . . C . T . . . . A . . . . . A . T . . . . A
L2ES    . . . . . G . . . . . T . T . T . . . . . T . C . . . . T . T . . . . T . C . . . . T . . . . . C . T . . . . A . . . . . A . T . . . . TA
L3SP    . . . . . G . . . . . T . T . T . . . . . C . T . C . . . . T . T . . . . T . C . . . . T . . . . . C . T . . . . A . . . . . A . T . . . . TA
PFAN    . . T . . . . . G . C . T . T . C . . . . . T . . . . . T . T . . . . T . T . . . . G . . . . . CC . T . T . C . . . . . A . . . . . A . T . . . . A

```


OSTE ---AC..A..ACT.AT.CTG..TGC--.CAGAA..GAG...G..G..T...T.....

```

....|
CCPR  agaac
CFPB  .....
LARJ  .....
LAES  .....
LAPR  .....
LAAC  .....
LAAN  .....
LCPV  .....
LCIG  .....
LCTE  .....
LCAR  .....
LFPV  .....
LFPV1 .....
LFIC  .....
LFPC  .....
LFPL  .....
LFPL1 .....
LFPF  .....
LFBA  .....
LIIB  .....
LIPF  .....
LIPV  .....
LIIC  .....
LIES  .....
LIRN  .....
LICU  .....
LITE  .....
LITE1 .....
LMPV  .....
LMIM  .....
LOCF  .....
LOPR  .....
LOAC  .....
LIRJ  .....
LIES  .....
L2ES  .....
L3SP  .....
PFAN  .....
PFCM  .....
PFAN  .....
PPPB  .....
PPE  .....
PEPV  .....
PEPL  .....
PEAN  .....
PETE  .....
OPLP  .....
OTTE  .....
OSTE  .....

```

Anexo 2. Alinhamento das sequências.

Alinhamento das sequências do *cox1* das amostras do complexo *Laurencia* estudadas. A sequência completa é dada apenas para o primeiro isolado. Posições idênticas são expressas por pontos (.) e lacunas por traços (-). Os números acima dos nucleotídeos indicam a posição neste alinhamento. As letras minúsculas no início e no final do alinhamento indicam as sequências dos “primers”. As sequências são identificadas pelas siglas à esquerda conforme a Tab. 3, pág. 30.

```

      10      20      30      40      50      60      70      80      90     100
CCPR  tcaacaaatcataaagattggTACTTTATATTTAATTTTGGTGGCTTTTCTGGGGTTCTAGGTGGTTCATGTCGATGATAATTGATGGAATTAG
CFPB  .....T..G..t..AT..A...T...A..T...A...T...
LARJ  .....C...G...T...T..AT...A...T...A...T...C..A...
LAES  .....C...G...T...T..AT...A...T...A...T...C..A...
LAPR  .....C...T...AA..A...A...T...A...T...A...G...
LAAC  .....C...T...AA..A...A...T...A...T...A...G...
LAAN  .....C...T...AA..A...A...T...A...T...A...G...
LCPV  .....A..T...T..GT...A...T...A...C...A...G...
LCIG  .....A..T...T..GT...A...T...A...C...A...G...
LCTE  .....A..T...T..GT...A...T...A...C...A...G...
LFPV  .....C...T...AA..A...A...T...A...T...A...G...
LFPV1 .....C...T...AA..A...A...T...A...T...A...G...
LFIC  .....C...T...AA..A...A...T...A...T...A...G...
LFPC  .....C...T...AA..A...A...T...A...T...A...G...
LFPL  .....C...T...AA..A...A...T...A...T...A...G...
LFPL1 .....C...T...AA..A...A...T...A...T...A...G...
LFPF  .....C...T...AA..A...A...T...A...T...A...G...
LFBA  .....T...AA..A...A...T...A...T...A...G...
LIIB  .....T..AT...A...T...A...T...C..A...
LIPF  .....T...T..AT...A...T...A...T...C..A...
LIPV  .....T...T..AT...A...T...A...T...C..A...
LIIC  .....t..AT...A...T...A...T...C..A...
LIES  .....T...T..AT...A...T...A...T...C..A...
LIRN  .....T...T..AT...A...T...A...T...C..A...
LICU  .....T...T..AT...A...T...A...T...A...G...
LITE  .....T...T..AT...A...T...A...T...C..A...
LITE1 .....T...T..AT...A...T...A...T...C..A...
LMPV  .....C...T...AA..A...A...T...A...T...A...G...
LMIM  .....C...T...AA..A...A...T...A...T...A...G...
LOCF  .....C...T...AA..A...A...T...A...T...A...G...
LOPR  .....C...T...AA..A...A...T...A...T...A...G...
LOAC  .....C...T...T..GT...A...T...A...T...A...GC...
L1RJ  .....T...T..AT...A...T...A...T...T..G...A...C...
L1ES  .....T...T..AT...A...T...A...T...T..G...A...C...
L2ES  .....T..CG..A..t..AT...A...T...A...T...G...
L3SP  .....T...A..T..AT...A...T...A...T...
PFAN  .....T..G...TA..A...A...T...A...T...
PFCM  .....T..G...TA..A...A...T...A...T...
PPAN  .....T..G...T..AT...A...T...A...T...
PPPB  .....T..G...T..AT...A...T...A...T...
PPTE  .....T..G...T..AT...A...T...A...T...G...
PPBC  -----
PEPV  .....T..G...T..AT...A...T...A...T...
PEPL  .....T..G...T..AT...A...T...A...T...
PEAN  .....T..G...T..AT...A...T...A...T...
PETE  .....T..G...T..AT...A...T...A...T...G...

      110     120     130     140     150     160     170     180     190     200
CCPR  CGCAGCCAGGAAATCATTTCITTTAGGGAATTACCAAGTTTATAATGTTTTAATTACTGCACATGCATTTTAAATGATTTTTTTAIGGTTATGCCTGT
CFPB  .A..A...T...Y..A...T...C..T...A...A...W...A...A...
LARJ  .A..A..G..T...G...T...C..T...A...A...A...A...A...
LAES  .A..A..G..T...G...T...C..T...A...A...A...A...A...
LAPR  .T..A...T...A...T...C..T...A...A...C...C...A...A...
LAAC  .T..A...T...A...T...C..T...A...A...C...A...A...
LAAN  .T..A...T...A...T...C..T...A...A...C...A...A...
LCPV  .C..A...T...A...C...C...A...A...G...G...A...A...
LCIG  .C..A...T...A...C...C...A...A...G...G...A...A...
LCTE  .C..A...T...A...T...C...A...A...T...G...A...A...
LFPV  .T..A...T...A...T...C..T...A...A...C...A...A...
LFPV1 .T..A...T...A...T...C..T...A...A...C...A...A...
LFIC  .T..A...T...A...T...C..T...A...A...C...A...A...
LFPC  .T..A...T...A...T...C..T...A...A...C...A...A...
LFPL  .T..A...T...A...T...C..T...A...A...C...A...A...
LFPL1 .T..A...T...A...T...C..T...A...A...C...A...A...
LFPF  .T..A...T...A...T...C..T...A...A...C...A...A...
LFBA  .T..A...T...A...T...C..T...A...C...A...A...C...A...A...
LIIB  .A..A...T...G...T...C..T...A...A...A...A...A...
LIPF  .A..A...T...G...T...C..T...A...A...A...A...A...
LIPV  .A..A...T...G...T...C..T...A...A...A...A...A...
LIIC  .A..A...T...G...T...C..T...A...A...A...A...A...
LIES  .A..A...T...G...T...C..T...A...A...A...A...A...
LIRN  .A..A..G..T...G...T...C..T...A...A...A...A...A...
LICU  .T..A...T...A...C...C...T...C...C...A...A...A...A...
LITE  .A..A..G..T...G...T...C..T...A...A...A...A...A...
LITE1 .A..A..G..T...G...T...C..T...A...A...A...A...A...
LMPV  .T..A...T...A...T...C..T...A...A...C...A...A...
LMIM  .T..A...T...A...T...C..T...A...A...C...A...A...
LOCF  .T..A...T...A...T...C..T...A...A...C...A...A...
LOPR  .T..A...T...A...T...C..T...A...A...C...A...A...
LOAC  .C..A...T...A...T...C..T...C...A...A...C...A...A...

```

```

L1RJ .T.A...T.C...G...T.C.T...C.C...A.A...A...AA
L1ES .T.A...T.C...G...T.C.T...C.C...A.A...A...AA
L2ES .A...T.C...AT...C.C...C...A...C...C...
L3SP .T.A...T...A...c.c.t...C...A.a...C...
PFAN .A.A...T.C.C.A...T.C.T...A...T...A...
PFCM .A.A...T.C.C.A...T.C.T...A...T...A...
PPAN .A.A...T...AT.G...T.C...A.C.G...G...A...
PPPB .A.A...T...AT.G...T.C...A.C.G...G...A...
PPTE .A.A...T...A...T.C...A.C...G...A...
PPBC -----A...t.C...A.C.G...G...A...
PEPV .A.A...T...AT.G...T.C...A.C.G...G...A...
PEPL .A.A...T...AT.G...T.C...A.C.G...G...A...
PEAN .A.A...T...AT.G...T.C...A.C.G...G...A...
PETE .A.A...T...A...T.C...A.C...G...A...

```

```

      210      220      230      240      250      260      270      280      290      300
CCPR TATGATTGGTGGTTTGGTAATTGGTTGTCCTATTATGATAGGTAGCCAGATATGGCATTTCCTAGATTAAATAACATATCATTGGTTATTGCC
CFPB A...A...A...A...A...R...W...T...R...W...Y...T...AC.T.A.T
LARJ A...G...A...A...A...T.G.T...T...T...T...T...AC.T.A...
LAES A...G...A...A...A...T.G.T...T...T...T...T...AC.T.A...
LAPR A...A...A...A...A...T.G.T.G...T...C.G.C.T.T.T...AC.T.A.T
LAAC A...A...A...A...A...T.G.T.G...T...C.G.C.T.T.T...AC.T.A...
LAAN A...A...A...A...A...T.G.T.G...T...C.G.C.T.T.T...AC.T.A...
LCPV A...A...A...C.A.C...T.A.T...T...T...T...T...AC.T.A...
LCIG A...A...A...C.A.C...T.A.T...T...T...T...T...AC.T.A...
LCTE A...A...A...C.A.C...T.A.T...T...T...T...T...AC.T.A...
LFPV A...A...A...A...A...T.G.T.G...T...C.G.C.T.T.T...AC.T.A...
LFPV1 A...A...A...A...A...T.G.T.G...T...C.G.C.T.T.T...AC.T.A...
LFIC A...A...A...A...A...T.G.T.G...T...C.G.C.T.T.T...AC.T.A...
LFFC A...A...A...A...A...T.G.T.G...T...C.G.C.T.T.T...AC.T.A...
LFPL A...A...A...A...A...T.G.T.G...T...C.G.C.T.T.T...AC.T.A...
LFPL1 A...A...A...A...A...T.G.T.G...T...C.G.C.T.T.T...AC.T.A...
LFFP A...A...A...A...A...T.G.T.G...T...C.G.C.T.T.T...AC.T.A.T
LFBA A...A...A...A...A...T.A.T.G...T...C.T.T.T...AC.T.A...
LIIB A...G...A...A...A...T.G.T...T...T...T...T...AC.T.A...
LIPF A...G...A...A...A...T.G.T...T...T...T...T...AC.T.A...
LIPV A...G...A...A...A...T.G.T...T...T...T...T...AC.T.A...
LIIC A...G...A...A...A...T.G.T...T...T...T...T...AC.T.A...
LIES A...G...A...A...A...T.G.T...T...T...T...T...AC.T.A...
LIRN A...G...A...A...A...T.G.T...T...T...T...T...AC.T.A...
LICU A...G...A...A...A...T.A.T.G...T...T...T...T...AC.T.A.T
LITE A...G...A...A...A...T.G.T...T...T...T...T...AC.T.A...
LITE1 A...G...A...A...A...T.G.T...T...T...T...T...AC.T.A...
LMPV A...A...A...A...A...T.G.T.G...T...C.G.C.T.T.T...AC.T.A...
LMIM A...A...A...A...A...T.G.T.G...T...C.G.C.T.T.T...AC.T.A...
LOCF A...A...A...A...A...T.G.T.G...T...C.G.C.T.T.T...AC.T.A...
LOPR A...A...A...A...A...T.G.T.G...T...C.G.C.T.T.T...AC.T.A.T
LOAC A...A...A...A...A...C...T...T...T...T...C...T...T...T...AC.T.A.T
L1RJ C...A...A...A...A...C...T.A.T...T...T...T...T...C.T.A.T
L1ES C...A...C...A...A...C...T.A.T...T...T...T...T...C.T.A.T
L2ES A...C...A...A...A...T...T...T...T...T...C.T.A.A
L3SP A...C...A...A...A...T...T...T...T...T...C.T.A.A
PFAN A...A...A...A...A...G...T...A...C...T...T...AC.T.A.T
PFCM A...A...A...C...A...A...G...T...A...C...T...T...AC.T.A.T
PPAN A...A...A...A...A...A...T...T...T...T...T...AC.T.A.T
PPPB A...A...A...A...A...A...T...T...T...T...T...AC.T.A.T
PPTE A...A...A...A...A...A...T...T...T...T...T...C.T.A.T
PPBC A...G...A...A...A...A...T...T...T...T...T...AC.T.A.T
PEPV A...A...A...A...A...A...T...T...T...T...T...AC.T.A.T
PEPL A...A...A...A...A...A...T...T...T...T...T...AC.T.A.T
PEAN A...A...A...A...A...A...T...T...T...T...T...AC.T.A.T
PETE A...A...A...A...A...A...T...T...T...T...T...C.T.A.T

```

```

      310      320      330      340      350      360      370      380      390      400
CCPR CCGTCTTTATGTTTATTACTTTTATCATCCATAGTAGAAGTAGGTACAGGTACAGGATGAACCTGCCTATCCTCCTTAAGTTCTATTCAAAGTCATTAG
CFPB .T.G...Y...T.A.T...T...T...T...A...A...A...A...T...
LARJ .T.A.G...T.A.T...G.T...T...TT...A...AC...
LAES .T.A.G...T.A.T...G.T...T...TT...A...AC...
LAPR .C.A.G...A.T.G...T...T...TT...C.C...A...AC...
LAAC .C.A.G...A.T.G...T...T...TT...C.C...A...C...
LAAN .C.A.G...A.T.G...T...T...TT...C.C...A...C...
LCPV .T.G...G.A.T...T...G...TT...A...A...
LCIG .T.G...G.A.T...T...G...TT...A...A...
LCTE .T.G...G.A.T...G...C...G...TT...A...G...
LFPV .C.A.G...A.T.G...T...T...TT...C.C...A...C...
LFPV1 .C.A.G...A.T.G...T...T...TT...C.C...A...C...
LFIC .C.A.G...A.T.G...T...T...TT...C.C...A...C...
LFFC .C.A.G...A.T.G...T...T...TT...C.C...A...C...
LFPL .C.A.G...A.T.G...T...T...TT...C.C...A...C...
LFPL1 .C.A.G...A.T.G...T...T...TT...C.C...A...C...
LFFP .C.A.G...A.T.G...T...T...TT...C.C...A...C...

```


LARJ T.A.....T.A.T.A.....T.....T.C.....T.A.T.....
 LAES T.A.....T.A.T.A.....T.....T.C.....T.A.T.....
 LAPR T.A.....C.G.....T.G.T.A.....T.....T.G.....G.T.....A.....
 LAAC T.A.....C.G.....T.G.T.A.....T.....T.G.....G.T.....A.....
 LAAN T.A.....C.G.....T.G.T.A.....T.....T.G.....G.T.....A.....
 LCPV T.A.....G.....T.A.T.A.....A.T.....T.....T.....AC.....A.....
 LCIG T.A.....G.....T.A.T.A.....A.T.....T.....T.....AC.....A.....
 LCTE T.A.....G.....T.A.G.T.A.....A.T.....T.....T.....AC.....A.....
 LFPV T.A.....C.G.....T.G.T.A.....T.....T.G.....G.T.....A.....
 LFPV1 T.A.....C.G.....T.G.T.A.....T.....T.G.....G.T.....A.....
 LFIC T.A.....C.G.....T.G.T.A.....T.....T.G.....G.T.....A.....
 LFPC T.A.....C.G.....T.G.T.A.....T.....T.G.....G.T.....A.....
 LFPL T.A.....C.G.....T.G.T.A.....T.....T.G.....G.T.....A.....
 LFPL1 T.A.....C.G.....T.G.T.A.....T.....T.G.....G.T.....A.....
 LFPF T.A.....C.G.....T.G.T.A.....T.....T.G.....G.T.....A.....
 LFBA T.A.....C.G.....T.G.T.A.....T.....T.G.....G.T.....A.....
 LIIB T.A.....T.A.T.A.....A.T.....T.C.....T.A.T.....
 LIPF T.A.....T.A.T.A.....A.T.....T.C.....T.A.T.....
 LIPV T.A.....T.A.T.A.....A.T.....T.C.....T.A.T.....
 LIIC T.A.....T.A.T.A.....A.T.....T.C.....T.A.T.....
 LIES T.A.....T.A.T.A.....A.T.....T.C.....T.A.T.....
 LIRN T.A.....C.....T.A.T.A.....A.T.....T.C.....T.A.T.....
 LICU T.A.....T.....T.A.T.A.....A.T.....T.....C.....G.....A.....
 LITE T.A.....C.....T.A.T.A.....A.T.....T.....T.C.....T.A.T.....
 LITE1 T.A.....C.....T.A.T.A.....A.T.....T.....T.C.....T.A.T.....
 LMPV T.A.....C.G.....T.G.T.A.....T.....T.G.....G.T.....A.....
 LMIM T.A.....C.G.....T.G.T.A.....T.....T.G.....G.T.....A.....
 LOCF T.A.....C.G.....T.G.T.A.....T.....T.G.....G.T.....A.....
 LOPR T.A.....C.G.....T.G.T.A.....T.....T.G.....G.T.....A.....
 LOAC T.A.....C.....T.A.T.A.....A.T.....C.....T.A.....A.....
 L1RJ T.T.....T.A.T.A.....A.C.....T.....T.....G.....G.....A.....
 L1ES T.T.....T.A.T.A.....A.C.....T.....T.....G.....G.....A.....
 L2ES T.A.....C.....G.....T.A.G.T.A.....A.T.....T.....TT.....T.....
 L3SP T.A.....G.....T.F.....T.A.T.C.....T.....T.....A.....
 PFAN T.A.....T.....T.A.T.A.....A.T.....T.....T.A.....T.G.T.....
 PFCM T.A.....T.....T.A.T.A.....A.T.....T.....T.A.....T.G.T.....
 PPAN T.A.....C.....G.....T.A.T.A.....A.T.....T.....G.....A.....G.....T.....T.....
 PPPB T.A.....C.....G.....T.A.T.A.....A.T.....T.....T.....G.....A.....G.....T.....T.....
 PPTE T.....C.....T.A.T.A.....A.T.....T.....T.....G.....A.....G.....T.....T.....
 PPBC T.A.G.....T.A.T.A.....A.T.....T.....T.....G.....A.....G.....T.....T.....
 PEPV T.A.....C.....G.....T.A.T.A.....A.T.....T.....T.....G.....A.....G.....T.....T.....
 PEPL T.A.....C.....G.....T.A.T.A.....A.T.....T.....T.....G.....A.....G.....T.....T.....
 PEAN T.A.....C.....G.....T.A.T.A.....A.T.....T.....T.....G.....A.....G.....T.....T.....
 PETE T.....C.....T.A.T.A.....A.T.....T.....T.....G.....A.....G.....T.....T.....

610 620 630 640 650 660 670 680 690 700
 CCCR A C T A T G T T A T T A A C T G A T A G A A A T T T T A A T A C C T C A T T T T T T G A T C C T T C A G G G G G G G A G A T C C T A T T C T T T A T C A A C A C T T G T T T T g a t t t t t t g g a c
 CFPBC.....T.....A.A.....G.T.A.....T.A.....
 LARJT.....G.A.A.T.....T.G.....T.....
 LAEST.....G.A.A.T.....T.G.....T.....
 LAPRC.T.T.....A.A.A.T.....T.G.....T.A.....
 LAACG.....C.T.T.....A.A.A.T.....T.G.....T.A.....
 LAANG.....C.T.T.....A.A.A.T.....T.G.....T.A.....
 LCPVC.....G.C.....T.T.....A.A.A.T.....T.G.....T.A.....
 LCIGC.....G.C.....T.T.....A.A.A.T.....T.G.....T.A.....
 LCTEG.....C.....T.T.....A.A.A.T.....T.G.....T.A.....
 LFPVG.....C.T.T.....A.A.A.T.....T.G.....T.A.....
 LFPV1G.....C.T.T.....A.A.A.T.....T.G.....T.A.....
 LFICG.....C.T.T.....A.A.A.T.....T.G.....T.A.....
 LFPCG.....C.T.T.....A.A.A.T.....T.G.....T.A.....
 LFPLG.....C.T.T.....A.A.A.T.....T.G.....T.A.....
 LFPL1G.....C.T.T.....A.A.A.T.....T.G.....T.A.....
 LFPFG.....C.T.T.....A.A.A.T.....T.G.....T.A.....
 LFBAG.....C.T.T.....A.A.A.T.....T.A.....T.A.....
 LIIBC.....T.....A.A.T.....T.A.....T.....
 LIPFC.....T.....A.A.T.....T.A.....T.....
 LIPVC.....T.....A.A.T.....T.A.....T.....
 LIICC.....T.....A.A.T.....T.A.....T.....
 LIESC.....T.....A.A.T.....T.A.....T.....
 LIRNC.....T.....A.A.T.....T.A.....T.....
 LICUG.....C.....T.T.....A.G.A.A.T.....T.A.....T.A.....
 LITEC.....T.....A.A.T.....T.A.....T.....
 LITE1C.....T.....A.A.T.....T.A.....T.....
 LMPVG.....C.T.T.....A.A.A.T.....T.G.....T.A.....
 LMIMG.....C.T.T.....A.A.A.T.....T.G.....T.A.....
 LOCFG.....C.T.T.....A.A.A.T.....T.G.....T.A.....
 LOPRG.....C.T.T.....A.A.A.T.....T.G.....T.A.....
 LOACC.....C.....T.T.....C.A.G.A.A.T.....T.A.....T.A.....
 L1RJC.....T.T.....A.G.A.A.T.....T.A.....T.A.....
 L1ESC.....T.T.....A.G.A.A.T.....T.A.....T.A.....
 L2ESA.....C.....G.....C.T.T.....C.A.T.....C.....T.A.....T.A.....
 L3SPA.....C.....T.....T.A.a.at.....T.A.....T.A.....

```

PFAN      .....C.....T.....A.A.....G.T.A.....T.A.....
PFCM      .....C.....T.....A.A.....G.T.A.....T.A.....
PFAN      .....G.....T.G.....A.A.....G.T.A.....T.A.....
PPPB      .....G.....T.G.....A.A.....G.T.A.....T.A.....
PPTE      .....GC.....T.G.....A.A.G.C.....G.T.A.C.....T.A.....
PPBC      .....GC.....C.G.....T.G.....A.A.....G.T.A.....T.A.....
PEPV      .....G.....T.G.....A.A.....G.T.A.....T.A.....
PEPL      .....G.....T.G.....A.A.....G.T.A.....T.A.....
PEAN      .....G.....T.G.....A.A.....G.T.A.....T.A.....
PETE      .....GC.....T.G.....A.A.G.C.....G.T.A.C.....T.A.....

```

710

```

.....|.....|
CCPR      atccagaagt
CFPB      .....
LARJ      .....
LAES      .....
LAPR      .....
LAAC      .....
LAAN      .....
LCPV      .....
LCIG      .....
LCTE      .....
LFPV      .....
LFPV1     .....
LFIC      .....
LFPC      .....
LFPL      .....
LFPL1     .....
LFPF      .....
LFBA      .....
LIIB      .....
LIPF      .....
LIPV      .....
LIIC      .....
LIES      .....
LIRN      .....
LICU      .....
LITE      .....
LITE1     .....
LMPV      .....
LMIM      .....
LOCF      .....
LOPR      .....
LOAC      .....
L1RJ      .....
L1ES      .....
L2ES      .....
L3SP      .....
PFAN      .....
PFCM      .....
PPAN      .....
PPPB      .....
PPTE      .....
PPBC      .....
PEPV      .....
PEPL      .....
PEAN      .....
PETE      .....

```

Anexo 3. Porcentagem de identidade (na porção inferior) e número de nucleotídeos divergentes (na porção superior) entre as sequências do *rbcL* dos espécimes estudados.

Anexo 4. Porcentagem de identidade (na porção inferior) e número de nucleotídeos divergentes (na porção superior) entre as sequências do *cox1* dos espécimes estudados.

4. DISCUSSÃO GERAL

A comparação dos principais caracteres morfológicos de valor diagnóstico empregados correntemente na taxonomia do complexo *Laurencia* foram avaliados para as nove espécies estudadas (Tab. 12, pág. 242).

A principal característica vegetativa que separa os gêneros do complexo é o número de células pericentrais por segmento axial, sendo quatro para *Laurencia* e duas para *Palisada*, *Chondrophyucus* e *Osmundea*. Nas análises cladísticas com base em caracteres morfológicos realizadas por Garbary & Harper (1998), *Laurencia sensu stricto* foi o gênero basal na topologia e a produção de quatro células pericentrais nos eixos vegetativos foi considerada uma condição plesiomórfica. A tendência de redução evolutiva no número de células pericentrais de quatro para duas também foi considerada por Nam (2006), com base no mesmo resultado. Por outro lado, nas análises filogenéticas realizadas com dados moleculares, *Osmundea* apresenta-se como gênero basal (Fujii *et al.* 2006, Díaz-Larrea 2008, Díaz-Larrea *et al.* 2007, Cassano *et al.* 2009, Gil-Rodríguez *et al.* 2009, presente estudo). Considerando a evolução do número de células pericentrais, Fujii *et al.* (2006) argumentaram que o ancestral do complexo possuía duas células pericentrais nos eixos vegetativos, uma interpretação mais parcimoniosa do que a postulada por Garbary & Harper (1998). Esse caráter tem se mostrado efetivo na separação da grande maioria das espécies de *Laurencia* dos demais gêneros do complexo, sendo uma das exceções a espécie brasileira *L. translucida*. Pelas nossas análises filogenéticas o caráter número de células pericentrais poderia ser interpretado como homoplásico, uma vez que *L. translucida*, com duas células pericentrais, está mais filogeneticamente relacionada com as demais espécies de *Laurencia* (no grupo *Laurencia* I), que possuem quatro células pericentrais, do que com o gênero *Palisada* (grupo *Palisada* I e II) que possui duas pericentrais nos segmentos vegetativos.

A posição do tricoblasto no segmento axial determina a sequência de formação das células pericentrais e está associada aos dois tipos estruturais vegetativos (talos com duas ou quatro pericentrais) (Nam 1999, Nam & Choi 2000). Desta forma, Nam (2006) considera que a posição da primeira célula pericentral em relação à célula basal do tricoblasto possui significado filogenético. Em *Chondrophyucus* e *Osmundea* a primeira célula pericentral é produzida ao lado da célula basal do tricoblasto e a segunda é formada no lado oposto, de modo que o tricoblasto se posiciona entre as duas células pericentrais (Nam 1999, 2006, Nam & Saito 1994, Nam *et al.* 1994, Nam & Choi 1999, 2000). Em *Laurencia* e *Palisada* a primeira célula pericentral é

produzida abaixo da célula basal do tricoblasto e a segunda é formada a certa distância, seguida da terceira e da quarta pericentraes em uma sequência alterna (Nam 1999, 2006, Nam & Saito 1994, Nam *et al.* 1994, Nam & Choi 1999, 2000). Nam (2006) considerou a posição lateral da primeira pericentral uma sinapomorfia unindo *Chondrophycus* e *Osmundea* e a posição abaixo uma simpliomorfia unindo *Laurencia* e *Palisada*. Ao contrário, os dados moleculares indicam que a posição lateral é uma condição plesiomórfica. A posição da primeira célula pericentral relativa ao tricoblasto foi verificada para todas as espécies estudadas (Tab. 12). *Laurencia translucida* e *P. flagelilfera* constituem exceções devido à produção lateral desta célula em relação ao tricoblasto. Desta forma, esse caráter mostrou-se homoplásico nos gêneros *Laurencia* e *Palisada*, uma vez que *L. translucida* e *P. flagellifera* estão filogeneticamente relacionadas com as demais espécies do grupo *Laurencia* I e *Palisada* II, respectivamente, cuja primeira pericentral é produzida abaixo da célula basal do tricoblasto. De acordo com Nam (2006), provavelmente com a mudança no número de células pericentraes na evolução do grupo, a posição da primeira célula pericentral também teria mudado, embora qualquer vantagem evolutiva conferida pela mudança na posição desta célula seja desconhecida. Esta característica é muitas vezes de difícil observação e interpretação e o seu valor como caráter diagnóstico em nível genérico deve ser melhor avaliado através da análise de um maior número de espécies.

A origem dos filamentos espermatangiais e dos tetrasporângios é empregada na separação dos gêneros do complexo *Laurencia*. Em *Osmundea* a origem cortical dos filamentos espermatangiais e dos tetrasporângios é uma condição plesiomórfica, enquanto a origem comum dos filamentos espermatangiais (a partir da célula axial, associados a tricoblastos) e dos tetrasporângios (a partir das células pericentraes) é uma sinapomorfia que une os gêneros *Laurencia*, *Palisada* e *Chondrophycus*. O desenvolvimento espermatangial do tipo tricoblasto, que ocorre nesses três últimos gêneros, envolve a formação de dois ramos laterais, um deles torna-se fértil, produzindo espermatângios e outro permanece estéril (tricoblastos). Os tricoblastos podem ser parcialmente estéreis, em *Chondrophycus*, ou totalmente estéreis, em *Laurencia* e *Palisada*, e são produzidos em receptáculos espermatangiais em forma de taça. No desenvolvimento espermatangial do tipo filamento, encontrado em *Osmundea*, não ocorre produção de ramos estéreis e o receptáculo pode ser em forma de taça ou de bolso. No tipo tricoblasto com depressão espermatangial em forma de taça, uma fileira de células axiais é reconhecível na base da depressão, indicando que há um crescimento contínuo do ápice. Neste

caso, os ramos espermatangiais se dividem sucessivamente em um padrão dicotômico, conseqüentemente levando a uma maior produção de espermatângios (Nam *et al.* 1994, Nam 2006). O ápice em taça permitiria uma estratégia de produção de espermatângios em massa e os ramos estéreis teriam a função de proteger os espermatângios, mais expostos neste tipo de receptáculo, semelhante às paráfises nas Phaeophyceae (Bold & Wynne, 1985, Nam 1999, 2006). Todas as espécies analisadas neste estudo formam receptáculo em taça. Em *Laurencia translucida*, os râmulos masculinos apresentam um crescimento contínuo através da produção sucessiva de novos râmulos férteis subapicais (Fujii *et al.* 1996, presente estudo, pág. 179, figs 331, 332). Dois outros táxons estudados, *L. aldingensis* e *Laurencia* sp.1, também apresentaram desenvolvimento contínuo de râmulos masculinos, em algumas populações. Após a liberação dos espermatângios, novos râmulos férteis apicais se desenvolvem sobre o anterior conferindo um aspecto segmentado ao râmulo (pág. 53, figs 34-36; pág. 194, figs 361, 362). Esse processo pode estar relacionado à regeneração de râmulos em plantas mais velhas, diferentemente do observado em *L. translucida*.

No desenvolvimento espermatangial do tipo filamento não há uma fileira de células axiais na base da depressão e, segundo Nam (2006), o crescimento do ápice cessa conforme a célula apical participa da formação dos ramos espermatangiais. Estes não se ramificam ou são esparsa e alternadamente ramificados, resultando em uma produção relativamente menor de espermatângios quando comparada com o tipo tricoblasto. O receptáculo em forma de bolso confere maior proteção aos espermatângios, o que poderia ter levado a perda dos ramos estéreis nesse tipo de receptáculo.

O arranjo dos tetrasporângios, originados das células pericentrais, tem se mostrado um caráter útil na separação de *Laurencia* (com arranjo em paralelo) de *Chondrophyucus* e *Palisada* (com arranjo em ângulo reto), com exceção de *C. kangjaewonii* que possui tetrasporângios com arranjo paralelo, e foi alocada em um subgênero a parte, *Kangjaewonia*. Entretanto, as análises filogenéticas mostraram que este caráter é homoplásico em *Palisada* devido a *P. poiteaui* e as demais espécies do gênero apresentarem arranjo dos tetrasporângios em ângulo reto e estarem separadas em diferentes agrupamentos (*Palisada* I e *Palisada* II). Este caráter também é homoplásico em *Laurencia*, uma vez que *L. marilzae* e as demais espécies do gênero possuem tetrasporângios em paralelo estão separadas nos agrupamentos *Laurencia* II e *Laurencia* I, respectivamente.

A produção de células pericentraís adicionais nos râmulos tetrasporangiais observada nos gêneros *Palisada* e *Chondrophycus* está relacionada à presença de duas células pericentraís por segmento axial vegetativo (Fujii 1998), com exceção para *P. maris-rubri* (Nam et Saito) K.W. Nam, *P. dinhii* (Masuda et Kogame) K.W. Nam, *P. patentiramea* e *P. thuyoides*, que possuem duas células pericentraís, mas não produzem células pericentraís adicionais (Nam & Saito 1995, Masuda & Kogame 1998, Boisset et al. 2000). Nesses dois gêneros o número de células estéreis no segmento tetrasporangial está associado à fertilidade da segunda célula pericentral e possui significado filogenético de acordo com Nam (2006). Nas espécies de *Chondrophycus* as duas pericentraís pré-existentis permanecem estéreis e os tetrasporângios são produzidos apenas por células pericentraís adicionais. Nas espécies de *Palisada* apenas a primeira célula pericentral permanece estéril, sendo uma autapomorfia do gênero (Nam 2006). No gênero *Palisada* o número de células adicionais por segmento tetrasporangial varia de 1 a 4 (5) e em *Chondrophycus* de 1 a 5 (6) (Nam 1999). Nas duas espécies de *Palisada* analisadas neste estudo o número de células pericentraís adicionais foi constante para cada espécie, sendo produzida uma adicional em *P. perforata* e duas adicionais em *P. flagellifera*, sendo um caráter útil na separação desses táxons. Segundo Nam (2006), na estrutura polissifônica parece que o número de células estéreis está relacionado com a estabilidade estrutural do talo. Talos mais rígidos como os que ocorrem em *Palisada* poderiam compensar a redução de células estéreis, conseqüentemente aumentando a produção de tetrasporângios. Adicionalmente, a estrutura em paliçada formada pelas células corticais, comum no gênero, também parece conferir maior rigidez aos talos (Nam 1999).

No gênero *Laurencia*, que possui quatro células pericentraís nos eixos vegetativos, não são produzidas células pericentraís adicionais nos segmentos tetrasporangiais. Desta forma, a segunda, a terceira e a quarta células pericentraís podem se tornar férteis, dependendo da espécie, sendo que a primeira permanece sempre estéril. Dentre as espécies de *Laurencia* analisadas, *L. dendroidea* foi a única que apresentou apenas uma célula pericentral fértil nos eixos tetrasporangiais (a quarta). A fertilidade da quarta célula pericentral foi constante em todas as amostras analisadas, apesar da grande plasticidade morfológica que esta espécie apresenta. *Laurencia catarinensis*, *L. oliveirana* e *Laurencia* sp.1 produzem duas células pericentraís férteis, enquanto que *L. aldingensis* pode produzir duas ou, mais raramente, três. *Laurencia translucida* constitui uma exceção dentre as espécies estudadas pela produção de células pericentraís

adicionais. Desta forma, este caráter é homoplásico em *Laurencia*, uma vez que *L. translucida* agrupou-se com as demais espécies de *Laurencia* I que não produzem pericentrais adicionais.

O número de células pericentrais que forma o procarpo foi empregado na separação dos gêneros *Palisada* e *Chondrophyucus* por Nam (2006). Embora esse caráter seja ainda desconhecido para muitas espécies do complexo, a produção de quatro células pericentrais é compartilhada apenas por espécies do gênero *Palisada*. Espécies de *Chondrophyucus* e *Laurencia* possuem 5 células pericentrais no procarpo e de *Osmundea* de 5 a 6 (Nam & Saito 1990, 1991a, 1991b, 1994, Nam *et al.* 1991, 1994, Fujii & Cordeiro-Marino 1996, Fujii *et al.* 1996, Senties & Fujii 2002, Nam 1999, 2006). No presente estudo as espécies de *Laurencia* apresentaram cinco pericentrais no procarpo (exceção para *L. catarinensis*, cujo procarpo não foi encontrado) e as espécies de *Palisada*, quatro, corroborando os dados de Nam & Saito (1995) e Nam (1999, 2006). Nas análises filogenéticas, as espécies de *Palisada* com quatro células pericentrais no procarpo formaram o grupo *Palisada* II (caráter desconhecido para *P. corallopsis* e *P. thuyoides*). *Chondrophyucus furcatus* é uma exceção pela produção de 5 células pericentrais (Fujii 1998). Embora os dados indiquem que o número de células pericentrais formadoras do procarpo possa ter valor diagnóstico na separação de *Palisada* dos demais gêneros do complexo, esse caráter precisa ser melhor avaliado abrangendo um maior número de espécies.

As etapas iniciais do desenvolvimento do procarpo até a formação do ramo carpogonial e os eventos pós-fertilização foram semelhantes para todas as espécies estudadas e aos descritos para espécies de *Palisada* e *Laurencia* por outros autores (Nam & Saito 1995, Fujii & Cordeiro-Marino 1996, Fujii 1998, Fujii *et al.* 2006, Nam 2006).

A presença ou ausência de ligações secundárias entre as células corticais vem sendo empregada na separação de gêneros e seções do complexo *Laurencia* desde Saito (1967). De acordo com Nam *et al.* (2000) e McIvor *et al.* (2002a) este caráter possui significado filogenético. A presença de ligações secundárias em todas as espécies do Pacífico norte americano que formam o grupo basal em *Osmundea* (pág. 262, fig. 437, 2b), indica que esta é uma condição plesiomórfica. A partir da condição ancestral ocorreu uma única mudança no estado de caráter com a perda de ligações secundárias nas espécies européias, *O. pinnatifida* e *O. osmunda* (McIvor *et al.* 2002a). Por outro lado, a ocorrência dessas ligações une as demais espécies do Atlântico europeu, *O. truncata*, *O. oederi* (como *O. ramosissima*), *O. cf. pinnatifida* e *Osmundea* sp.

No grupo *Palisada* II o caráter ligações secundárias é homoplásico, uma vez que em todas as espécies do grupo faltam ligações secundárias, exceto em *C. furcatus*. Nos grupos *Laurencia* I e II, ligações secundárias estão presentes em todas as espécies analisadas com uma única exceção, *L. translucida* que exibe a condição derivada (ausência de ligações secundárias). Desta forma, perdas independentes de ligações secundárias ocorreram em *Osmundea* e *Laurencia*. De acordo com McIvor *et al.* (2002a) é difícil interpretar que pressão evolutiva existiria para a perda de ligações secundárias em espécies do complexo, uma vez que a função dessas ligações ainda não é totalmente compreendida.

Uma outra característica anatômica frequentemente empregada na separação de gêneros e espécies do complexo é a presença ou ausência de espessamentos lenticulares nas paredes das células medulares (Yamada 1931, Saito 1967). De acordo com Fujii (1998) a utilização desta característica na identificação de espécies de *Laurencia sensu stricto* requer cautela devido à variação quantitativa e na localização dessas estruturas em diferentes partes do talo, que podem variar tanto entre espécies diferentes como dentro de uma mesma espécie, o que foi corroborado neste estudo. Espessamentos são encontrados em algumas espécies de *Laurencia* e *Osmundea*, mas estão completamente ausentes em *Palisada* e *Chondrophyucus*. Nas espécies de *Laurencia* analisadas esse caráter mostrou-se extremamente variável entre espécimes de *L. dendroidea*, mas foi conservado para espécimes de *L. caduciramulosa* e *Laurencia* sp.1, cujos talos apresentaram abundantes espessamentos em todas as amostras analisadas. Espessamentos foram mais raros em *L. oliveirana* e nunca foram observados em *L. aldingensis* e *L. catarinensis*.

As espécies de *Osmundea* do Pacífico norte americano (grupo basal) não apresentam espessamentos lenticulares, o que poderia ser interpretado como uma condição plesiomórfica. A partir da condição ancestral ocorreu uma mudança no estado de caráter nas espécies européias *O. pinnatifida*, *O. truncata* e *O. osmunda* que possuem espessamentos lenticulares. Na espécie *O. oederi* do Atlântico europeu falta espessamentos; para *O. cf. pinnatifida* e *Osmundea* sp. essa característica não foi verificada. Na maioria dos subgrupos formados em *Laurencia* I foram agrupadas espécies com e sem espessamentos lenticulares, com exceção apenas do grupo formado por *L. aldingensis* e *L. intricata /catarinensis*, que não possui espessamentos. Embora as relações filogenéticas dos grupos *Laurencia* I e II não tenham sido completamente resolvidas, os resultados obtidos parecem indicar que esse caráter surgiu mais de uma vez de forma independente na história evolutiva do complexo.

A projeção das paredes das células corticais é uma característica que tem sido utilizada na identificação de algumas espécies do complexo *Laurencia* (Yamada 1931, Saito & Womersley 1974, Fujii 1990, Fujii *et al.* 1996). O grau de projeção das células corticais foi variável em algumas espécies estudadas, como em *L. dendroidea* e *L. catarinensis* (Tab. 12). Por outro lado, esse caráter foi constante para *L. caduciramulosa*, *L. aldingensis*, *L. translucida* e *Laurencia* sp.1, cujas células corticais são sempre projetadas na primeira espécie e não projetadas nas três últimas. Apesar desse caráter não ser conservado para todas as espécies, ele pode auxiliar na identificação de espécies morfológica ou filogeneticamente próximas, quando combinado a outras características, como é o caso de *L. caduciramulosa* e *L. decidua* e de *L. catarinensis* e *L. aldingensis*.

Corps en cerise são encontrados apenas em espécies de *Laurencia*, com exceção de *Palisada parvipapillata* (Tseng) K.W. Nam (Masuda *et al.* 1997c, Nam 1999), e são os principais locais de síntese e/ou armazenamento de metabólitos secundários halogenados (Young *et al.* 1980, Salgado *et al.* 2008). O número de *corps en cerise* por célula cortical tem sido considerado de valor taxonômico para a delimitação de espécies (McDermid 1988, Masuda & Abe 1993, Abe *et al.* 1998). Nas espécies estudadas apenas *L. caduciramulosa* e *L. oliveirana* apresentaram um a raramente dois *corps en cerise* por célula. Nas demais espécies o número variou de um a três, com exceção de *L. translucida* que não possui *corps en cerise*. A sobreposição dessa característica entre as diferentes espécies brasileiras mostra que ela não possui valor diagnóstico em nível específico, como já salientado por Fujii (1998).

A análise morfológica detalhada realizada neste estudo mostrou que as características reprodutivas que vem sendo amplamente empregadas na análise do complexo *Laurencia* são efetivas na separação de gêneros e subgêneros do complexo, mas se sobrepõem nas diferentes espécies. Nos táxons estudados a única característica reprodutiva que pode auxiliar a separação de espécies é a fertilidade das células pericentrais nos segmentos tetrasporangiais. Desta forma, a delimitação de espécies do complexo deve ser baseada na combinação de características vegetativas e reprodutivas, confirmada por dados moleculares.

5. CONCLUSÕES

- O estudo morfológico e filogenético de espécies do complexo *Laurencia* permitiu confirmar oito espécies para o litoral brasileiro: *Laurencia caduciramulosa* Masuda et Kawaguchi, *L. catarinensis* Cordeiro-Marino et M.T. Fujii, *L. dendroidea* J. Agardh, *L. oliveirana* Yoneshigue, *L. translucida* M.T. Fujii et Cordeiro-Marino, *Palisada flagellifera* (J. Agardh) K.W. Nam, *P. perforata* (Bory) K.W. Nam e *Chondrophyucus furcatus* (Cordeiro-Marino et M.T. Fujii) M.T. Fujii et Senties. Das oito espécies citadas, apenas *C. furcatus* não foi encontrada no estado do Rio de Janeiro.

- As inferências filogenéticas geradas a partir dos dados moleculares confirmaram a monofilia do complexo *Laurencia* e do gênero *Osmundea*. Entretanto, as relações entre os gêneros *Laurencia* e *Palisada* não foram completamente resolvidas. Possivelmente, pelo menos dois novos gêneros terão que ser criados para acomodar diferentes agrupamentos monofiléticos. Entretanto, é essencial para essa análise a inclusão de mais espécies, principalmente do gênero *Chondrophyucus*.

- Os dados moleculares confirmaram que *Chondrophyucus furcatus* pertence ao gênero *Palisada*, cuja mudança nomenclatural será providenciada em futura publicação. Com a transferência desse táxon para *Palisada*, não haverá mais representantes de *Chondrophyucus* no litoral brasileiro.

- A confirmação da posição taxonômica de *Laurencia aldingensis* e de *Laurencia* sp.1 depende da comparação com sequências ainda não disponíveis de *L. aldingensis* e de *L. filiformis* da localidade-tipo (Austrália).

- O posicionamento filogenético e a divergência das sequências de *Laurencia* sp. 2 e *Laurencia* sp. 3 em relação às demais espécies de *Laurencia* indicam o estabelecimento desses táxons como novos para a ciência sob uma nova categoria genérica, cuja descrição depende de estudos morfológicos detalhados que incluam estruturas reprodutivas.

- As análises filogenéticas com base em dados moleculares mostraram que *Laurencia intricata* da localidade-tipo (Antilhas) é distinta da reportada para o Brasil. As citações dessa espécie para o Rio de Janeiro correspondem à *L. catarinensis*, confirmada através de sequência da localidade-tipo.

- *Laurencia dendroidea* é morfologicamente plástica e inclui os táxons anteriormente citados para o Brasil como *Laurencia arbuscula*, *L. filiformis*, *L. majuscula* e *L. obtusa*. Os dados moleculares confirmaram que esses táxons constituem uma mesma entidade taxonômica e os exames dos materiais-tipo e/ou de referência permitiram identificá-los como *L. dendroidea*, cuja localidade-tipo é o Brasil. *Laurencia obtusa* do Atlântico Norte é uma espécie distinta, confirmada também pelos dados moleculares sendo, portanto, equivocadas as citações desse táxon para o litoral brasileiro.

- Os resultados moleculares e a comparação morfológica detalhada de *Palisada perforata* e *P. papillosa* do Brasil, Ilhas Canárias e México mostraram que esses táxons são coespecíficos, tendo *P. perforata* prioridade sobre *P. papillosa*. Além disso, duas novas combinações foram propostas para o gênero *Palisada*, sendo elas: *Palisada thuyoides* (Kützinger) Cassano, Sentíes, Gil-Rodríguez et M.T. Fujii e *Palisada patentiramea* (Montagne) Cassano, Sentíes, Gil-Rodríguez et M.T. Fujii.

- Os resultados moleculares permitiram ainda confirmar quatro espécies do complexo *Laurencia* para as Ilhas Canárias: *Laurencia caduciramulosa*, *L. catarinensis* (citada previamente como *L. intricata*), *L. dendroidea* (como *L. majuscula*) e *Palisada flagellifera* (como *C. cf. thuyoides*). *Palisada flagellifera* representa nova citação para o oceano Atlântico oriental. O posicionamento das espécies brasileiras e das Ilhas Canárias nas árvores filogenéticas mostra que elas estão mais proximamente relacionadas entre si do que com as espécies do Caribe.

- Maiores valores de divergência genética intraespecífica foram obtidos para o *cox1*, enquanto maiores valores de divergência interespecífica foram obtidos para o espaçador *rbcL-S*, seguidos do *cox1* e do *rbcL*. A variação genética obtida a partir dos três marcadores foi eficiente na separação de categorias taxonômicas específicas.

- As análises realizadas com a combinação dos três marcadores (*rbcL*, *rbcL-S* e *cox1*) aumentou o suporte para a maioria das relações estabelecidas e apresentou melhor resolução das topologias das árvores filogenéticas.

- As primeiras inferências filogenéticas para espécies do complexo *Laurencia* utilizando-se o marcador mitocondrial *cox1* foram realizadas neste estudo. As relações entre as espécies do complexo *Laurencia* analisadas não foram completamente resolvidas. No entanto, o *cox1* mostrou-se um marcador eficiente na identificação e delimitação de categorias taxonômicas específicas, o que corrobora o seu uso para “barcoding”.

- A nova circunscrição proposta para os gêneros do complexo *Laurencia* ainda não permite acomodar perfeitamente todas as espécies nos seus respectivos gêneros devido à sobreposição de caracteres morfológicos considerados de valor diagnóstico.

LITERATURA CITADA

- Abbott, I. A. & Hollenberg, G.J.** 1976. Marine algae of California. Stanford University Press, Stanford, California. xii + 789 p.
- Abe, T., Masuda, M., Kawaguchi, S. & Kamura, S.** 1998. Taxonomic notes on *Laurencia brongniartii* (Rhodomelaceae, Rhodophyta). Phycological Research 46: 231-237.
- Abe, T., Kurihara, A., Kawaguchi, S., Terada, R. & Masuda, M.** 2006. Preliminary report on the molecular phylogeny of the *Laurencia* complex (Rhodomelaceae). Coastal Marine Sciences 30: 209–213.
- Agardh, C.A.** 1822. *Species algarum*. 1, part 2, Lund: viii + 169-398.
- Agardh, J.G.** 1852. *Species genera et ordines algarum, Volumen secundum: algas florideas complectens*. Lund. Part 3, fasc. 1: 701-786.
- Agardh, J.G.** 1863. *Species genera et ordines algarum. Volumen secundum*, Lund. Part 3: 701-1291.
- Agardh, J.G.** 1876. *Species genera et ordines algarum, Volumen tertium: de Florideis curae posteriores*. Leipzig, Part 1. vii + 724p.
- Altamiro, M. & Nunes, J.M. de C.** 1997. Contribuciones al macrofitobentos del município de Camaçari (Bahia, Brasil). Acta Botanica Malacitana 22: 211-215.
- Amado Filho, G. M., Horta, P. A., Brasileiro, P. S., Barros-Barreto, M. B. & Fujii, M.T.** 2006. Subtidal benthic marine algae of the Marine State Park of Laje de Santos (São Paulo, Brazil). Brazilian Journal of Oceanography 54: 225-234.
- Avise J. C.** 1994. Molecular Markers, Natural History and Evolution. Chapman & Hall, New York, 511 p.
- Baptista, L.R.M.** 1977. Flora marinha de Torres (Chlorophyta, Xanthophyta, Phaeophyta, Rhodophyta). Boletim do Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Série Botânica 37: 1-244.
- Barros-Barreto, M.B., McIvor, L., Maggs, C.A. & Ferreira, P.C.G.** 2006. Molecular systematics of *Ceramium* and *Centroceras* (Ceramiaceae, Rhodophyta) from Brazil. Journal of Phycology 42: 905–921.
- Bellorin, A.M., Buriyo, A., Sohrabipour, J., Oliveira, M.C. & Oliveira E.C.** 2008.

- Gracilariopsis mclachlanii* sp. nov. and *Gracilariopsis persica* sp. nov. of the Gracilariaceae (Gracilariales, Rhodophyceae) from the Indian ocean. *Journal of Phycology* 44: 1022–1032.
- Bold, H.C. & Wynne, M.J.** 1985. Introduction to the Algae. Structure and reproduction. Prentice Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, 720p.
- Boisset, F., Furnari G., Cormaci M. & Serio D.** 2000. The distinction between *Chondrophycus patentirameus* and *C. paniculatus* (Ceramiales, Rhodophyta). *European Journal of Phycology* 35: 387-395.
- Bory de Saint-Vincent J.B.G.M.** 1803. Essais sur les îles Fortunées et l'antique Atlantide, ou précis de l'histoire general de l'archipel des Canaries. Baudouin, Paris, 522 p., 4 pls
- Brito, L.V.R., Széchy, M.T.M. & Cassano, V.** 2002. Levantamento taxonômico das macroalgas da zona das marés de costões rochosos adjacentes ao Terminal Marítimo Almirante Maximiano Fonseca, Baía da Ilha Grande, RJ. *Atlântica* 24: 17-26.
- Brodie, J., Hayes, P.K., Barker, G.L., Irvine, L.M. & Bartsch, I.** 1998. A reappraisal of *Porphyra* and *Bangia* (Bangiothycidae, Rhodophyta) in the Northeast Atlantic based on the *rbcL-rbcS* intergenic spacer. *Journal of Phycology*. 34: 1069-1074.
- Calumpang, H.P.** 1989. Systematic studies on the red algal genus *Laurencia* (Ceramiales: Rhodomelaceae) in the Philippines. PhD. Thesis, University of California, Berkeley, USA, 185p.
- Carvalho, L. R., Fujii, M. T., Roque, N. F., Kato, M. J. & Lago, J. H. G.** 2003. Aldingenin A, new brominated sesquiterpene from red algae *Laurencia aldingensis*. *Tetrahedron Letters* 44: 2637-2640.
- Carvalho, L. R., Fujii, M. T., Roque, N. F., & Lago, J. H. G.** 2006. Aldingenin derivatives from the red alga *Laurencia aldingensis*. *Phytochemistry* 67: 1331-1335.
- Cassano, V., Széchy, M. T. M. & Fujii, M.T.** 2006. *Laurencia caduciramulosa* (Ceramiales, Rhodophyta) from Ilha Grande Bay, Rio de Janeiro, Brazil: a recently introduced species into the Atlantic Ocean? *Cryptogamie, Algologie*. 27: 265-277.
- Cassano, V., Gil-Rodríguez, M.C., Senties, A.G. & Fujii, M.T.** 2008a. *Laurencia*

- caduciramulosa* (Ceramiales, Rhodophyta) from Canary Islands, Spain: a new record for eastern Atlantic Ocean. *Botanica Marina* 51: 156-158.
- Cassano, V., De-Paula, J.C., Fujii, M.T., Da Gama, B.A.P. & Teixeira, V.L.** 2008b. Sesquiterpenes from the introduced red seaweed *Laurencia caduciramulosa* (Rhodomelaceae, Ceramiales) *Biochemical Systematics and Ecology* 36: 223-226.
- Cassano, V., Fujii, M.T., Díaz-Larrea, J., Oliveira, M.C., Gil-Rodríguez, M.C. & Senties, A.G.** 2009. Evidence for the conspecificity of *Palisada papillosa* with *P. perforata* (Ceramiales, Rhodophyta) from the western and eastern Atlantic Ocean on the basis of morphological and molecular analyses. *Phycologia* 48: 86-100.
- Clarke, C., Hilliard, R., Junqueira, A. de O. R., Leal Neto, A. de C., Polglaze, J. & Raaymakers, S.** 2004. Ballast water risk assessment: Porto of Sepetiba, Federal Republic of Brazil. *Globallast Monograph Series* n. 14, p. 1-63, 7 append. International Maritime Organization, London.
- Coimbra, C.** 2006. Inferências filogenéticas na ordem Fucales (Phaeophyceae), com ênfase no gênero *Sargassum* C. Agardh do Atlântico Sul. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, 75p.
- Cocentino, A.L.M.** 1994. Família Rhodomelaceae (Ceramiales, Rodhophyta) na praia de Serrambi - Ipojuca - PE - Brasil. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 193p.
- Conde, F., Flores-Moya, A., Soto, J., Altamirano, M. & Sánchez, A.** 1996. Check-list of Andalusia (S. Spain) seaweeds. III. Rhodophyceae. *Acta Botanica Malacitana* 21: 7-33.
- Cordeiro-Marino, M.** 1978. Rodofíceas bentônicas marinhas do estado de Santa Catarina. *Rickia* 7: 1-243.
- Cordeiro-Marino, M. & Fujii, M.T.** 1985. *Laurencia catarinensis* (Rhodomelaceae, Rhodophyta), a new species from Ilha de Santa Catarina, Brazil. *Revista Brasileira de Botânica* 8: 47-53.
- Cordeiro-Marino, M., Fujii, M.T. & Pinheiro-Joventino, F.** 1994. Morphological and cytological studies of *Laurencia furcata* Cordeiro-Marino and Fujii (Rhodophyta, Rhodomelaceae): a new species from Brazil. *Cryptogamic Botany* 4: 373-380.

- Cordeiro-Marino, M., Fujii, M.T. & Yamagishi-Tomita, N.** 1983. Morphological and cytological studies on Brazilian *Laurencia*. 1: *L. arbuscula* Sonder (Rhodomelaceae, Rhodophyta). *Rickia* 10: 29-391.
- Cormaci, M., Lanfranco, E., Borg, J.A., Buttgieg, J.A., Furnari, G., Micallef, S.A., Mifsud, C., Pizzuto, F., Scammacca, B. & Serio, D.** 1997. Contributions to the knowledge of benthic marine algae on rocky substrata of the Maltese Islands (Mediterranean Sea). *Botanica Marina* 40: 203-215.
- Da Gama, B. A. P., Pereira, R. C., Carvalho, A. G. V., Coutinho & Yoneshigue-Valentin, Y.** 2002. The effects of seaweed secondary metabolites on biofouling. *Biofouling* 18: 13-20.
- Da Gama, B. A. P., Pereira, R. C., Soares, A. R., Teixeira, V. L., Yoneshigue-Valentin, Y.** 2003. Is the mussel test a good indicator of antifouling activity? A comparison between laboratory and field assays. *Biofouling*: 19: 161-169.
- Dawes, C.J. & Mathieson, A.C.** 2008. *The Seaweeds of Florida*. University Press of Florida, 592 p
- Dawson, E.Y.** 1954. The marine flora of Isla San Benedicto following the volcanic eruption of 1952-53. Allan Hancock Foundation Publications of the University of Southern California, Occasional Paper 16: 1-25.
- Dawson, E.Y.** 1963. Marine red algae of Pacific Mexico. Part. 8. Ceramiales: Dasyaceae, Rhodomelaceae. *Nova Hedwigia* 6: 401-481.
- Desfontaines, R.** 1799. *Flora atlantica sive historia plantarum, quae in Atlante, agro Tunetano et Algeriensi crescunt*. Paris, L.G. Desgranges, vol. 2, pp. 161-458, pls 181-261.
- Destombe, C. & Douglas, S.E.** 1991. Rubisco spacer sequence divergence in the Rhodophyta alga *Gracilaria verrucosa* and closely related species. *Current Genetics* 19: 395-398.
- Díaz-Larrea, J., Senties, A.G., Fujii, M.T., Pedroche, F.F. & Oliveira, M.C.** 2007. Molecular evidence for *Chondrophyucus poiteaui* var. *gemmiferus* comb. et stat. nov. (Ceramiales, Rhodophyta) from the Mexican Caribbean Sea: implications for the taxonomy of the *Laurencia* complex. *Botanica Marina* 50: 250-256.
- Díaz-Larrea, J.** 2008. *Sistemática molecular del complejo Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta) en el Caribe mexicano. Tese de Doutorado. Universidad Autonoma Metropolitana, Iztapalapa. 131p.

- Doyle, J.J. & Doyle, J.L.** 1987. A rapid DNA isolation procedure from small quantities of fresh leaf tissues. *Phytochemical. Bulletin* 19: 11-15.
- Edwards, A. & Lubbock, R.** 1983. The ecology of Saint Paul's rocks (Equatorial Atlantic). *Journal of Zoology* 200: 51-69.
- Epifanio, R.A., Da Gama B.A.P., Pereira, R.C.** 2006. Epoxypukalide as the antifouling agent from the Brazilian endemic sea fan *Phyllogorgia dilatata* Esper (Octocorallia, Gorgoniidae). *Biochemical Systematics and Ecology* 34: 446-448.
- Falcão, C. & Széchy, M.T.M.** 2005. Changes in shallow phytobenthic assemblages in southeastern Brazil, following the replacement of *Sargassum vulgare* (Phaeophyta) by *Caulerpa scalpelliformis* (Chlorophyta). *Botanica Marina* 48: 208-217.
- Falcão, C., Maurat, M.C., Nassar, C.A.G., Széchy, M.T.M. & Mitchell, G.J.P.** 1992. Benthic marine flora of the Northeastern and Southeastern coast of Ilha Grande, Rio de Janeiro, Brazil: phytogeographic considerations. *Botanica Marina* 35: 357-364.
- Falkenberg, P.** 1901. Die Rhodomelaceen des Golfes von Neapel und der Angrenzenden Meeres-Abschnitte. *Fauna Flora Golfes Neapel* 26. Berlin. 754p.
- Feldmann, J.** 1943. Les algues marines de la côte des Albères, IV. Céramiales. *Travaux Algologiques* 1: 29-113.
- Felsenstein, J.** 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-91.
- Ferreira, M.V., Pereira, S. M.P., Carvalho, F.A.F. de, Teixeira, G.C., Guedes, E.A.C., Paes e Mello, L.B., Mattos, S.M.G. de, Silva, R.L. da, Pedrosa, M.E.B. & Carvalho, G.V.S.** 1988. Prospecção dos bancos de algas marinhas dos estados da Paraíba, Pernambuco e Alagoas (profundidade de 0 a 10 m). In: Congresso Brasileiro de Engenharia de Pesca, 5, Fortaleza. Anais... Fortaleza, Sociedade dos Engenheiros de Pesca do estado do Ceará, pp. 597-668.
- Fernández, J.J., Souto, M.L., Gil, L.V. & Norte, M.** 2005. Isolation of naturally occurring dactylomelane metabolites as *Laurencia* constituents. *Tetrahedron* 61: 8910-8915.
- Fidalgo, O. & Bononi, V.L.R.** 1984. Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico. Instituto de Botânica, São Paulo, Manual n° 4, 62pp.
- Figueiredo, M. A. de O.** 1989. Ficoflora marinha do Município de Parati, Rio de Janeiro.

- Dissertação de Mestrado, Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 236 p.
- Figueiredo-Creed, M.A. de O. & Yoneshigue-Valentin, Y.** 1997. Chlorophyta, Phaeophyta e Rhodophyta. In: Marques, M.C.M. (Ed.). Mapeamento da cobertura vegetal e listagens das espécies ocorrentes na Área de Proteção Ambiental de Cairuçu, Município de Parati, RJ, pp. 30-36. Série Estudos e Contribuições, Instituto de Pesquisas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.
- Figueiredo, M.A. de O., Barros-Barreto, M.B.B. & Reis, R.P.** 2004. Caracterização das macroalgas nas comunidades marinhas da Área de Proteção Ambiental de Cairuçu, RJ – subsídios para futuros monitoramentos. *Revista Brasileira de Botânica* 27: 11-17.
- Figueiredo, M. A. de O. & Tâmega, F. T. de S.** 2007. Macroalgas Marinhas. In: Biodiversidade Marinha da Ilha Grande. (Creed, J.C., Pires, D. O. & Figueiredo, MA. de O. Orgs). Ministério do Meio Ambiente v. 23, pp. 153-180.
- Forsskål, P.** 1775. *Flora Aegyptiaco-Arabica*. Copenhagen, 32 + CXXVI + 219p.
- Fredericq, S. & Ramírez, M. E.** 1996. Systematic studies of the antarctic species of the Phylloporaceae (Gigartinales, Rhodophyta) based on *rbcL* sequence analysis. *Hydrobiologia* 326/327: 137-143.
- Fredericq, S., Hommersand, M. H. & Freshwater, D. W.** 1996. The molecular systematics of some agar- and carrageenan-containing marine red algae based on *rbcL* sequence analysis. *Hydrobiologia* 326/327: 125-135.
- Fredericq, S., Freshwater, D.W & Hommersand, M.H.** 1999. Observations on the phylogenetic systematics and biogeography of the Solieriaceae (Rhodophyta, Gigartinales) inferred from *rbcL* sequences and morphological evidence. *Hydrobiologia* 398/399: 25-38.
- Freshwater, D.W. & Rueness, J.** 1994. Phylogenetic relationships of some European *Gelidium* (Gelidiales, Rhodophyta) species, based on *rbcL* nucleotide sequence analysis. *Phycologia* 33: 187-194.
- Freshwater, D.W., Fredericq, S. & Bailey, J.C.** 1999. Characteristics and utility of nuclear-encoded large-subunit ribosomal gene sequences in phylogenetic studies of red algae. *Phycological Research* 47: 33-38.
- Freshwater, D.W., Fredericq, S. & Hommersand, M.H.** 1995. A molecular phylogeny of

- the Gelidiales (Rhodophyta) based on analysis of plastid *rbcL* nucleotides sequences. *Journal of Phycology* 31: 616-632.
- Freshwater, D.W., Fredericq, S., Bradley, S.B., Hommersand, M.H. & Chase, M.W.** 1994. A gene phylogeny of the red algae (Rhodophyta) based on *rbcL*. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America* 91: 7281-7285.
- Fujii, M.T.** 1990. Gênero *Laurencia* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) no Estado de São Paulo: aspectos biológicos e taxonômicos. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 145p.
- Fujii, M.T.** 1998. Estudos morfológicos, quimiotaxonômicos e citológicos em quatro espécies selecionadas de *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta) do litoral brasileiro. Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 176p.
- Fujii, M.T., Collado-Vides, L. & Cordeiro-Marino, M.** 1996. Morphological studies of *Laurencia gemmifera* and *Laurencia poiteaui* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) from the Nichupté Lagoon System, Quintana Roo, México. *Botanica Marina* 39: 317-326.
- Fujii, M.T. & Cordeiro-Marino, M.** 1996. *Laurencia translucida* sp. nov. (Ceramiales, Rhodophyta) from Brazil. *Phycologia* 35: 542-549.
- Fujii, M.T. & Senties, G. A.** 2005. Taxonomia do complexo *Laurencia* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) do Brasil, com ênfase nas espécies dos estados de São Paulo e do Espírito Santo. In: Senties, G. A. & Dreckmann, KM. (Eds). *Monografias Ficológicas. II. México, Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa, México, Instituto de Botânica, São Paulo, Brasil*, pp. 69-135.
- Fujii, M. T. & Villaça, R.** 2003. On the occurrence of *Laurencia caraibica* (Ceramiales, Rhodophyta) in Atol das Rocas, Brazil. *Hidrobiológica*, 13: 33-38.
- Fujii, M.T., Guimarães, S.M.P.B. & Alves, J.P.** 2005. Ocorrência de *Laurencia venusta* (Ceramiales, Rhodophyta) no Espírito Santo, Brasil: distribuição biogeográfica disjunta ou introdução recente? In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FICOLOGIA, 10, 2004, Salvador. *Formação de Ficólogos: um compromisso com a sustentabilidade dos recursos aquáticos: anais...* Rio de Janeiro: Museu Nacional. p. 527-536. Org. Sociedade Brasileira de Ficologia (Série Livros; 10).
- Fujii, M.T., Guimarães, S.M.P.B., Gurgel, C.F.D. & Fredericq, S.** 2006. Characterization

- and phylogenetic affinities of the red alga *Chondrophyucus flagelliferus* (Rhodomelaceae, Ceramiales) from Brazil based on morphological and molecular evidence. *Phycologia* 45: 432–441.
- Furnari, G. & Serio, D.** 1993. The distinction between *Laurencia truncata* (Ceramiales, Rhodophyta) in the Mediterranean Sea from *Laurencia pinnatifida*. *Phycologia* 32: 367-372.
- Furnari, G. Cormaci, M. & Serio, D.** 2001. The *Laurencia* complex (Rhodophyta, Rhodomelaceae) in the Mediterranean Sea: an overview. *Cryptogamie, Algologie* 22: 331-373.
- Ganesan, E.K.** 1990. A catalog of benthic marine algae and seagrasses of Venezuela. Caracas: Fondo Editorial Conicit, 237p.
- Garbary, D.J. & Harper, J.T.** 1998. A phylogenetic analysis of the *Laurencia* complex (Rhodomelaceae) of the red algae. *Cryptogamie, Algologie* 19: 185-200.
- Geraldino, P. J. L., Yang, E.C. & Boo, S.M.** 2006. Morphology and Molecular Phylogeny of *Hypnea flexicaulis* (Gigartinales, Rhodophyta) from Korea. *Algae* 21: 417-423.
- Gestinari, L.M.S., Nassar, C.A.G. & Arantes, P.V.S.** 1998. Algas marinhas bentônicas da Reserva Biológica Estadual da Praia do Sul, Ilha Grande, Angra dos Reis, Rio de Janeiro, Brasil. *Acta Botânica Brasílica* 12: 67-76.
- Gil-Rodríguez, M.C. & Haroun, R.** 1993. The genus *Laurencia* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) in the Canary Islands. *Courier Forsch.* 159: 113-117.
- Gil-Rodríguez, M.C., Senties, A.G., Díaz-Larrea, J., Cassano, V. & Fujii, M.T.** 2009. *Laurencia marilzae* sp. nov. (Ceramiales, Rhodophyta) from the Canary Islands, Spain, based on morphological and molecular evidence. *Journal of Phycology* 45: 264-271.
- Gmelin S.G.** 1768. *Historia fucorum*. Academia Scientiarum Petropoli [St Petersburg]. 239 p, 35 pls.
- Goff, L.J., Moon, D.A. & Coleman, A.W.** 1994. Molecular delineation of species and species relationship in the red algal agarophytes *Gracilariopsis* and *Gracilaria* (Gracilariales). *Journal of Phycology* 30:521-537.
- Gómez Garreta, A., Gallardo, T., Ribera, M.A., Cormaci, M., Furnari, G. Giaccone, G.**

- & Boudouresque, C.-F.** 2001. Checklist of the Mediterranean seaweeds. III. Rhodophyceae Rabenh. 1. Ceramiales Oltm. *Botanica Marina* 44: 425-460.
- Greville R.K.** 1830. *Algae Britannicae*. MacLachlan & Stewart, Edinburgh. 218 p., 19 pls.
- Guimarães, S.M.P. B.** 2006. A revised checklist of benthic marine Rhodophyta from the State of Espírito Santo, Brazil. *Boletim do Instituto de Botânica, São Paulo* 17: 143-194.
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M.** 2005. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>
- Gurgel, C. F. D. & Fredericq, S.** 2004. Systematics of the Gracilariaceae (Gracilariales, Rhodophyta): a critical assessment based on rbcL sequence analyses. *Journal of Phycology*. 40: 138–159.
- Gurgel, C. F. D., Liao, L. M., Fredericq, S. & Hommersand, M. H.** 2003. Systematics of *Gracilariopsis* (Gracilariales, Rhodophyta) based on rbcL sequence analyses and morphological evidence. *Journal of Phycology* 39: 154–71.
- Gurgel, C. F. D., Fredericq, S., Norris, J.N. & Yoneshigue-Valentin, Y.** 2008. Two new flat species of *Gracilaria* (Gracilariales, Rhodophyta) from Brazil: *G. abyssalis* sp. nov. and *G. brasiliensis* sp. nov. *Phycologia* 47: 249-264.
- Hall, T.A.** 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95-98.
- Harvey, W.H.** 1855. Some account of the marine botany of the colony of western Australia. *Transactions of the Royal Irish Academy* 22: 525-566.
- Harvey, W.H.** 1862. *Phycologia Australica*, vol. 4. . L. Reeve & Co., London, UK, 8 p, pls 181-240.
- Harvey, W.H.** 1863. *Phycologia Australica*, vol. 5. L. Reeve & Co., London, UK, (Synoptic catalogue), 73 p pls 241-300.
- Herbert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. & deWaard, J.R.** 2003. Biological identifications through DNA barcoding. *Proceedings of the Royal Society of London, B*, 270: 313-322.
- Hommersand, M.H.** 1963. The morphology and classification of some Ceramiaceae and Rhodomelaceae. *University of California Publications in Botany* 35: 165-366.

- Hommersand, M. H, Fredericq, S. & Freshwater, D.W.** 1994. Phylogenetic systematics and biogeography of the Gigartinaceae (Gigartinales, Rhodophyta) based on sequence analysis of *rbcL*. *Botanica Marina* 37: 193-203.
- Haroun, R.J. & Gil-Rodríguez, M.C.** 1995. Reproductive strategies of *Laurencia perforata* (Bory) Montagne (Ceramiales, Rhodomelaceae) in the Canary Islands. *Nova Hedwigia* 61: 269-274.
- Horta, P.A.** 2000. Macroalgas do infralitoral do sul e sudeste do Brasil. Tese de doutorado.. University of São Paulo, São Paulo, Brazil. 301 p.
- Horta, P.A., Amâncio, E., Coimbra, C.S. & Oliveira, E.C.** 2001. Considerações sobre a distribuição e origem da flora de macroalgas marinhas brasileiras. *Hoehnea* 28: 243-265.
- Howe, M.A.** 1918. Algae. In: Britton, N.L. *Flora of Bermuda*. New York, pp. 489-540.
- Hudson, W.** 1762. *Flora anglica*. London, viii [xvi] + 506 [22]p.
- Huelsenbeck, J.P. & Ronquist, F.R.** 2001. MrBayes. Bayesian inference of phylogeny. *Biometrics* 17: 754-5.
- Jaasund, E.** 1970. Marine algae in Tanzania II. *Botanica Marina* 13: 59-64.
- Joly, A.B.** 1957. Contribuição ao conhecimento da flora ficológica marinha da Baía de Santos e Arredores. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, série Botânica* 14: 3-199.
- Joly, A.B.** 1965. Flora marinha do litoral norte do estado de São Paulo e regiões circunvizinhas. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, série Botânica* 21: 1-393.
- Kamiya, M., West, J.A., Zuccarello, G.C. & Kawai, H.** 2000. *Caloglossa intermedia* sp. nov. (Rhodophyta) from the western Atlantic coast: Molecular and morphological analyses with the special reference to *C. leprieurii* and *C. monosticha*. *Journal of Phycology* 36: 411-420.
- Kamiya, M., West, J.A., King, R.J., Zuccarello, G. C., Tanaka, J. & Hara, Y.** 1998. Evolutionary divergence in the red algae *Caloglossa leprieurii* and *C. apomeiotica*. *Journal of Phycology* 34: 361-370.
- Kamiya, M., Tanaka, J., King, R.J., West, J.A., Zuccarello, G.C. & Kawai, H.** 1999.

- Reproductive and genetic distinction between broad and narrow entities of *Caloglossa continua* (Delesseriaceae, Rhodophyta). *Phycologia* 38: 356-367.
- Kaiser, C.R., Pitombo, L.F., Pinto, A.C.** 2001. Complete ¹H and ¹³C NMR assignments of chamigrenes from *Aplysia dactylomela*. *Magnetic Resonance in Chemistry* 39: 147-149.
- Klein, J. & Verlaque, M.** 2005. *Laurencia caduciramulosa* Masuda et Kawaguchi (Ceramiaceae, Rhodophyta), first record on the Mediterranean coast of France. *Cryptogamie, Algologie* 26: 209-216.
- Kraft, G.T., Liao, L.M., Millar, A.J.K., Coppejans, E.G.G., Hommersand, M.H. & Freshwater, W. D.** 1999. Marine benthic red algae (Rhodophyta) from Bulusan, Sorsogon Province, Southern Luzon, Philippines. *The Philippine Scientist* 36: 1-50.
- Kützing F.T.** 1849. *Species algarum*, vi, Lipsiae, 922 p.
- Kützing F.T.** 1865. *Tabulae Phycologicae*, vol. XV, Nordhausen. 36 p., 100 pls.
- Kylin, H.** 1923. Studien über die Entwicklungsgeschichte der Florideen. *Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar* 63: 1-139.
- Kylin, H.** 1956. Die Gattungen der Rhodophyceen. Gleerups, Lund, Gleerups, 673p.
- Lamouroux, J.V.F.** 1813. Essai sur les genres de la famille des Thallassiophytes non articulées. *Annales du Muséum d'Histoire Naturelle (Paris)* 20: 21-47, 115-139, 267-293, pls. 7-13.
- Lawson, G.W. & John, D.W.** 1987. The marine algae and coastal environment of tropical West Africa (Second Edition). *Beihefte zur Nova Hedwigia* 93: 1-415.
- Lee, S.R., Oak, J. H., Suh, Y. & Lee, I.K.** 2001. Phylogenetic utility of *rbcS* sequences: An example from *Antithamnion* and related genera (Ceramiaceae, Rhodophyta) *Journal of Phycology* 37: 1083–1090.
- Liao, M., Uy, F.A. & Heyrosa, N.A.** 2004. Macrobenthic marine algae and seagrasses of the Anambas Expedition 2002. *Raffles Bull. Zool. Suppl.* 11: 19–23.
- Lin, S.M., Fredericq, S. & Hommersand, M.H.** 2001. Systematics of the Delesseriaceae (Ceramiaceae, Rhodophyta) based on LSU rDNA and *rbcL* sequences, including the Phycodryioideae, subfam. nov. *Journal of Phycology* 37: 881-899.
- Littler, D.S. & Littler, M.M.** 2000. Caribbean reef plants. An identification guide to the reef

- plants of the Caribbean, Bahamas, Florida and Gulf of Mexico. Washington: Offshore Graphics. 542p.
- Lewis Sh., Gacesa P., Gil-Rodríguez M.C., Valdés F. & Frías I.** 2008. Molecular systematics of the genus *Laurencia*, *Osmundea* and *Palisada* (Rhodophyta) from the Canary Islands - Analysis of rDNA and RUBISCO spacer sequences. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 65: 97-109.
- Lucas, A.H.S.** 1935. The marine algae of Lord Howe Island. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales* 60: 194-232, pls 5-9.
- Maggs, C.A. & Hommersand, M.H.** 1993. Seaweeds of the British Isles. Volume 1. Rhodophyta. Part 3A. Ceramiales. London, 444 p.
- Maggs C.A., Douglas S.E., Fenety J. & Bird C. J.** 1992. A molecular and morphological analysis of the *Gymnogongrus devoniensis* (Rhodophyta) complex in the North Atlantic. *Journal of phycology* 28: 214-232.
- Martens, G. von.** 1870. *Conspectus algarum Brasiliae hactenus detectarum*. *Vidensk. Medd. Dansk naturt. Foren., Copenhagen* 18-20: 297-314.
- Martens, G. von.** 1871. *Algae brasiliensis circa Rio de Janeiro a cl. A. Glaziou, horti publici directore, botanico indefesso, annis 1869 et 1870 collectae*. *Vidensk. Medd. Fra den Naturh. Foren., Copenhagen* 3: 144-148.
- Masuda, M.** 1997. A new species of *Laurencia*: *L. omaezakiana* (Ceramiales, Rhodophyta) from Japan. *Phycological Research* 45: 123-131.
- Masuda, M. & Abe, T.** 1993. The occurrence of *Laurencia saitoi* Perestenko (Ceramiales, Rhodophyta) in Japan. *Japanese Journal of Phycology* 41: 7-18.
- Masuda, M., Abe, T., Kawaguchi, S. & Phang, S.M.** 1999. Taxonomic notes on marine algae from Malaysia I. Six species of Rhodophyceae. *Botanica Marina* 42: 449-458.
- Masuda, M., Abe, T., Kawaguchi, S. & Phang, S.M.** 2001. Taxonomic notes on marine algae from Malaysia. VI. Five species of Ceramiales (Rhodophyta). *Botanica Marina* 44: 467-477.
- Masuda, M., Kawaguchi, S., Takahashi, Y., Matsuo, Y. & Suzuki, M.** 1997a. A

- taxonomic study of the genus *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta) from Vietnam. I. *Laurencia caduciramulosa* Masuda et Kawaguchi, sp. nov. *Cryptogamie, Algologie* 18: 1-10.
- Masuda, M., Kawaguchi, S. & Phang, S.M.** 1997b. Taxonomic notes on *Laurencia similis* and *L. papillosa* (Ceramiales, Rhodophyta) from the Western Pacific. *Botanica Marina* 40: 229-239.
- Masuda, M. & Kogame, K.** 1998. A taxonomic study of the genus *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta) from Vietnam. V. *Laurencia concreta* Cribb and *L. dinhii* sp. nov. *Cryptogamie, Algologie* 19: 201-212.
- Masuda, M., Kogame, K., Abe, T. & Kamura, S.** 1997c. Taxonomic notes on *Laurencia parvipapillata* (Ceramiales, Rhodophyta) from the western Pacific. *Cryptogamie, Algologie* 18: 319-329.
- Masuda, M., Kogame, K., Arisawa, S. & Suzuki, M.** 1998. Morphology and halogenated secondary metabolites of three Gran Canarian species of *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta). *Botanica Marina* 41: 265-277.
- McDermid, K.J.** 1988. *Laurencia* from the Hawaiian Islands: key, annotated list and distribution of the species. In: *Taxonomy of economic seaweeds with reference to some Pacific and Caribbean species.* (Abbott, I.A. Eds) California Sea Grant College Program, vol.2, pp. 231-247.
- McIvor, L., Maggs, C.A., Guiry, M.D. & Hommersand, M.H.** 2002a. Phylogenetic analysis of the geographically disjunct genus *Osmundea* Stackhouse (Rhodomelaceae, Rhodophyta). *Constancea* 83.9 [online publication of the Jepson Herbarium, UC, Berkeley: http://ucjeps.berkeley.edu/constancea/83/mcivor_etal/osmundea.html].
- McIvor, L., Maggs, C.A., & Stanhope, M.J.** 2002b. *rbcL* sequences indicates a single evolutionary origin of multinucleate cells in the red algal tribe Callithamnieae. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 23: 433-446.
- Milstein, D.** 2006. Diversidade molecular de *Porphyra*. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 120p.
- Möbius, M. von.** 1889. Bearbeitung der von H. Schenck in Brasilien gesammelten Algen. *Hedwigia* 28: 309-347, 1 fig, + pls x, xi.
- Montagne, C.** 1836. Notice sur les plantes cryptogames récemment découvertes en France,

- contenant aussi l'indication précise des localités de quelques espèces les plus rares de la flore française. Annales des Sciences Naturelles, Botanique Sér. 2, 6: 28-36, 321-339, pl. 18.
- Montagne, C.** 1840. Plantae Cellulaires, Section 4. In: Histoire Naturelle des Iles Canaries (Webb, P.B. & Berthelot, S. Eds.) vol. 3 (2). pp. 1–208. Béthune, Paris, France.
- Nam, K.W.** 1999. Morphology of *Chondrophyucus undulata* and *C. parvipapillata* and its implications for the taxonomy of the *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta) complex. European Journal of Phycology 34: 455-68.
- Nam, K.W.** 2006. Phylogenetic re-evaluation of the *Laurencia* complex (Rhodophyta) with a description of *L. succulenta* sp. nov from Korea. Journal of Applied Phycology 18: 679-697.
- Nam, K.W.** 2007. Validation of the generic name *Palisada* (Rhodomelaceae, Rhodophyta). Algae 22: 53-55.
- Nam, K.W. & Choi, H.G.** 1999. Developmental morphology of *Osmundea crispera* (Ceramiales, Rhodophyta) from California. Journal of Fisheries Science and Technology 2: 25-31.
- Nam, K.W. & Choi, H.G.** 2000. A detailed morphological study of the type species of *Osmundea*. Botanica Marina 43: 291-297.
- Nam, K.W., Maggs, C.A. & Garbary, D.J.** 1994. Resurrection of the genus *Osmundea* with an emendation of the generic delineation of *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta). Phycologia 33: 384-395.
- Nam, K.W., Maggs, C.A., McIvor, L. & Stanhope, M.J.** 2000. Taxonomy and phylogeny of *Osmundea* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) in Atlantic Europe. Journal of Phycology 36: 759–772.
- Nam, K.W. & Saito, Y.** 1990. Morphology of *Laurencia cartilaginea* Yamada (Rhodomelaceae, Rhodophyta). Bulletin of the Faculty Fisheries, Hokkaido University 41: 107-120.
- Nam, K.W. & Saito, Y.** 1991a. *Laurencia similis* (Ceramiales, Rhodophyta), a new species from Queensland, Australia. British Phycological Journal 26: 375-382.
- Nam, K.W. & Saito, Y.** 1991b. Anatomical characteristics of *Laurencia papillosa*

- (Rhodomelaceae, Rhodophyta) from Guam and Palau. *Micronesica* 24: 87-94.
- Nam, K.W. & Saito, Y.** 1994. A re-examination of *Laurencia hybrida* (Ceramiales, Rhodophyta) from the British Isles: vegetative and reproductive morphology. *Phycologia* 33: 34-41.
- Nam, K.W. & Saito, Y.** 1995. Vegetative and reproductive anatomy of some *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta) species with a description of *L. maris-rubri* sp. nov. from the Red Sea. *Phycologia* 34: 157-165.
- Nam, K.W., Saito, Y. & Sohn, C.H.** 1991. Vegetative structure and reproduction of *Laurencia nipponica* Yamada (Rhodomelaceae, Rhodophyta). *Korean Journal of Phycology* 6: 1-12.
- Nam, K.W. & Sohn, C.H.** 1994. *Laurencia kangjaewonii* sp. nov. (Ceramiales, Rhodophyta) from Korea. *Phycologia* 33: 397-403.
- Nassar, C.A.G.** 1994. An assessment to the benthic marine algae at Trindade Island, Espírito Santo, Brazil. *Revista Brasileira de Biologia* 54: 623-629.
- Niwa, K., Kikuchi, N. & Aruga, Y.** 2005. Morphological and molecular analysis of the endangered species *Porphyra tenera* (Bangiales, Rhodophyta). *Journal of Phycology* 41: 294-304.
- Nunes, J.M. de C.** 1998. Catálogo de algas marinhas bentônicas do estado da Bahia, Brasil. *Acta Botanica Malacitana* 23: 5-21.
- Nylander, J.A.A.** 2004. Bayesian phylogenetics and the evolution of gall wasps. *Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology*, 34p.
- Oliveira Filho, E. C.** 1969. Algas marinhas do sul do estado do Espírito Santo (Brasil). I – Ceramiales. *Boletim da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Série Botânica* 26: 1-277.
- Oliveira Filho, E. C.** 1977. Algas marinhas bentônicas do Brasil. Universidade de São Paulo, São Paulo, Tese de Livre Docência em Ficologia, 407p.
- Oliveira Filho, E. C. & Ugadim, Y.** 1974. New references of benthic marine algae to Brazilian flora. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* 2: 71-91.
- Oliveira Filho, E.C. & Ugadim, Y.** 1976. A survey of the marine algae of Atol das Rocas

- (Brazil). *Phycologia* 15: 41-44.
- Paes e Mello, L.B. & Pereira, S.M.B.** 1990. Estudos taxonômicos sobre a Família Rhodomelaceae (Rhodophyta - Ceramiales) no litoral Oriental do Estado do Rio Grande do Norte. I. Gênero *Laurencia* Lamouroux. *Trabalhos Oceanográficos*, Universidade Federal de Pernambuco 21: 187-204.
- Palmer, J.D.** 1985. Comparative organization of chloroplast genomes. *Annual Review of Genetics* 19: 325-354.
- Papenfuss, G.F.** 1947. Generic names of algae proposed for conservation. I. *Madroño* 9: 8-17.
- Papenfuss, G.F.** 1955. Classification of the algae. In: *A century of progress in the natural sciences, 1853-1953*. (Eds). San Francisco: California Academy of Sciences. pp. 115-224.
- Papenfuss, G.F.** 1964. Catalogue and bibliography of Antarctic and Sub-Antarctic benthic marine algae. In: *Bibliography of the Antarctic Seas*. (Lee, M.O. Ed.) vol.1, pp. 1-76. Washington D.C.: American Geophysical Union.
- Paula, A.F. de & Creed, J.C.** 2004. Two species of the coral *Tubastraea* (Cnidaria, Scleractinia) in Brazil: a case of accidental introduction. *Bulletin of Marine Sciences* 74: 175-183.
- Pedrini, A. G. de.** 1980. Algas marinhas bentônicas da Baía de Sepetiba e arredores. Dissertação de Mestrado, Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 379 p.
- Pedrini A.G. de, Cassano V., Coelho L.G. & Labronici G.J.** 1994. Macroalgas marinhas da região sob influência da Central Nuclear Almirante Álvaro Alberto, Angra dos Reis, RJ, Brasil, I - Composição taxonômica. In: *V Congresso Geral de Energia Nuclear*. Associação Brasileira de Energia Nuclear, Rio de Janeiro, v. 2, pp. 733-736.
- Pedrini, A.G. de, Ugađim, Y., Braga, M.R.A. & Pereira, S.M.B.** 1992. Algas marinhas bentônicas do arquipélago de Fernando de Noronha, Brasil. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo*. 13: 93-101
- Pedrini, A.G. de, Gonçalves, J.E.A., Fonseca, M.C.S., Zaú, A.S. & Lacorte, C.C.** 1989. A survey of the marine algae of Trindade Island, Brazil. *Botanica Marina* 32: 97-99.
- Pereira, R. C., Da Gama, B. A. P., Teixeira, V. L. & Yoneshigue-Valentin, Y.** 2003.

- Ecological roles of natural products from the Brazilian red seaweed *Laurencia obtusa*. *Brazilian Journal of Biology* 63: 665-672.
- Pereira, S.M.B.** 1977. Rodofíceas marinhas da Ilha de Itamaracá e arredores (estado de Pernambuco - Brasil). Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 275 p.
- Pereira, S.M.B., Bandeira-Pedrosa, M.E. & Burgos, D.C.** 2005. Macroalgae from the Saint Peter's and Saint Paul's Archipelago (Brazil). *Phycologia*, suppl. 36: 80.
- Pereira, S.M.B., Mansilla, A.O.M. & Cocentino.** 1996. Ecological aspects of a benthic marine algal community in southeast bay, Arquipélago of Fernando de Noronha, Brazil. *Trabalhos Oceanográficos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife* 24: 157-163.
- Pereira, S. M. B., Carvalho, M. F. O., Angeiras, J. A., Pedrosa, M.E.B., Oliveira, N. M. B., Torres, J., Gestinari, L. M. S., Concentino, A. M., Santos, M.D., Nascimento, P. R. F. & Cavalcanti, D.R.** 2002. Algas marinhas bentônicas do estado de Pernambuco. In: Tabarelli, M. & Silva, J. M. C. (Orgs). *Diagnóstico da biodiversidade de Pernambuco. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente, Editora Massangana, Recife, v. 1, pp. 97-124.*
- Pham-Hoàng, H.** 1969. Rong Biên Viêt Nam. Marine algae of South Vietnam. Trung- tâm Hoc-liêu Xuất-bán, [Saigon.] 558 pp. [In Vietnamese.]
- Pinheiro-Joventino, F., Dantas, N.P. & Maraschin, C. D.H.** 1998. Distribuição de algas marinhas no litoral de Fortaleza, Ceará, Brasil. *Arquivos de Ciências do Mar* 31: 29-40.
- Posada, D. & Crandall, K.A.** 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14: 817-18.
- Price, I.R. & Scott, F.J.** 1992. The turf algal flora of the Great Barrier Reef. Part I. Rhodophyta. Botany Department, James Cook University. Townsville, Australia, 266 p.
- Rabenhorst, L.** 1847. Deutschlands Kryptogamen Flora. Zweiter Band. Zweiter Abteilung: Algen. Leipzig, XIX, 216 pp.
- Ribera, M.A. & Boudouresque, C.F.** 1995. Introduced marine plants, with special reference

- to macroalgae: mechanisms and impact. *Progress in Phycological Research* 11: 217-268.
- Robba, L., Russell, S. J., Barker, G. L. & Brodie, J.** 2006. Assessing the use of the mitochondrial *cox1* marker for use in DNA barcoding of red algae (Rhodophyta). *American Journal of Botany* 93: 1101–1108.
- Rodriguez de Ríos, N. & Saito, Y.** 1983. *Laurencia scoparia* J. Agardh, nuevo sinonimo de *Laurencia filiformis* (C. Agardh) Montagne (Rhodophyta, Ceramiales). *Ernstia* 21: 19-28.
- Saint-Hilaire, A. de .** 1833. *Voyage dans le district des diamans et sur le littoral du Brésil*. Paris. vol. 2: 1-457.
- Saito, Y.** 1963. On the arrangement of tetrasporangia in the stichidia of *Laurencia*. *The Bulletin of Japanese Society of Phycology* 9: 12-15.
- Saito, Y.** 1966. On the secondary pit-connections among the cortical cells of some Japanese species of *Laurencia*, with special reference to their systematic significances. *The Bulletin of Japanese Society of Phycology* 30-35
- Saito, Y.** 1967. Studies on Japanese species of *Laurencia*, with special reference to their comparative morphology. *Memoirs of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University* 15: 1-81.
- Saito, Y.** 1969a. The algal genus *Laurencia* from the Hawaiian Islands, the Philippine Islands and adjacent areas. *Pacific Science* 23: 148-160, 11 figs.
- Saito, Y.** 1969b. On morphological distinctions of some species of Pacific North American *Laurencia*. *Phycologia* 8: 85-90.
- Saito, Y.** 1982. Morphology and infrageneric position of three British species of *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta). *Phycologia* 21: 299-306.
- Saito, Y. & Womersley, H.B.S.** 1974. The Southern Australian species of *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta). *Australian Journal of Botany* 22: 815-874.
- Salgado, L.T, Viana, N, Andrade, L.R., Leal, R.N, Da Gama, B., Attias, M., Pereira, R.C. & Amado Filho, G. M.** 2008. Intra-cellular storage, transport and exocytosis of halogenated compounds in marine red alga *Laurencia obtusa*. *Journal of Structural Biology* 162: 345-355.

- Sambrook, J., Fritsch, E.F. & Maniatis, T.** 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd ed. 3 vol. Cold Spring Harbour Laboratories press, New York.
- Savolainen, V., Cowan, R.S., Vogler, A.P., Roderick, G.K. & Lane, R.** 2005. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 360 (1462) 1805 - 1811.
- Saunders, G.W.** 2005. Applying DNA barcoding to red macroalgae: a preliminary appraisal holds promise for future applications. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, doi:10.1098/rstb.2005.1719.
- Scagel, R.F.** 1953. A morphological study of some dorsiventral Rhodomelaceae. *University of California Publications in Botany* 27: 1-108.
- Schmitz, F.** 1889. Systematische übersicht der bisher bekannten gattungen der Florideen. *Flora* 72: 435-456.
- Schneider, C.W. & Lane, C.E.** 2005. Notes on the marine algae of the Bermudas. 7. Additions to the flora, including *Chondracanthus saundersii* sp. nov. (Rhodophyta, Gigartinaceae) based on *rbcL* sequence analysis. *Phycologia* 44: 72-83.
- Sentías A. & Díaz-Larrea J.** 2008. Proposals of *Palisada poiteaui* var. *gemmifera* comb. nov. and *Palisada corallopsis* comb. nov. (Rhodomelaceae, Rhodophyta). *Botanica Marina* 51: 69-70.
- Sentías A. & Fujii, M.T.** 2002. El complejo *Laurencia* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) en el Caribe mexicano. In: A Sentías & Dreckmann, K.M. (Eds). *Monografías Ficológicas*. Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa y Red Latinoamericana de Botànica, pp. 121-192.
- Sentías A., Díaz-Larrea, J., Cassano, V. Gil-Rodríguez, M.G. & Fujii, M.T.** 2009. *Palisada perforata* (Rhodomelaceae, Ceramiales) en el Caribe mexicano. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 80: 7-12.
- Seo, 1K. S., Cho, T. O., Park, J.S., Yang, E. C., Yoon, H. S. & Boo S. M.** 2003. Morphology, basiphyte range, and plastid DNA phylogeny of *Campylaeophora borealis* stat. nov. (Ceramiales, Rhodophyta). *Taxon* 52: 9-19.
- Serio, D., Alongi, G. Catra, M. Cormaci M. & Furnari, G.** 2006. Changes in the benthic algal flora of Linosa Island (Straits of Sicily, Mediterranean Sea). *Botanica Marina* 49: 135-144.

- Setchell, W.A.** 1926. Tahitian algae collected by W.A. Setchell, C.B. Setchell and H.E. Parks. University of California Publications in Botany 12: 61-142.
- Sherwood, A.A. & Sheath, R.G.** 2003. Systematics of the Hildenbrantiales (Rhodophyta): gene sequence and morphometric analyses of global collections. *Journal of Phycology* 39: 409-422.
- Silva, P., Basson, P.W. & Moe, R.L.** 1996. Catalogue of the benthic marine algae of the Indian Ocean. University of California Publications in Botany 79: 1-1259.
- Silva, P., Menez, E. G. & Moe, R.L.** 1987. Catalogue of the benthic marine algae of the Phillipines. *Smithsonian Contributions to the Marine Sciences* 27: 1-179.
- Soltis, D. E. & Soltis, P.S.** 1998. Choosing an approach and an appropriate gene for phylogenetic analysis. In: Soltis, D. E., Soltis, P.S & Doyle, J.J. (Eds). *Molecular Systematics of Plants II. DNA sequencing*. Klumer Academic Publishers, New York, 574p.
- Sonder, O.G.** 1853. *Plantae Muellerianae. Algae*. *Linnaea* 25: 657-703.
- Stache-Crain, B., Müller, D. G & Goff, L. J.** 1997. Molecular systematics of *Ectocarpus* and *Kuckuckia* (Ectocarpales, Phaeophyceae) inferred from phylogenetic analysis of nuclear- and plastid-encoded DNA sequences. *Journal of Phycology* 33: 152-168.
- Stackhouse, J.** 1809. Tentamen marino-cryptogamicum, ordinem novum; in genera et species distributum, in Classe XXIVta Linnaei sistens. *Mémoires de la Société Imperiale des Naturalistes de Moscou* 2: 20-97.
- Stackhouse, J.** 1816. *Nereis britannica Editio altera. Nova addita classificatione cryptogamiarum [sic] respectu generis Fuci*. Bath & London: S. Collingwood, pp. [i]-xii, [i]- 68.
- Stegenga, H., Bolton, J.J. & Anderson, R.J.** 1997. Seaweeds of the South African west coast. *Contributions from the Bolus Herbarium* 18:1-655.
- Stoeckle, M.** 2003. Taxonomy, DNA, and the bar code of life. *BioScience*, 53: 796-797.
- Sudatti, D. B., Rodrigues, S. V., Coutinho, R., Da Gama, B. A. P., Salgado, L. T. Amado Filho, G.M. & Pereira, R.C.** 2008. Transport and defensive role of elatol at the surface of the red seaweed *Laurencia obtusa* (Ceramiales, Rhodophyta). *Journal of Phycology* 44: 584-591.

- Swofford D.L.** 2002. PAUP. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Széchy, M.T.M. & Paula, E.J. de.** 1997. Macroalgas epífitas em *Sargassum* (Phaeophyta – Fucales) do litoral dos estados do Rio de Janeiro e São Paulo, Brasil. *Leandra* 12: 1-10.
- Széchy, M.T.M. & Nassar, C.A.G.** 2005. Flora ficológica bentônica da Baía da Ribeira, sul do estado do Rio de Janeiro: Avaliação após duas décadas de operação da Central Nuclear Almirante Álvaro Alberto. In: Pereira, R.C. *et al.* (Orgs). Formação de Ficólogos: um compromisso com a sustentabilidade dos recursos aquáticos. Museu Nacional, Rio de Janeiro. p. 373-397.
- Széchy, M.T.M., Nassar, C.A.G., Falcão, C. & Maurat, M.C.S.** 1989. Contribuição ao inventário das algas marinhas bentônicas de Fernando de Noronha. *Rodriguésia* 67: 53-61.
- Széchy, M.T.M., Amado Filho, G. M., Cassano, V., De-Paula, L.C, Barros-Barreto, M.B., Reis, R.P., Marins-Rosa, B.V. e 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 Botânica Brasílica* 19: 587-596.
- Taylor, W.R.** 1928. The marine algae of Florida with special reference to the Dry Tortugas. *Publications of the Carnegie Institution of Washington* 379: 1-219.
- Taylor, W.R.** 1931. A synopsis of the marine algae of Brasil. *Revue Algologique*, 5: 1-35.
- Taylor, W.R.** 1960. Marine algae of the eastern tropical and subtropical coasts of the Americas. Ann Arbor: The University of Michigan Press. xi + 870 p.
- Titlyanov, E.A., Titlyanova, T.V., Yakovleva, I.M. & Sergeeva, O.S.** 2006. Influence of winter and spring/summer algal communities on the growth and physiology of adjacent scleractinian corals. *Botanica Marina* 49: 200-207.
- Tsirika, A. & Haritonidis, S.** 2005. A survey of the benthic flora in the National Marine Park of Zakynthos (Greece). *Botanica Marina* 48: 38-45.
- Tsuda, R.T. & Abbott, I.A.** 1985. Collecting, Handling, Preservation, and Logistics. In: Littler MM. & Littler DS. (eds.), *Handbook of Phycological Methods*, vol. IV. Ecological Field Methods: Macroalgae. Cambridge/New York: Cambridge University Press, pp. 67-86.

- Ugadim, Y.** 1976. Ceramiales (Rhodophyta) do litoral sul do estado de São Paulo e do litoral do estado do Paraná (Brasil). *Boletim de Botânica, Universidade de São Paulo* 4: 133-172.
- Vahl, M.** 1802. Endeel kryptogamiske Planter fra St.-Croix. *Skrifter af Naturhistorie-Selskabet, Copenhagen* 5: 29-47.
- Xia, B.M & Zhang, J.F.** 1982. A new raw material for the manufacture of agar-agar from Hainan Island, China. *Oceanologia et Limnologia Sinica* 13: 538-544.
- Weber-van Bosse, A.** 1913. Marine algae, Rhodophyceae, of the "Sealark" Expedition, collected by Mr. J. Stanley Gardiner, M.A.. *Transactions of the Linnean Society of London, Second Series, Botany* 8: 105-142, pls. 12-14.
- Womersley, H.B.S.** 2003. The marine benthic flora of southern Australia - Part IIID Ceramiales, Delesseriaceae, Sarcomeniaceae, Rhodomelaceae. Canberra & Adelaide: Australian Biological Resources Study & State Herbarium of South Australia, 533p.
- Womersley, H.B.S. & Bailey, A.** 1970. Marine algae of the Solomon Islands. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, B. Biological Sciences* 259: 257-352.
- Wynne, M.J.** 2005. A check-list of benthic marine algae of the tropical and subtropical western Atlantic: second revision. *Nova Hedwigia* 129: 1-152.
- Wynne, M.J., Serio, D., Cormaci, M. & Furnari, G.** 2005. The species of *Chondrophyucus* and *Laurencia* (Rhodomelaceae, Ceramiales) occurring in Dhofar, the Sultanate of Oman. *Phycologia* 44: 497-509.
- Yamada, Y.** 1931. Notes on *Laurencia*, with special reference to the Japanese species. *University of California Publications in Botany* 16: 185-310.
- Yamagishi, Y., Masuda, M., Abe, T., Uwai, S., Kogame, K., Kawaguchi, S. & Phang, S.M.** 2003. Taxonomic notes on marine algae from Malaysia. XI. Four species of Rhodophyceae. *Botanica Marina* 46: 534-547.
- Yang, E. C., Kim, M. S., Geraldino, P. J. L., Sahoo, D., Shin, J.A. & Boo, S.M.** 2007. Mitochondrial *cox1* and plastid *rbcL* genes of *Gracilaria vermiculophylla* (Gracilariaceae, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, doi 10.1007/s10811-007-9201-8

- Yoneshigue, Y.** 1985. Taxonomie et ecologie des algues marines dans la region de Cabo Frio, (Rio de Janeiro), Brésil. Tese de Doutorado, Faculte des Sciences de Luminy, Univerisité d' Aix-Marseille II, Marseille, France, 466 p.
- Yoneshigue-Valentin, Y., Fujii, M.T. & Gurgel, F. D.** 2003. *Osmundea lata* (Howe & Taylor) comb. nov. (Ceramiales, Rhodophyta) from southeastern Brazilian continental shelf. *Phycologia* 42: 301-307.
- Young, D.N., Howard, B.M. & Fenical, W.** 1980. Subcellular localization of brominated secondary metabolites in the red alga *Laurencia snyderae*. *Journal of Phycology* 16: 182-185.
- Zanardini, G.** 1847. Notizie intorno alle cellulari marine delle lagune e de' litorali di Venezia. *Atti del Reale Istituto Veneto di Scienze, Lettere ed Arti* 6: 185-262.
- Zhang, J. & Xia, B.** 1985. Studies on the genus *Laurencia* of the Xisha Islands, Guangdong Province, China. *Studia Marina Sinica* 24: 51-68.
- Zuccarello, G.C. & West, J. A.** 1997. Hybridization studies in *Bostrychia*. 2: Correlation of crossing data and plastid DNA sequence data within *B. radicans* and *B. moritziana* (Rhodophyta, Ceramiales). *Phycologia*. 36: 293-304.
- Zuccarello G.C. & West J.A.** 2006. Molecular phylogeny of the subfamily Bostrychioideae (Ceramiales, Rhodophyta): Subsuming *Stictosiphonia* and highlighting polyphyly in species of *Bostrychia*. *Phycologia* 45: 24-36.
- Zuccarello, G.C., Burger G., West, J. A. & King R. J.** 1999. A mitochondrial marker for red algal intraspecific relationships. *Molecular Ecology* 8: 1443-1447.
- Zuccarello G.C., Sandercock, B. & West J.A.** 2002. Diversity within red algal species: variation in world-wide samples of *Spyridia filamentosa* (Ceramiaceae) and *Murrayella pericladus* (Rhodomelaceae) using DNA markers and breeding studies. *European Journal of Phycology* 37: 403-417.

RESUMO

A maioria das espécies do complexo *Laurencia* apresenta grande plasticidade morfológica dificultando sua delimitação taxonômica. Apesar da utilização de novos caracteres morfo-anatômicos e reprodutivos para a separação de gêneros e espécies, a taxonomia do grupo permanece confusa. Neste caso, o uso de marcadores moleculares, principalmente o gene plastidial *rbcL*, tem se mostrado útil na definição de táxons do complexo. Este trabalho teve por objetivo principal realizar estudos taxonômicos e filogenéticos de espécies do complexo *Laurencia* baseados em caracteres morfológicos e moleculares. A análise morfológica foi realizada a partir de espécimes coletados em 39 pontos do litoral do Rio de Janeiro. Para a análise molecular, o gene *rbcL*, o espaçador *rbcL-S* e o gene mitocondrial *cox1* de espécimes coletados no RJ, ES, SP, BA, Atol das Rocas, México, Cuba e Ilhas Canárias (Espanha), foram sequenciados na tentativa de esclarecer a posição taxonômica das espécies e inferir suas relações filogenéticas. Árvores consenso de máxima parcimônia (MP), neighbor-joining (NJ) e análise bayesiana foram geradas a partir das sequências do *rbcL* obtidas neste estudo, somadas às disponíveis no GenBank. Para as análises baseadas no *cox1*, *rbcL* e *rbcL-S* e na combinação dos três marcadores foram geradas árvores consenso de MP, NJ, máxima verossimilhança (ML) e análise bayesiana. As hipóteses filogenéticas geradas confirmaram a monofilia do complexo *Laurencia* e do gênero *Osmundea*, mas as relações entre os gêneros *Laurencia* e *Palisada* não foram completamente resolvidas. Com base nos resultados obtidos, oito espécies do complexo *Laurencia* foram confirmadas para o litoral brasileiro: *Laurencia caduciramulosa*, *L. catarinensis*, *L. dendroidea*, *L. oliveirana*, *L. translucida*, *Palisada flagellifera*, *P. perforata* e *Chondrophyucus furcatus*. Das oito espécies citadas, apenas *C. furcatus* não foi encontrada no Rio de Janeiro. As análises filogenéticas mostraram que *C. furcatus* pertence ao gênero *Palisada* e a com futura mudança nomenclatural dessa espécie para *Palisada*, não haverá mais representantes de *Chondrophyucus* no litoral brasileiro. As análises filogenéticas e a comparação morfológica detalhada de *Palisada papillosa* e *P. perforata* apóiam a coespecificidade desses táxons, tendo *P. perforata* prioridade sobre o primeiro. Os táxons *Chondrophyucus patentirameus* e *C. thuyoides* se agruparam com *Palisada* em todas as análises filogenéticas. Esse resultado levou à proposição de duas novas combinações: *Palisada patentiramea* (Montagne) Cassano, Sentfies, Gil-Rodríguez et M.T. Fujii e *Palisada thuyoides* (Kützinger) Cassano, Sentfies, Gil-Rodríguez et M.T. Fujii. Os dados moleculares mostraram que *Laurencia intricata* da localidade-tipo (Antilhas) é distinta da reportada para o Brasil e que as citações dessa espécie

para o Rio de Janeiro correspondem à *L. catarinensis*, confirmada através da comparação com sequência de espécime da localidade-tipo. Os táxons anteriormente citados para o litoral brasileiro como *Laurencia arbuscula*, *L. filiformis*, *L. majuscula* e *L. obtusa* constituem uma mesma entidade taxonômica, confirmada em todas as análises filogenéticas realizadas. Exames dos materiais-tipo e/ou de referência permitiram identificá-los como *L. dendroidea*, cuja localidade-tipo é Brasil. *Laurencia obtusa* do Atlântico Norte é uma espécie distinta, confirmada pelos dados moleculares. Desta forma, *L. dendroidea* deve ser tratada como uma espécie independente e não como uma variedade de *L. obtusa*, como correntemente aceita. A confirmação da posição taxonômica de *L. aldingensis* e *Laurencia* sp. 1, encontradas nos litorais do Rio de Janeiro e do Espírito Santo, depende da comparação, em nível molecular, com material ainda não disponível de *L. aldingensis* e de *L. filiformis* da localidade-tipo (Austrália). Os marcadores utilizados foram eficientes para separar categorias taxonômicas específicas, entretanto as relações entre as espécies foram melhor resolvidas com o *rbcL* do que com o *cox1*. A combinação dos três marcadores (*rbcL*, *rbcL-S* e *cox1*) aumentou o suporte para a maioria das relações estabelecidas e apresentou melhor resolução da topologia. As primeiras inferências filogenéticas para espécies do complexo *Laurencia* utilizando-se o *cox1* foram realizadas neste estudo e este marcador mostrou-se eficiente na identificação e delimitação de categorias taxonômicas específicas, corroborando o seu uso para “barcoding”.

ABSTRACT

Most species of the *Laurencia* complex presents great morphologic plasticity making its taxonomic delimitation difficult. Although new morph-anatomic and reproductive characteristics have been used to separate genera and species, the taxonomy of the group remains confusing. In this case, the use of molecular markers, mainly the plastidial *rbcL* gene, has proven useful to delimit the taxa of the complex. The aim of this study was to perform taxonomic and phylogenetic studies of the *Laurencia* complex based on morphological and molecular characters. The morphological analysis was carried out on specimens collected in 39 sites on Rio de Janeiro coastline. For the molecular analysis, the *rbcL* gene, the *rbcL*-S spacer and the *cox1* mitochondrial gene of the specimens collected in RJ, ES, SP, BA, Atol das Rocas, Mexico, Cuba and Canary Islands (Spain) were sequenced in an attempt to clarify the taxonomic position of the species and to infer their phylogenetic relationships. Consensus trees of maximum parsimony (MP), neighbor-joining (NJ) and bayesian analysis were generated from the *rbcL* sequences obtained from this study, added to those available at the GenBank. For the analysis based on *cox1*, *rbcL* and *rbcL*-S and in the combination of the three markers, consensus trees of MP, NJ, maximum likelihood (ML) and bayesian analysis were generated. The phylogenetic hypotheses confirmed the monophyly of the *Laurencia* complex and of the *Osmundea* genus, but the relationships between the *Laurencia* and *Palisada* genera were not totally solved. Based on the obtained results, eight species of the *Laurencia* complex were confirmed for the Brazilian coastline: *Laurencia caduciramulosa*, *L. catarinensis*, *L. dendroidea*, *L. oliveirana*, *L. translucida*, *Palisada flagellifera*, *P. perforata* and *Chondrophycus furcatus*. Out of the eight mentioned species, only *C. furcatus* was not found in Rio de Janeiro. The phylogenetic analyses showed that *C. furcatus* belongs to the *Palisada* genus and with future nomenclatural change of this species to *Palisada*, there will be no more representatives of *Chondrophycus* in Brazil. The phylogenetic analyses and detailed morphological comparison of *Palisada papillosa* and *P. perforata* support the conspecificity of these taxa, *P. perforata* having priority over the first. The taxa *Chondrophycus patentirameus* and *C. thuyoides* are grouped with *Palisada* in all phylogenetic analyses. This result led to the proposition of two new combinations: *Palisada patentiramea* (Montagne) Cassano, Sentías, Gil-Rodríguez et M.T. Fujii and *Palisada thuyoides* (Kützing) Cassano, Sentías, Gil-Rodríguez et M.T. Fujii. The molecular data showed that *Laurencia intricata* of the type locality (Antilles) is distinct from that reported for Brazil. Citations of this species for Rio de Janeiro correspond to *L. catarinensis*, confirmed through comparison

with the sequence obtained for a specimen from the type locality. The taxa previously cited to the Brazilian coastline as *Laurencia arbuscula*, *L. filiformis*, *L. majuscula* and *L. obtusa* are the same taxonomic entity, confirmed in all phylogenetic analyses performed. Examination of materials-type and/or reference allowed their identification as *L. dendroidea*, whose type locality is Brazil. *Laurencia obtusa* from Northern Atlantic is a distinct species, confirmed by the molecular data. Therefore, *L. dendroidea* must be considered as an independent species and not as a variety of *L. obtusa*, as it is currently considered. The confirmation of the taxonomic position of the *L. aldingensis* and *Laurencia* sp. 1 found on Rio de Janeiro and Espírito Santo coastlines depends on comparison, at molecular level, with material, not yet available, of *L. aldingensis* and *L. filiformis* of the type locality (Australia). The utilized markers were efficient to separate specific taxonomic categories; however, the relationships between the species were best determined with the *rbcL* rather than with *cox1*. The combination of the three markers (*rbcL*, *rbcL-S* and *cox1*) improved the support for most of the established relationships and presented better topology definition. The first phylogenetic inferences for species of the *Laurencia* complex using *cox1* were performed in this study and this marker proved to be efficient to identify and delimitate the specific taxonomic categories, corroborating its use for barcoding.

TRABALHOS PUBLICADOS

***Laurencia caduciramulosa* (Ceramiiales, Rhodophyta)
from Ilha Grande Bay, Rio de Janeiro, Brazil:
a recent introduction into the Atlantic Ocean?**

Valéria CASSANO^{a*}, Maria Teresa Menezes de SZÉCHY^b
and Mutue Toyota FUJII^c

^aDepartamento de Biologia Vegetal, Instituto de Biologia
Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro,
Maracanã, 20550-013 Rio de Janeiro, Brazil

^bDepartamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Federal
do Rio de Janeiro, Cidade Universitária, Centro de Ciências da Saúde,
21941-590 Rio de Janeiro, Brazil

^cSeção de Ficologia, Instituto de Botânica, Caixa Postal 4005,
01061-970 São Paulo, Brazil

(Received 2 December 2005, accepted 21 February 2006)

Abstract – *Laurencia caduciramulosa* Masuda *et* Kawaguchi, previously reported from the Pacific Ocean and from the Mediterranean Sea, is recorded for the first time for the Atlantic Ocean, at different sites in Ilha Grande Bay, State of Rio de Janeiro, southeastern Brazil. The specimens were collected as epilithic or epiphytic plants from the lower intertidal zone to 5 m depth at sheltered to exposed rocky shores during the period 2001-2005. This *Laurencia* species is characterized by its reduced size, well-developed stolon-like basal system and abundant deciduous branchlets at the upper portion of the erect axes that function as propagules. As described in other reports of this species, gametangia and sporangia were not observed. The absence of reproductive structures could be efficiently replaced by a strategic mechanism such as vegetative propagation by these propagules. This study expands the geographical distribution of *L. caduciramulosa* to the southwestern Atlantic Ocean, suggesting its recent introduction into Brazilian coastal environments by transoceanic shipping.

Atlantic Ocean / Brazil / geographical distribution / introduced species / *Laurencia caduciramulosa* / Rhodophyta / taxonomy

Résumé – *Laurencia caduciramulosa* (Ceramiiales, Rhodophyta) de la baie de Ilha Grande Bay, Rio de Janeiro, Brésil : introduction récente en Océan Atlantique ? *Laurencia caduciramulosa* Masuda *et* Kawaguchi, précédemment signalé dans l'océan Pacifique et la mer Méditerranée, l'est pour la première fois dans l'océan Atlantique. Les spécimens ont été récoltés en divers points de la Baie de Ilha Grande (Etat de Rio de Janeiro, sud-est du Brésil), de 2001 à 2005, sur les rochers et épiphytes sur d'autres algues, de la zone intertidale

* Correspondence and reprints: valcassano@yahoo.com.br
Communicating editor: Frederik Leliaert

inférieure jusqu'à 5 m de profondeur, en mode abrité à modérément exposé. Cette espèce est caractérisée par sa taille réduite, sa base stolonifère et par ses axes dressés pourvus dans leur partie supérieure de petites ramules caduques qui fonctionnent comme des propagules. Comme dans les travaux antérieurs, les gamétozystes et les sporocystes n'ont pas été observés. L'espèce compense probablement cette absence de reproduction par la multiplication végétative assurée par les ramules caduques. Cette étude étend l'aire de distribution géographique de *Laurencia caduciramulosa* au sud-ouest Atlantique, et suggère une introduction récente sur la côte brésilienne, probablement par le trafic maritime transocéanique.

Brésil / distribution géographique / espèce introduite / *Laurencia caduciramulosa* / Océan atlantique / Rhodophyta / taxonomie

INTRODUCTION

Laurencia caduciramulosa Masuda et Kawaguchi in Masuda et al. (1997) was originally described from Vietnam. Its geographical distribution was expanded by Masuda et al. (2001) who reported it for Malaysia and Furnari et al. (2001) and Klein & Verlaque (2005) for the Mediterranean Sea. Klein & Verlaque (2005) discussed the hypothesis of its recent introduction into this area.

In Brazil, *Laurencia caduciramulosa* was found for the first time in 2001, although in low abundance, in Ilha Grande Bay, southeastern Rio de Janeiro State. Later, in 2003-2005, the species was found at ten different sites around the Ilha Grande Bay. This paper describes and illustrates morphological characters of *Laurencia caduciramulosa* from Brazil, comparing it with related species, and discusses the hypothesis of its recent introduction into Brazilian coastal ecosystems.

MATERIALS AND METHODS

Study Area

Ilha Grande Bay is located in the State of Rio de Janeiro, southeastern Brazil (22°50' S - 23°20' S, 44°45' W - 44°00' W), an area rich in islands, inlets and smaller bays. An accelerated growth process has been shown by several urban centers along the Ilha Grande Bay coastal zone, including old cities such as Angra dos Reis and Parati, and villages like Monsuaba, Bracuí, Frade and Perequê. The main economic activities of this region are directly and indirectly related to the sea, such as fishery, tourism, aquatic sports and commercial shipping.

Macroalgae from Ilha Grande Bay have been listed in the literature since the beginning of 20th century but not in a systematic arrangement. The phycological flora of Ribeira Bay, subjected to the liquid effluent of the power plant "Central Nuclear Almirante Álvaro Alberto" (CNAEA) (Pedrini et al., 1994; Széchy & Nassar, 2005), and that of Parati Bay (Figueiredo-Creed & Yoneshigue-Valentin, 1997; Figueiredo et al., 2004) can be considered as the most studied ones among Ilha Grande Bay ecosystems.

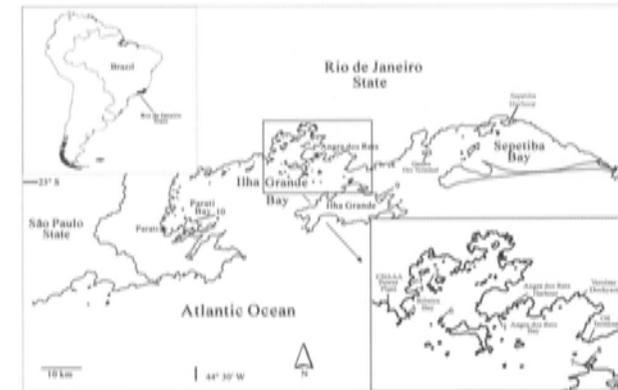


Fig. 1. Southern coast of the State of Rio de Janeiro, showing the sampling sites in Ilha Grande Bay. 1, Gordas's Beach (Angra dos Reis Bay); 2, Itanhangá's Island, 3, Caiobá's Headland, 4, Fortaleza's Headland, 5, Velho's Beach, 6, Brandão's Island (Ribeira Bay); 7, Lagoa Azul's Island, 8, Macacos's Island, 9, Preta Beach (Ilha Grande Island); 10, Lula's Beach (Parati Bay).

Laurencia caduciramulosa was identified from haphazardly taken phytobenthic samples of ten localities of Ilha Grande Bay, collected in 2001, 2003, 2004 and 2005. The study area included Angra dos Reis Bay (1 sampling site), Ribeira Bay (5 sampling sites), Ilha Grande Island (3 sampling sites) and Parati Bay (1 sampling site) (Fig. 1).

Morphological study

Specimens from all sampling sites, after fixation in 4% formalin/seawater solution, were analyzed for external and internal morphology, following Masuda et al. (1997). The presence of *corps en cerise* in the epidermal cells was analyzed in living specimens from Ilha Grande Island. Measurements were taken for morphometric characters, such as the diameter of branches and the dimensions of epidermal and medullary cells, at different portions of the thalli ($n \geq 3$ for each specimen).

Transverse hand-sections were made with a razor blade and stained with 0.5% aqueous aniline blue solution, acidified with 1N HCl (Tsuda & Abbott, 1985). Photomicrographs were taken with an Olympus BH-2 microscope (Tokyo, Japan) and a Vivitar 3675 digital camera (California, USA) coupled to a Nikon Eclipse E200 microscope (Tokyo, Japan).

Voucher specimens are deposited in the Herbarium of the University of State of Rio de Janeiro (HRJ), Brazil and in the Herbarium of the Instituto de Botânica (SP), São Paulo, Brazil.

Specimens Examined: BRAZIL. State of Rio de Janeiro, Ilha Grande Bay: Angra dos Reis, Angra dos Reis Bay, Gordas's Beach (23°01'24" S, 44°20'06" W), ii.2001, leg. M.T.M. Széchy (HRJ 10442), Ribeira Bay, Piraquara de Dentro Cove, Itanhanga's Island (22°59'30" S, 44°24'48" W), 22.x.2004, 5 m depth, leg. B.L. Ignácio (HRJ 10444); Caiobá's Headland (22°59'05" S, 44°26'04" W), 19.iii.2005, on *Sargassum*, leg. A.P.A. Veloso (HRJ 10443); Fortaleza's Headland (22°59'38" S, 44°25'54" W), 22.viii.2004, on *Sargassum*, leg. M.T.M. Széchy (HRJ 10333), 19.ix.2004, on *Sargassum*, leg. M.T.M. Széchy (HRJ 10332), 20.iii.2005, on *Sargassum*, leg. M.T.M. Széchy (HRJ 10440), Piraquara de Fora Cove, Velho's Beach (23°01'12" S, 44°26'12" W), 30.vii.2004, leg. M.T.M. Széchy (HRJ 10331), 21.iii.2005, on *Sargassum*, leg. A.P.A. Veloso (HRJ 10441); Brandão's Island (23°01'48" S, 44°24'12" W), 04.ii.2003, leg. A.B. Ramos (HRJ 10339), 18.v.2003, leg. D.N. Moysés (HRJ 10330), 10.x.2003, leg. D.N. Moysés (HRJ 10340), ii.2004, leg. D.N. Moysés (HRJ 10337), 20.vi.2004, leg. D.N. Moysés (HRJ 10338), vii.2004, leg. D.N. Moysés (HRJ 10334), Ilha Grande Island, Lagoa Azul's Island (23°05'06" S, 44°14'28" W), 25.ii.2005, leg. V. Cassano & J.C. De-Paula (HRJ 10335), 29.vii.2005, leg. V. Cassano & J.C. De-Paula (HRJ 10457), Macacos's Island (23°04'48" S, 44°14'16" W), 29.vii.2005, leg. V. Cassano & J.C. De-Paula (HRJ 10455), Preta Beach (23°07'39" S, 44°10'18" W), 29.vii.2005, leg. V. Cassano & J.C. De-Paula (HRJ 10456); Parati, Parati Bay, Lula's Beach (23°11'47" S, 44°37'59" W), 09.ii.2005, leg. V. Cassano (HRJ 10336).

RESULTS

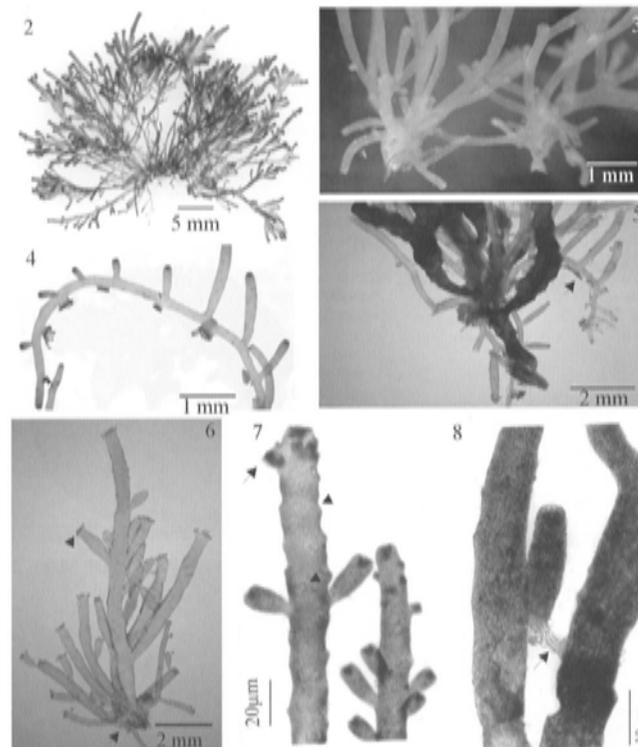
Laurencia caduciramulosa Masuda et Kawaguchi, in Masuda et al., 1997: 3, figs 1-10.

Holotype: Herbarium of the Hokkaido University (SAP 062086).

Type locality: Hon Tre Island, Vietnam.

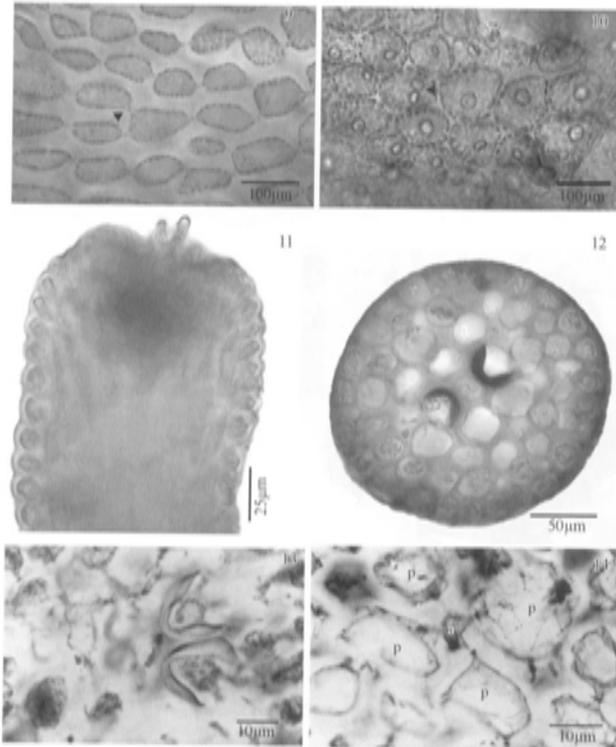
Geographical distribution: Pacific Ocean: Vietnam: Hon Tre Island, Tien Hai Islands, Hatien, Kien Giang Province (Masuda et al., 1997); Malaysia: Terengganu, Pasir Tiga Ruang, Pulau Perhentian Besar; Pahang, Kampung Mukut, Pulau Tioman (Masuda et al., 2001); Mediterranean Sea: Italy: Sicily, Catania, Lachea Island; Pelagean Islands, Linosa Island (Furnari et al., 2001); France: western Provence (Bouches-du-Rhône), Fos, Sausset-les-Pins, Marseille and Riou Island, Cassis; eastern Provence (Var), Embiez Islands and Toulon (Klein & Verlaque, 2005); Atlantic Ocean: Brazil: Rio de Janeiro: Ilha Grande Bay: Angra dos Reis and Parati (this paper).

Description: Plants form garnet-brown cushion-like tufts, up to 4 cm high (Fig. 2). Specimens are soft in texture, adhering well to herbarium paper when dried. Several erect axes arise from a discoid holdfast and from well-developed stolon-like branches formed from the lower portion of axes attached to the substrata by secondary and smaller discoid holdfasts (Figs 3-5). In epiphytic plants, stolon-like branches may be well-developed (Fig. 5), or may be lacking (Fig. 6) or inconspicuous. Erect axes are terete throughout, sparsely branched, mainly in the lower portions of the thalli, with few long first-order branches. Anastomoses between branches are frequent. The main axes are narrower in the lower portions of the thalli, 144-360 µm in diameter just above the holdfast; broader in the middle portions, 185-670 µm in diameter, and slightly narrowing towards the apices, 246-560 µm in diameter in the upper portions. In some populations, plants are clearly broader towards the apices (Figs 2, 6). Branching is irregularly alternate and spirally arranged, usually with 2-3 (4) orders of branches. The ultimate branchlets are clavate and develop throughout the thalli, but they are deciduous, detaching



Figs 2-8. *Laurencia caduciramulosa* Masuda et Kawaguchi. 2, Habit of an epilithic plant. 3-4, Basal portion of the epilithic plants. 3, Discoid holdfasts and stolon-like branch. 4, Detail of a stolon-like branch showing smaller discoid holdfasts. Figs 5-6, Epiphytic plants, growing on *Sargassum*. 5, Basal portion of a plant showing stolon-like branches (arrow) on *Sargassum* receptacle. 6, Plant with a single discoid holdfast (arrow). Note crown of deciduous branchlets at the apices (arrowhead). 7, Upper portions of main branches showing small deciduous branchlets near apex (arrow) and scars of released branchlets (arrowheads). 8, Released propagule attached on an erect axis of *L. caduciramulosa*. Note conspicuous rhizoid (arrow).

easily from the branches, which become denuded and with many scars, except only at the uppermost portions of the branches, where they can form a crown of branchlets (Figs 6 and 7). These branchlets are 123-450 µm long and 94-225 µm in



Figs 9-14. *Laurencia caduciramulosa* Masuda et Kawaguchi. **9.** Epidermal cells in surface view of the lower portion of a branch showing secondary pit connections (arrow). **10.** Epidermal cells in surface view, showing mostly a single *corps en cerise* per cell. Note two *corps en cerise* per cell (arrow; living material). **11.** Apex of a branch with slightly projecting epidermal cells. **12.** Transverse section of the middle portion of a branch showing lenticular thickenings in the walls of medullary cells. **13.** Lenticular thickenings in detail. **14.** Transverse section of the upper portion of a branch showing an axial cell (a) with four pericentral cells (p).

diameter at the tips, basally constricted, measuring 60-128 μm in diameter at the constrictions. The deciduous branchlets may adhere elsewhere and grow, thereby functioning as propagules (Fig. 8).

In surface view, epidermal cells are regularly arranged in longitudinal rows and connected to each other by longitudinally oriented secondary pit connections. Epidermal cells are polygonal in the upper portions of the thalli, 13-43 μm long and 11-38 μm wide; longitudinally elongated in the middle portions, 27-80 μm long and 15-47 μm wide; and elongate-polygonal in the lower portions of the thalli, 25 - 65 μm long and 14-37 μm wide (Fig. 9), possessing one, rarely two, *corps en cerise* per cell (Fig. 10), and only one per trichoblast cell. Epidermal cells, near branch apices, are slightly projected (Fig. 11). In transverse section, thalli with one or two layers of pigmented epidermal cells and two or three layers of colorless medullary cells (Fig. 12). Epidermal cells of first-order branches are 10-30 μm long and 10-35 μm wide in the upper portions and 14-48 μm long and 13-55 μm wide in the lower portions. Medullary cells are rounded or slightly radially elongated, measuring 22-108 μm long and 20-75 μm wide in the middle portions of the main axes. Medullary cells of first-order branches measuring 20-83 μm long and 16-58 μm wide in the middle to lower portions and 18-65 μm long and 24-46 μm wide in the uppermost portions. Lenticular thickenings are present in the walls of medullary cells, abundant, except in the upper portions of the thalli (Figs 12 and 13). Each vegetative axial segment cuts off four pericentral cells (Fig. 14) that are slightly larger than medullary cells of the surrounding layer. Gametangia and sporangia were not observed.

Habitat: The epilithic specimens were collected from the lower intertidal to subtidal zone at 5 m depth, associated with turfs of articulated Corallinaceae, *Caulerpa fastigiata* Montagne, *Hypnea spinella* (C. Agardh) Kützing, at moderately exposed sites. Some specimens were collected growing on species of *Sargassum* at sites protected from wave action.

DISCUSSION

Laurencia caduciramulosa is easily recognized mainly by the deciduous branchlets, its reduced size and well-developed stolon-like basal system. When Masuda & Kawaguchi (in Masuda et al., 1997) described *L. caduciramulosa*, they pointed out the presence of deciduous branchlets as the most distinctive characteristic of this species. These deciduous branchlets function as propagules, and their detachments produce abundant scars on the branches (Masuda et al., 2001). Garbary & Harper (1998) did not include the presence or absence of deciduous branchlets into the rank of characters used in their cladistic analysis of the *Laurencia* complex, but they confirmed this feature as an additional morphological character that can be taxonomically useful. Propagules or propagule-like branchlets were described for other species of *Laurencia sensu lato*: *L. poiteaui* (J.V. Lamouroux) M. Howe (Cruz Adames & Ballantine, 1996), *L. gracilis* Hooker et Harvey (Cribb, 1958), *L. decidua* Dawson and *L. subcorymbosa* Dawson (Masuda et al., 1997). *Laurencia poiteaui* was transferred to *Chondrophycus poiteaui* (J.V. Lamouroux) K.W. Nam (Nam, 1999) by the presence of two vegetative pericentral cells per vegetative axial segment, besides other characters. The presence of true propagules was confirmed for *C. poiteaui* by Cruz Adames & Ballantine (1996), although Fujii et al. (1996) did not mention this character for the specimens from Nichupté Lagoon, Caribbean region of Mexico.

Deciduous branchlets described by Cribb (1958) for specimens identified as *Laurencia gracilis* (Table 1). Yamada (1931: 275) however, who examined authentic material of this species, did not report such deciduous branches. The specimen depicted by Yamada (1931) is about 15 cm high and morphologically very different from that reported by Cribb (1958) as *L. gracilis* from South-eastern Queensland. According to Yamada (1931) the slenderness and dark color of the frond and the inflated branchlets are peculiar for *L. gracilis*. On the other hand, Cribb (1958) mentioned as characteristic of *L. gracilis* the production of numerous small, clavate or cylindro-clavate branchlets in crowded arrangement near the apices, which may perhaps function as a means of vegetative reproduction. In these specimens, although deciduous propagule-like branches could be present, the prostrate stolon-like attachment system is lacking, thus differing from *L. caduciramulosa sensu Masuda et al.* (1997). Then, *L. gracilis* could be a misapplied name for the Cribb's specimens.

Laurencia decidua and *L. subcorymbosa*, both described for the Pacific Mexican, are morphologically very similar to *Laurencia caduciramulosa* (Table 1). Dawson (1963) segregated *Laurencia decidua* from *L. subcorymbosa* mainly based on their habitat: *L. decidua* being epilithic, whereas *L. subcorymbosa* is only found epiphytic on *Sargassum*. He also described different types of basal system for the species: "creeping, ramified branches, densely intergrown" for *L. decidua* and "a very small discoid attachment" for *L. subcorymbosa*. Other diagnostic characters are the branching pattern of deciduous branchlets (densely imbricated for *L. decidua*, and subcorymbose crown of deciduous branchlets for *L. subcorymbosa*), and the presence or absence of projecting epidermal cells (Table 1).

Laurencia caduciramulosa and *L. decidua* were distinguished by Masuda *et al.* (1997) based on the following morphological characters: 1) length of branchlets; 2) presence or absence of projecting epidermal cells; 3) presence or absence of intergrowing, creeping, ramified basal system; 4) tetrasporangia production [*L. decidua* produces tetrasporangia (Dawson, 1954, 1963; Abbott & Hollenberg, 1976), which are unknown for *L. caduciramulosa*]. On the other hand, *Laurencia subcorymbosa* was distinguished from *L. caduciramulosa* by Masuda *et al.* (1997) based on: 1) slender and sparsely branched axes [partly tetrasporangial (Dawson, 1963)], and 2) absence of stolon-like branches (Table 1).

According to Masuda *et al.* (1997), the basal system described by Dawson (1963) for *L. decidua* is not found in *L. caduciramulosa*. However, the Brazilian specimens of *L. caduciramulosa* showed a well-developed stolon-like basal system that is not critically different from that described by Dawson (1963). Furthermore, the basal system of *L. decidua* was interpreted as "creeping stoloniferous" by Abbott & Hollenberg (1976). Thus, the morphological differences in regard to basal system of these species seem to be a matter of interpretation. Moreover, our specimens of *L. caduciramulosa* were found growing on different substrates: rocky boulders and *Sargassum*, and showed variations in their basal systems. Epilithic plants of *L. caduciramulosa* produce dense tufts with well-developed stolon-like branches, whereas epiphytic plants have inconspicuous stolon-like branches or none, despite their potential for development of these branches. Nevertheless, the presence or absence of projecting epidermal cells seems to be a conservative species character and can constitute a diagnostic feature for some species of the *Laurencia* complex. The lack of projecting epidermal cells in *L. decidua* can separate it from *L. subcorymbosa* and *L. caduciramulosa* (Table 1). However, the presence of projecting epidermal cells in these latter species, and their habitat overlap suggest that they might be conspecific. Thus, a critical examination of the types of these species is required to confirm if they are taxonomically independent

Table 1. Comparison among *Laurencia caduciramulosa* Masuda *et Kawaguchi* and other species with deciduous branchlets. - = not described nor observed by the authors.

Characters	<i>L. caduciramulosa</i>			<i>L. decidua</i>		<i>L. subcorymbosa</i>		<i>L. gracilis</i>	
	This paper	Masuda <i>et al.</i> (1997, 2001)	Furnari <i>et al.</i> (2001)	Klein & Verlaque (2005)	Dawson (1963)	Dawson (1963)	Dawson (1963)	Cribb (1958)	Cribb (1958)
Habitat	lower intertidal to shallow subtidal zone (5 m depth); epilithic or epiphytic on <i>Sargassum</i>	lower intertidal zone; epilithic	lower intertidal zone; epilithic	shallow subtidal zone (4-8 m depth); epilithic	epilithic	epiphytic (on <i>Sargassum</i>)	epiphytic zone; epiphytic, often on <i>Cystophyllum</i>	upper sublittoral zone; epiphytic, often on <i>Cystophyllum</i>	upper sublittoral zone; epiphytic, often on <i>Cystophyllum</i>
Thallus height (cm)	up to 4	2-5	up to 5	up to 1.5	-	2.5	5	-	5
Stolon-like branches	present	present	present	present	present	absent	absent	absent	absent
Main axis diameter lower to middle portions (µm)	185-670	500-600 700-800*	-	360-440	500	200	300-625	-	300-625
Deciduous branchlets length × diameter at the tips (µm)	123-450 × 94-225	100-400 × 100-180 100-600 × 100-160*	-	500-560 × 240-260	1000	150	280 × 112	-	280 × 112
<i>Corps en cerise</i>	one, rarely two per cell	one per cell*	-	-	-	-	-	-	-
Cell wall projections	present (slight)	present (slight)	present (slight)	present (slight)	absent	mammiform	present	present	present
Lenticular thickenings	abundant (except for upper portions)	abundant (except for upper portions)	present	present	frequent	abundant	abundant (absent or very sparse in a few plants)	abundant (absent or very sparse in a few plants)	abundant (absent or very sparse in a few plants)
Geographic distribution	Atlantic (Brazil)	Pacific (Vietnam, Malaysia)	Mediterranean sea (Italy)	Mediterranean sea (France)	Pacific (Mexico)	Pacific (Mexico)	Pacific (Australia)	Pacific (Australia)	Pacific (Australia)

entities. Because the holotypes of Dawson's two species *Laurencia decidua* and *L. subcorymbosa* were not available for this study, we decided to cite the Brazilian material as *L. caduciramulosa* until comparative studies can clarify the relationships of these three taxonomic entities.

Besides the very distinctive deciduous branchlets of *L. caduciramulosa*, the Brazilian specimens are in agreement with the descriptions given by Masuda *et al.* (1997, 2001), Furnari *et al.* (2001) and Klein & Verlaque (2005) in the following features: 1) basal system formed by well-developed stolon-like branches, especially in epilithic plants; 2) epidermal cells, in surface view, longitudinally elongated in the middle to lower portions of the thalli; 3) epidermal cells slightly projecting near the uppermost portion of the branches, and 4) medullary cells with abundant lenticular thickenings in the walls, mainly in the lower portions of the thalli.

Similar to the Brazilian material, reproductive structures (gametangia or sporangia) have not been found in the collections of Vietnam (Masuda *et al.*, 1997), Malaysia (Masuda *et al.*, 2001) and the Mediterranean Sea (Furnari *et al.*, 2001; Klein & Verlaque, 2005). The absence of such reproductive structures seems to be efficiently replaced by a strategic mechanism of vegetative propagation made by the deciduous branchlets. These branchlets and, consequently, peculiar scars were constant in all Brazilian collections. Many detached branchlets were observed growing on the parental plants, producing conspicuous rhizoids. This observation also confirms that these branchlets are true propagules able to disseminate the species as pointed out by Masuda *et al.* (2001). The existence of the propagules as an alternative way of reproduction is important to understand the appearance and dispersion of *L. caduciramulosa* in Ilha Grande Bay.

Previous floristic surveys of Ilha Grande Bay listed eight species of *Laurencia sensu lato*: *L. catarinensis* Cordeiro-Marino *et al.* M.T. Fujii, *L. filiformis* (C. Agardh) Montagne, *L. intricata* J.V. Lamouroux, *L. majuscula* (Harvey) Lucas, *L. microcladia* Kützinger, *L. obtusa* (Hudson) J.V. Lamouroux, *Chondrophycus flagelliferus* (J. Agardh) Garbary *et al.* J. Harper, *C. papillosus* (C. Agardh) Garbary *et al.* J. Harper. These studies referred neither to *L. caduciramulosa* nor to any species of *Laurencia* with deciduous branchlets (Falcão *et al.*, 1992; Figueiredo-Creed & Yoneshigue-Valentin, 1997; Brito *et al.*, 2002; Figueiredo *et al.*, 2004; Széchy & Nassar, 2005). *Laurencia caduciramulosa* is referred neither to the remaining coast of the State of Rio de Janeiro nor to the coast of the State of Espírito Santo (Horta, 2000; Fujii & Senties, 2005), which show the richest phycological flora of Brazil, reflecting more complete taxonomic surveys (Horta *et al.*, 2001; Guimarães, 2003). Therefore, it is unlikely that this macroalga has been previously overlooked.

The geographical expansion of *Laurencia caduciramulosa* worldwide since its first description from Vietnam is in agreement with the introduction hypothesis proposed by Ribera & Boudouresque (1995). According to these authors' criteria, *L. caduciramulosa* can be considered an introduced species in Brazil because: 1) when it was discovered, in 2001, it showed low abundance; 2) the sampling sites were close to potential introduction zones such as harbours; and 3) afterwards it was found in greater abundance around the original sampling site.

Two important harbours are located in the Ilha Grande Bay: Ilha Grande Bay's Oil Terminal at Ponta Leste, and Harbour of Angra dos Reis at Angra dos Reis city, which is responsible for the exportation of the National Siderurgical Company production. There are also one dockyard (Verolme) at Jacuacanga Inlet, many private piers and incipient mariculture. All these features are potential sources of species introduction (Carlton, 2001). Adjacent to Ilha Grande Bay, Sepetiba Bay is

subjected to a higher degree of human interference, including sewage and industrial discharges and activities related to the Guaíba Ore Terminal and to the Harbour of Sepetiba. Harbour of Sepetiba, known as a hub harbour, is responsible for bulk import and export terminals plus a multipurpose terminal. These harbours receive ballast water, although the discharged volume is unknown (Clarke *et al.*, 2004). Ballast water is recognized as a vector for introduced species into marine environments (Carlton, 1985). Considering the shipping routes and the seawater circulation along the coastline of the State of Rio de Janeiro, transport of seawater mass between Sepetiba Bay and Ilha Grande Bay is possible (Villac *et al.*, 2004), and this is an important point for the analysis of the potential destination of non-native species.

Recent introduction of macroalgal species has not been reported for the area under the influence of the Harbour of Sepetiba, but the cirriped *Megabalanus coccopoma* (Darwin, 1854) and the decapod *Charybdis hellerii* (A. Milne-Edwards, 1867) were referred to the area as introduced species (Villac *et al.*, 2004). On the other hand, a green macroalga, *Caulerpa scalpelliformis* (Turner) C. Agardh (Falcão & Széchy, 2005) and the scleractinian corals *Tubastraea coccinea* Lesson, 1829 and *T. tagusensis* Wells, 1982 (Paula & Creed, 2004) have been considered as recently introduced into Ilha Grande Bay. Likewise, it is likely that *Laurencia caduciramulosa* is a recently introduced species in the area.

Recently, another small-sized species, *Laurencia venusta* Yamada, originally described from Japan, was reported for the first time in Brazilian waters (Fujii *et al.*, 2005). The species was collected only at a single site at Espírito Santo State, and the authors proposed the hypothesis of *L. venusta* being a recently introduced species into Brazil.

The local introduction of *Laurencia caduciramulosa* is difficult to determine because it could have arrived at other geographical areas in the Brazilian coast before its present discovery at Ilha Grande Bay, as described in a species introduction risk assessment made for the adjacent Sepetiba Bay (Clarke *et al.*, 2004). Following its probable accidental introduction in Ilha Grande Bay, *L. caduciramulosa* seems to have successfully established in the shallow subtidal zone of rocky shores. Due to its reduced thallus height, we do not believe that this species is a potential marine pest for Ilha Grande Bay ecosystems. This report expands the geographical distribution of *L. caduciramulosa* to the western Atlantic Ocean.

Acknowledgments. We are thankful to Ana Paula Accacio Veloso, André Breves Ramos, Bárbara L. Ignácio, Danuza Nogueira Moysés and Joel C. De-Paula for helping with field collection; we also thank Kenny Tanizaki for helping in the map elaboration, Yocie Yoneshigue-Valentin for French translation, Abel Senties Granados for his comments, and Michael Wynne for helpful improvements to the manuscript. This study was supported partly by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) to the first author.

REFERENCES

- ABBOTT I.A. & HOLLENBERG G.J., 1976 — *Marine algae of California*. Stanford, California, Stanford University Press, xii + 789 p.
- BRITO L.V.R. DE, SZÉCHY M.T.M. & CASSANO V., 2002 — Levantamento taxonômico das macroalgas da zona das marés de costas rochosas adjacentes ao Terminal Marítimo Almirante Maximiano Fonseca, Baía da Ilha Grande, RJ. *Atlântica* 24: 17-26.

- CARLTON J.T., 1985 — Transoceanic and interoceanic dispersal of coastal marine organisms: the biology of ballast water. *Oceanography and marine biology, annual review* 23: 313-371.
- CARLTON J.T., 2001 — *Introduced species in U.S. coastal waters: environmental impacts and management priorities*. Arlington, Pew Oceans Commission, 28 p.
- CLARKE C., HILLIARD R., JUNQUEIRA A. de O. R., LEAL NETO A. de C., POLGLAZE J. & RAAYMAKERS S., 2004 — Ballast water risk assessment: Port of Sepetiba, Federal Republic of Brazil. Globallast Monograph Series n. 14, p. 1-63, 7 append. International Maritime Organization, London.
- CRIBB A.B., 1958 — Records of marine algae from South-Eastern Queensland - III. *Laurencia Lamx. University of Queensland papers* 3: 159-191.
- CRUZ ADAMES V.M. & BALLANTINE D.L., 1996 — Asexual reproduction in *Laurencia poiteaui* (Rhodomelaceae, Rhodophyta). *Botanica marina* 39: 75-77.
- DAWSON E.Y., 1954 — The marine flora of Isla San Benedicto following the volcanic eruption of 1952-53. *Allan Hancock Foundation publications of the University of Southern California, occasional paper* 16: 1-25.
- DAWSON E.Y., 1963 — Marine red algae of Pacific Mexico. Part. 8. Ceramiales: Dasyaceae, Rhodomelaceae. *Nova Hedwigia* 6: 401-481.
- FALCÃO C. & SZÉCHY M.T.M., 2005 — Changes in shallow phytobenthic assemblages in southeastern Brazil, following the replacement of *Sargassum vulgare* (Phaeophyta) by *Caulerpa scalpelliformis* (Chlorophyta). *Botanica marina* 48: 208-217.
- FALCÃO C., MAURAT M.C., NASSAR C.A.G., SZÉCHY M.T.M. & MITCHELL G.J.P., 1992 — Benthic marine flora of the Northeastern and Southeastern coast of Ilha Grande, Rio de Janeiro, Brazil: phytogeographic considerations. *Botanica marina* 35: 357-364.
- FIGUEIREDO M.A. de O., BARRETO M.B.B. & REIS R.P., 2004 — Caracterização das macroalgas nas comunidades marinhas da Área de Proteção Ambiental de Cairuçu, RJ — subsídios para futuros monitoramentos. *Revista Brasileira de botânica* 27: 11-17.
- FIGUEIREDO-CREED M.A. de O. & YONESHIGUE-VALENTIN Y., 1997 — Chlorophyta, Phaeophyta e Rhodophyta. In: Marques M.C.M. (ed.), *Mapeamento da cobertura vegetal e listagens das espécies ocorrentes na Área de Proteção Ambiental de Cairuçu, Município de Parati, RJ. Série Estudos e Contribuições*, Rio de Janeiro, Brasil, Instituto de Pesquisas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, pp. 30-36.
- FUJII M.T. & SENTÍES G. A., 2005 — Taxonomia do complexo *Laurencia* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) do Brasil, com ênfase nas espécies dos estados de São Paulo e do Espírito Santo. In: Sentíes G. A. & Dreckmann K.M. (eds.), *Monografias Ficológicas*. II. México, Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa, México, Instituto de Botânica, São Paulo, Brasil, pp. 69-135.
- FUJII M.T., COLLADO-VIDES L. & CORDEIRO-MARINO M., 1996 — Morphological studies of *Laurencia gemmifera* and *Laurencia poiteaui* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) from the Nichupté Lagoon System, Quintana Roo, Mexico. *Botanica marina* 39: 317-326.
- FUJII M.T., GUIMARÃES S.M.P.B. & ALVES J.P., 2005 — Ocorrência de *Laurencia venusta* (Ceramiales, Rhodophyta) no Espírito Santo, Brasil: distribuição biogeográfica disjunta ou introdução recente? In: REUNIAO BRASILEIRA DE FICOLOGIA, 10, 2004, Salvador. Formação de Ficólogos: um compromisso com a sustentabilidade dos recursos aquáticos: anais... Rio de Janeiro: Museu Nacional, pp. 527-536. Org. Sociedade Brasileira de Ficologia (Série Livros; 10).
- FURNARI G., CORMARCI M. & SERIO D., 2001 — The *Laurencia* complex (Rhodophyta, Rhodomelaceae) in the Mediterranean Sea: an overview. *Cryptogamie, Algologie* 22: 331-373.
- GARBARY D.J. & HARPER J.T., 1998 — A phylogenetic analysis of the *Laurencia* complex (Rhodomelaceae) of the red algae. *Cryptogamie, Algologie* 19: 185-200.
- GUIMARÃES S.M.P. B., 2003 — Uma análise da diversidade da flora marinha bentônica do estado do Espírito Santo, Brasil. *Hoehnea* 30: 11-19.

- HORTA P.A., 2000 — *Macroalgas do infralitoral do sul e sudeste do Brasil*. Thesis. University of São Paulo, São Paulo, Brazil, 301 p.
- HORTA P.A., AMANCIO E., COIMBRA C.S. & OLIVEIRA E.C. 2001 — Considerações sobre a distribuição e origem da flora de macroalgas marinhas brasileiras. *Hoehnea* 28: 243-265.
- KLEIN J. & VERLAQUE M., 2005 — *Laurencia caduciramulosa* Masuda et Kawaguchi (Ceramiales, Rhodophyta), first record on the Mediterranean coast of France. *Cryptogamie, Algologie* 26: 209-216.
- MASUDA M., KAWAGUCHI S., TAKAHASHI Y., MATSUGI Y. & SUZUKI M., 1997 — A taxonomic study of the genus *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta) from Vietnam. I. *Laurencia caduciramulosa* Masuda et Kawaguchi, sp. nov. *Cryptogamie, Algologie* 18: 1-10.
- MASUDA M., ABE T., KAWAGUCHI S. & PHANG S.M., 2001 — Taxonomic notes on marine algae from Malaysia. VI. Five species of Ceramiales (Rhodophyta). *Botanica marina* 44: 467-477.
- NAM K.W., 1999 — Morphology of *Chondrophyucus undulata* and *C. parvipapillata* and its implications for the taxonomy of the *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta) complex. *European journal of phycology* 34: 455-468.
- PAULA A.F. de & CREED J.C., 2004 — Two species of the coral *Tubastraca* (Cnidaria, Scleractinia) in Brazil: a case of accidental introduction. *Bulletin of marine sciences* 74: 175-183.
- PEDRINI A.G. DE, CASSANO V., COELHO L.G. & LABRONICI G.J., 1994 — Macroalgas marinhas da região sob influência da Central Nuclear Almirante Álvaro Alberto, Angra dos Reis, RJ, Brasil, I - Composição taxonômica. In: *V Congresso Geral de Energia Nuclear*. Associação Brasileira de Energia Nuclear, Rio de Janeiro, vol. 2, pp. 733-736.
- RIBERA M.A. & BOUDOURESQUE C.F., 1995 — Introduced marine plants, with special reference to macroalgae: mechanisms and impact. *Progress in phycological research* 11: 217-268.
- SZÉCHY M.T.M. & NASSAR C.A.G., 2005 — Flora ficológica bentônica da Baía da Ribeira, sul do estado do Rio de Janeiro: Avaliação após duas décadas de operação da Central Nuclear Almirante Álvaro Alberto. In: REUNIAO BRASILEIRA DE FICOLOGIA, 10, 2004, Salvador. Formação de Ficólogos: um compromisso com a sustentabilidade dos recursos aquáticos: anais... Rio de Janeiro: Museu Nacional, pp. 373-397. Org. Sociedade Brasileira de Ficologia (Série Livros; 10).
- TSUDA R.T. & ABBOTT I.A., 1985 — Collecting, Handling, Preservation, and Logistics. In: Littler M.M. & Littler D.S. (eds.), *Handbook of Phycological Methods, vol. IV. Ecological Field Methods: Macroalgae*. Cambridge/New York, Cambridge University Press, pp. 67-86.
- VILLAC M.C., FERNANDES F. da C., JABLONSKI S., LEAL NETO A. de C. & COUTINHO B.H., 2004 — *Biota da área sob influência do Porto de Sepetiba, Rio de Janeiro, Brasil: levantamento de dados pré-éritos*. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, 79 p.
- YAMADA Y., 1931 — Notes on *Laurencia*, with special reference to the Japanese species. *University of California publications in botany* 16: 185-310.

Sesquiterpenes from the introduced red seaweed *Laurencia caduciramulosa* (Rhodomelaceae, Ceramiales)

Valéria Cassano^a, Joel Campos De-Paula^a, Mutue Toyota Fujii^b,
Bernardo Antonio Perez Da Gama^c, Valéria Laneuville Teixeira^{c,*}

^a Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Departamento de Biologia Vegetal, Rua São Francisco Xavier, 524, Maracanã, 20550-013 Rio de Janeiro, Brazil

^b Instituto de Botânica, Seção de Ficologia, Av. Miguel Estéfano, 3687, 04301-012 São Paulo, SP, Brazil

^c Universidade Federal Fluminense, Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Marinha, Caixa Postal 100.644, 24001-970 Niterói, RJ, Brazil

Received 15 June 2007; accepted 22 July 2007

Keywords: *Laurencia caduciramulosa*; Rhodophyta; Sesquiterpenes; Chemotaxonomy; Antifouling

1. Subject and source

In continuation to our phytochemical studies of Brazilian red algae of the genus *Laurencia* J.V. Lamouroux (Davyt et al., 2001, 2006; Carvalho et al., 2003, 2006; Da Gama et al., 2003) we focused the present work on the analysis of the chemical constituents from *Laurencia caduciramulosa* Masuda et Kawaguchi in Masuda et al., 1997. The specimens were collected at Ilha Grande Bay, Rio de Janeiro, Brazil: Angra dos Reis, Ilha Grande Island, Lagoa Azul's Island (23°05'06"S, 44°14'28"W), in 29 July 2005 (HRJ 10457, SP 365680) and Piraquara de Fora Cove, Velho's Beach (23°01'12"S, 44°26'12"W), in 19 April 2006 (HRJ 10652, SP 371294). Voucher specimens are deposited in the herbaria of the Universidade do Estado do Rio de Janeiro (HRJ) and Instituto de Botânica, São Paulo, Brazil (SP). The type material of *L. caduciramulosa* provided by the Herbarium of the Hokkaido University was analyzed for morphological comparisons (holotype: SAP 062086, type locality: Hon Tre Island, Tien Hai Islands, Hatien, Kien Giang Province, Vietnam).

2. Previous study

L. caduciramulosa was originally described for Vietnam (Masuda et al., 1997). Its geographical distribution was expanded to Malaysia (Masuda et al., 2001), Mediterranean Sea [Furnari et al., 2001 (Italy); Klein and Verlaque, 2005 (France)], and Indonesia (Liao et al., 2004). Klein and Verlaque (2005) suggested the hypothesis of its recent introduction into the Mediterranean Sea. *L. caduciramulosa* was reported for the first time in the Atlantic Ocean at 10 different sites in Ilha Grande Bay, State of Rio de Janeiro, Brazil by Cassano et al. (2006), when the hypothesis of its

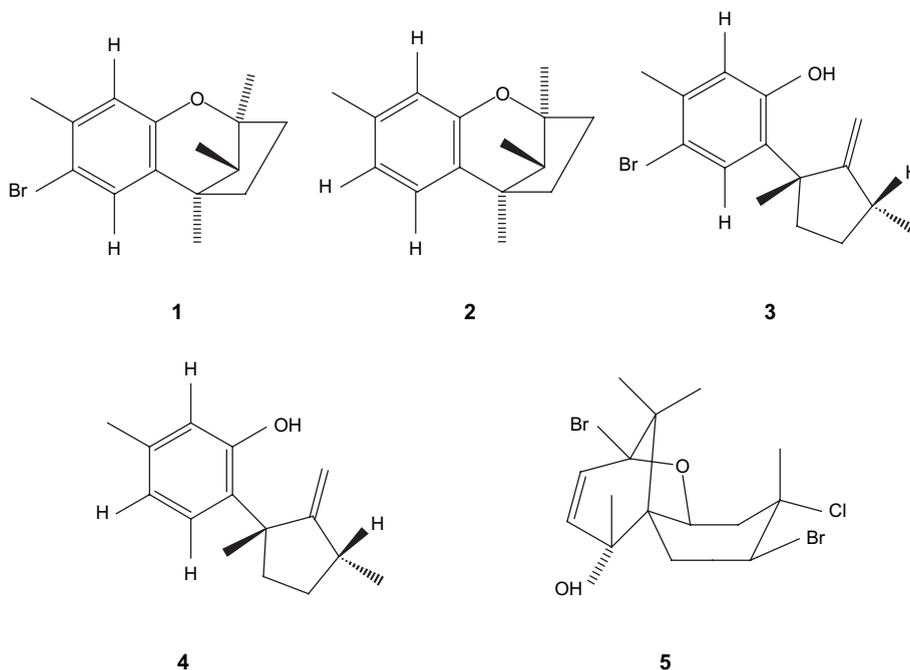
* Corresponding author. Fax: +55 21 2629 2292.

E-mail address: valerialaneuville@gmail.com (V.L. Teixeira).

recent introduction into Brazilian coastal environments was suggested to have occurred through transoceanic shipping transport. Sesquiterpenes are usually the most abundant compounds in *Laurencia* species, followed by acetogenins, diterpenes, and triterpenes (Pereira and Teixeira, 1999). In regard to *L. caduciramulosa* from the type locality, the species was chemically characterized by the following halogenated secondary metabolites: aplysiadiol (diterpene), deoxypracifenol (sesquiterpene), laurenenyne A and B (C₁₅ acetogenins) (Masuda et al., 1997).

3. Present study

Air-dried specimens (32 g for Angra dos Reis, Ilha Grande Island, Lagoa Azul's Island and 50 g for Piraquara de Fora Cove, Velho's Beach) of *L. caduciramulosa* were extracted with CH₂Cl₂ at room temperature, separately, to yield two crude extracts (1 and 2, respectively). Evaporation of the crude extract 1 yielded 191 mg of a brownish residue. The extract 1 was examined by TLC and eluted with 20% EtOAc in CH₂Cl₂. Analytical TLC was performed on Merck Kieselgel GF₂₅₄ layers, and the compounds were detected by spraying with a 2% solution of Ce(SO₄)₂ in 2 N H₂SO₄ followed by heating at 100 °C. The extract 1 was subjected to silica gel-column chromatography (70–230 mesh – Merck), eluted with CH₂Cl₂, EtOAc, and MeOH, resulting in 50 fractions (100 ml each). The second fraction eluted with CH₂Cl₂ presented a 1:1 mixture of two sesquiterpenes. The ¹HNMR spectrum revealed two *para*-disposed aromatic protons at δ 6.51 (s, 1H) and 7.10 (s, 2H), two *ortho*-disposed aromatic protons at δ 6.71 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H) and 7.01 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), aromatic methyl groups at δ 2.27 (s, 3H) and 2.29 (s, 3H), and aliphatic methyl groups at δ 1.36 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.22 (s, 3H), 1.21 (s, 3H), 0.72 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H) and 0.71 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H). The compounds were identified as laurane cyclic ethers (**1** and **2**) by comparison of physical and spectroscopic data with reported values (Gochfeld and Hamann, 2001; Nemoto et al., 1995). These ethers possess a six-membered oxide ring rather than the five-membered ring of the aplysin series. Filiformin (**1**) and debromofiliformin (**2**) can be considered as transformation products of allolaurinterol (**3**) and debromoallolaurinterol (**4**), spontaneously cyclized under acidic conditions (Erickson, 1983). The seventh fraction eluted with CH₂Cl₂ yielded crude pacifenol (**5**). Evaporation of the second crude extract yielded 660 mg of brownish residues then subjected to silica gel-column chromatography (70–230 mesh – Merck) (elution with *n*-hexane, CH₂Cl₂, EtOAc, and MeOH), resulting 93 fractions. The fraction eluted with hexane/CH₂Cl₂ (2:8) yielded pure pacifenol (**5**). Pacifenol was identified by comparison of physical and spectroscopic data with reported values (Argandoña et al., 1993). Compounds **1–4** were observed as minority components of the crude extract.



The crude dichloromethane extract was assayed for its antifouling properties using the mussel *Perna perna* Linnaeus, 1978, as described by Epifanio et al. (2006). The natural concentration of the extract obtained from *L. caduciramulosa* was tested in the laboratory using the ‘mussel test’, a screening method for antifouling substances whose results have been shown to have good reproducibility in more ecologically relevant field experiments (Da Gama et al., 2003 and references therein). Antifouling activity was measured by the property of juvenile mussels producing byssal threads in order to attach to preferred substrata, consisting of water-resistant filter paper circles (9 cm diameter) soaked in solvent alone (control filter) or in a natural concentration of extract (determined as the extract equivalent to the dry weight of organism = DW of filter paper). After 12 h, all records of attachment (three juvenile mussels per petri dish, 10 replicates per treatment) were checked, mussels were placed in mesh bags tagged according to treatment, and suspended in a sea aquarium for 24 h to check for mortality due to exposure to the test substances. After the trials, treated filter papers were taken from dishes, allowed to air dry and then reextracted and applied to a TLC plate for comparison with the original extracts.

4. Chemotaxonomic significance

The species is characteristically small (up to 5 cm high), with a well-developed stolon-like basal system and abundant deciduous branchlets at the upper portion of the erect axes that function as propagules. The five compounds detected from Brazilian specimens of *L. caduciramulosa* are reported for the first time in *Laurencia* species from the Brazilian coast. Only pacifenol has been previously isolated from the Brazilian sea hare *Aplysia dactilomela* Rang, 1828 (Kaiser et al., 2001). The compounds described by Masuda et al. (1997) for *L. caduciramulosa* from Vietnam were not found in Brazilian material. *L. caduciramulosa* from Brazil produces only sesquiterpenes differing from the mixture of sesquiterpenes and diterpenes reported for this species from Vietnam. The analysis of the type material revealed that there are no morphological differences between *L. caduciramulosa* from Brazil and Vietnam. This fact has drawn our attention to a possible mixture of material in *L. caduciramulosa* from Vietnam, since the simultaneous production of sesquiterpenes and diterpenes is an uncommon feature in the *Laurencia* complex.

5. Ecological significance

The results revealed that the crude extract from *L. caduciramulosa* exhibited significant antifouling activity relative to controls with solvent alone (77% inhibition, Fig. 1). This is particularly interesting given that this is an introduced

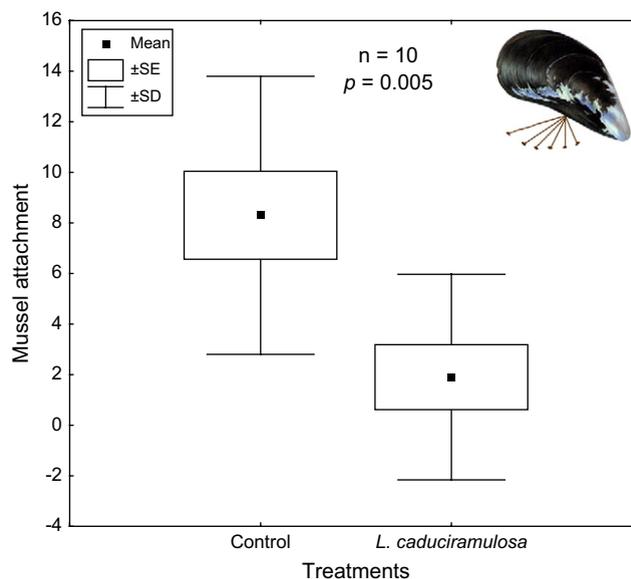


Fig. 1. Mussel attachment (mean number of mussel byssal threads attached \pm standard error – SE, standard deviation – SD) to control and *L. caduciramulosa* treatments. Significant difference indicated is from the Wilcoxon signed ranks test (n = number of replicates per treatment).

species, which could successfully inhibit further colonization of the habitat once established by the production and possibly release of antifouling compounds, whose nature remains to be elucidated.

Acknowledgments

We wish to thank Michio Masuda for the loan of the type specimen. M.T.F., V.L.T. and B.A.P.G. thank CNPq for Research Productivity fellowships. This study was partially supported by CNPq (Proc. 478941/2006-4) and by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) to V.C.

References

- Argandoña, V.H., San-Martín, A., Rovirosa, J., 1993. *Phytochemistry* 32, 1159.
- Carvalho, L.R., Fujii, M.T., Roque, N.F., Lago, J.H.G., 2003. *Tetrahedron Lett.* 44, 2637.
- Carvalho, L.R., Fujii, M.T., Roque, N.F., Lago, J.H.G., 2006. *Phytochemistry* 67, 1331.
- Cassano, V., de Széchy, M.T.M., Fujii, M.T., 2006. *Cryptogam. Algal.* 27, 265.
- Da Gama, B.A.P., Pereira, R.C., Soares, A.R., Teixeira, V.L., Yoneshigue-Valentin, Y., 2003. *Biofouling* 19, 161.
- Davyt, D., Fernandez, R., Suescun, L., Mombrú, A.W., Saldaña, J., Domínguez, L., Fujii, M.T., Manta, E., 2006. *J. Nat. Prod.* 69, 1113.
- Davyt, D., Fernandez, R., Suescun, L., Mombrú, A.W., Saldaña, J., Domínguez, L., Coll, J., Fujii, M.T., Manta, M., 2001. *J. Nat. Prod.* 64, 1552.
- Epifanio, R.A., Da Gama, B.A.P., Pereira, R.C., 2006. *Biochem. Syst. Ecol.* 34, 446.
- Erickson, K.L., 1983. In: Scheuer (Ed.), *Marine Natural Products – Chemical and Biological Perspectives*. Academic Press, New York, p. 131.
- Furnari, G., Cormarci, M., Serio, D., 2001. *Cryptogam. Algal.* 22, 331.
- Gochfeld, D.J., Hamann, M.T., 2001. *J. Nat. Prod.* 64, 1477.
- Kaiser, C.R., Pitombo, L.F., Pinto, A.C., 2001. *Magn. Reson. Chem.* 39, 147.
- Klein, J., Verlaque, M., 2005. *Cryptogam. Algal.* 26, 209.
- Liao, M., Uy, F.A., Heyrosa, N.A., 2004. *Raffles Bull. Zool.* 11, 19.
- Masuda, M., Kawaguchi, S., Takahashi, Y., Matsuo, Y., Suzuki, M., 1997. *Cryptogam. Algal.* 18, 1.
- Masuda, M., Abe, T., Kawaguchi, S., Phang, S.M., 2001. *Bot. Mar.* 44, 467.
- Nemoto, H., Miyata, J., Hakamata, H., Nagamochi, N., Fukumoto, K., 1995. *Tetrahedron* 51, 5511.
- Pereira, R.C., Teixeira, V.L., 1999. *Quím. Nova* 22, 369.

Short communication

***Laurencia caduciramulosa* (Ceramiales, Rhodophyta) from the Canary Islands, Spain: a new record for the eastern Atlantic Ocean**

Valéria Cassano^{1,*}, Maria Candelaria Gil-Rodríguez², Abel Senties³ and Mutue Toyota Fujii⁴

¹ Departamento de Biología Vegetal, Instituto de Biología Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Maracanã, 20550-013 Rio de Janeiro, Brazil, e-mail: valcassano@yahoo.com.br

² Departamento de Biología Vegetal (Botánica), Universidad de La Laguna, 38071 La Laguna, Tenerife, Spain

³ Departamento de Hidrobiología, UAM-Iztapalapa, AP 55-535 Mexico, DF 09340, Mexico

⁴ Seção de Ficologia, Instituto de Botânica, Caixa Postal 3005, 01061-970 São Paulo, Brazil

* Corresponding author

Abstract

Laurencia caduciramulosa is recorded for the first time for the eastern Atlantic Ocean off Tenerife, Canary Islands, Spain. The specimens were collected in 2006, growing epilithically in the lower intertidal zone on moderately exposed rocky shores. This species is characterized by reduced size, a well-developed stolon-like basal system and erect axes with abundant deciduous branchlets that function as propagules, except on the uppermost portions of the branches, where they form crowns of branchlets. As in all other reports of this species, gametangia and sporangia were not observed. This study expands the geographical distribution of *L. caduciramulosa* to the eastern Atlantic Ocean.

Keywords: Atlantic Ocean; Canary Islands; geographical distribution; *Laurencia caduciramulosa*; taxonomy.

Laurencia caduciramulosa Masuda et Kawaguchi in Masuda et al. (1997) has been previously reported from Vietnam (type locality) (Masuda et al. 1997), Malaysia (Masuda et al. 2001), the Mediterranean Sea: Italy (Furnari et al. 2001, Gómez Garreta et al. 2001, Serio et al. 2006), France (Klein and Verlaque 2005), Greece (Tsirika and Haritonidis 2005), Indonesia (Liao et al. 2004) and Brazil (Cassano et al. 2006, 2007). Klein and Verlaque (2005) and Cassano et al. (2006) suggested recent intro-

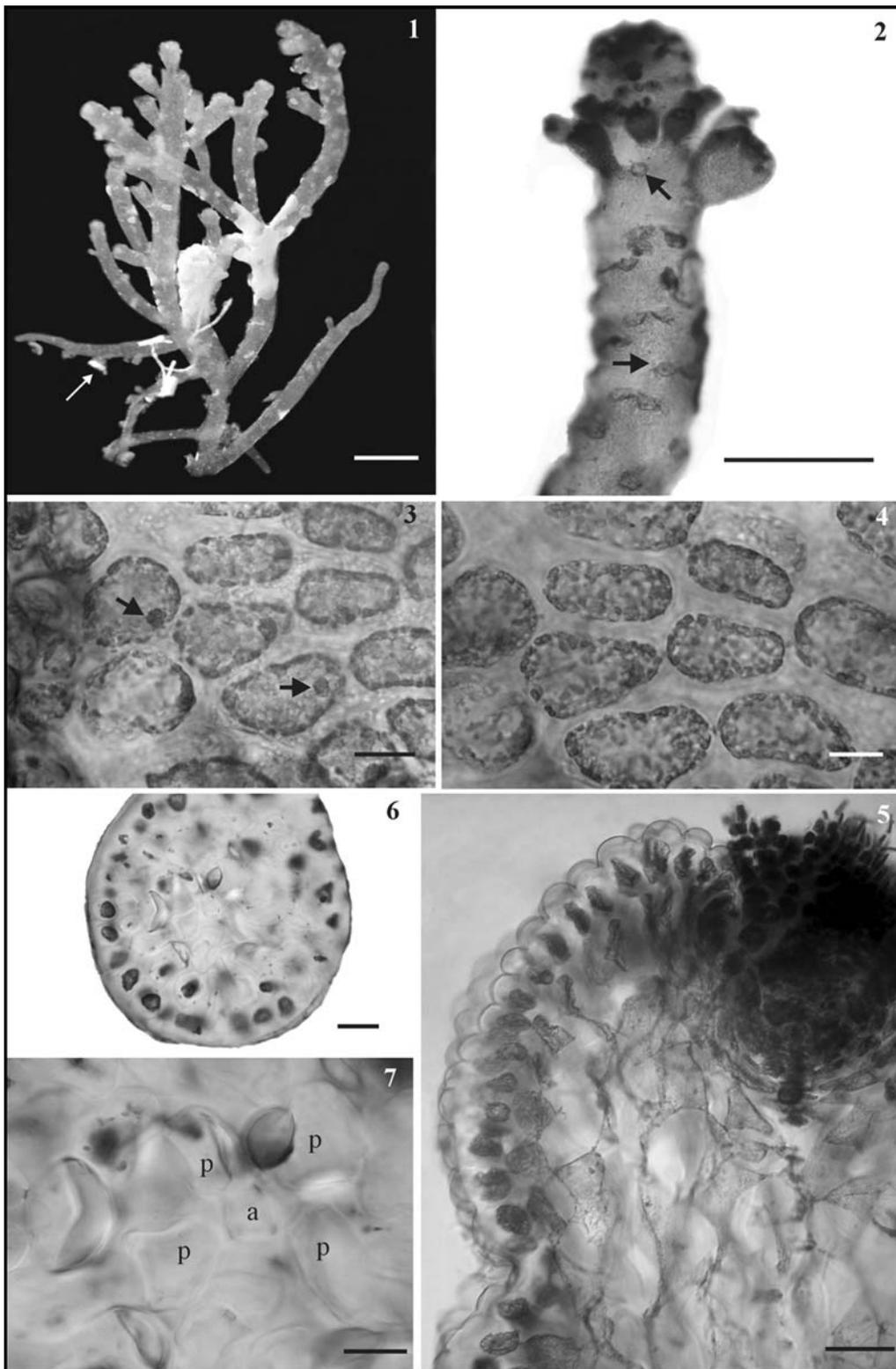
duction into the Mediterranean Sea and Brazil by transoceanic shipping and/or fouling, respectively.

We provide a report for the first time on the presence of *Laurencia caduciramulosa* in the eastern Atlantic Ocean off Tenerife, Canary Islands, Spain.

Transverse hand-sections were made from specimens fixed in 4% formalin solution with a stainless steel razor blade and stained with 0.5% aqueous aniline blue solution acidified with 1 N HCl (Tsuda and Abbott 1985). Photomicrographs were taken with a Sony W5 digital camera (Tokyo, Japan) coupled to a Nikon Eclipse E200 microscope (Tokyo, Japan). The holotype specimen of *Laurencia caduciramulosa* was received on loan from SAP. Voucher specimens are deposited in herbaria TFC, HRJ and SP. Herbarium abbreviations follow the online *Index Herbariorum* (<http://www.nybg.org/bsci/ih/ih.html>).

Examined material was from Spain, Canary Islands, Tenerife, Punta del Hidalgo, on 12 July 2006, leg. M.T. Fujii, A. Senties and M.C. Gil-Rodríguez (TFC Phyc 13205, SP 371.799, HRJ 10983). Additional material examined, *Laurencia caduciramulosa* (holotype SAP 062086), was from Hon Tre Island, Tien Hai Islands, Hatien, Kien Giang Province, Vietnam, on 7 February 1993, leg. M. Masuda and S. Kawaguchi.

The plants were epilithic, soft in texture, forming garnet-brown, cushion-like tufts, up to 5 mm high. Several erect axes arising from a discoid holdfast and from well-developed stolon-like branches attached to substrata by secondary and smaller discoid holdfasts (Figure 1). Erect axes are terete throughout, sparsely branched, mainly in the lower portions of the thalli, with few long first-order branches. Anastomoses between branches are frequent. The main axes measure 384–608 μm in diameter in the mid-portions of the thalli. Branching is irregularly alternate and spirally arranged, usually with 2–3 (–4) orders of branches. The ultimate branchlets are clavate and deciduous, detaching easily from the branches and leaving many scars, except at the uppermost portions of the branches, where they can form crowns of branchlets (Figure 2). These branchlets are basally constricted, 128–520 μm long and 95–384 μm in diameter at the tips. In surface view, epidermal cells are longitudinally elongate in the mid-portions, measuring 37.5–95 μm long and 22.5–40 μm wide, with one *corp en cerise* per cell (Figure 3). Epidermal cells are secondarily pit-connected (Figure 4) and projecting near branch apices (Figure 5). In transverse section, epidermal cells are 17.5–37.5 μm long and 22.5–37.5 μm wide, and medullary cells are 40–105 μm long and 30–75 μm wide, with abundant lenticular thickenings (Figure 6). Pericentral cells number four per vegetative axial segment (Figure 7). Neither gametangia nor sporangia were observed.



Figures 1–7 *Laurencia caduciramulosa* from the Canary Islands.

(1) Habit of a plant. Note the stolon-like branch with smaller discoid holdfasts (arrow). (2) Upper portion of main branch with small deciduous branchlets forming a crown near the apex and scars of shed branchlets (arrows). (3) Epidermal cells (in preserved material) in surface view, showing single *corp en cerise* per cell (arrows). (4) Epidermal cells in surface view of the middle portion of a branch with longitudinally oriented secondary pit connections. (5) Longitudinal section of a branch showing projected epidermal cells. (6) Transverse section of the middle portion of a branch with lenticular thickenings in the walls of medullary cells. (7) Detail of the upper portion of a branch with an axial cell (a) with four pericentral cells (p). Scale bars: 1 mm in Figure 1; 500 μm in Figure 2; 25 μm in Figures 3–4; 50 μm in Figure 5; 20 μm in Figures 6–7.

The species lives in the lower intertidal zone associated with turfs of articulated Corallinaceae, at moderately exposed sites.

Specimens are in agreement with the holotype (examined) and descriptions given by Masuda et al. (1997, 2001), Furnari et al. (2001), Klein and Verlaque (2005) and Cassano et al. (2006). As in all previous reports of *Laurencia caduciramulosa*, reproductive structures (gametangia and/or sporangia) were not found in the Canarian specimens. According to Cassano et al. (2006), such reproductive structures seem to be efficiently replaced by the vegetative propagules formed by the deciduous branchlets. The occurrence of these propagules is likely important for the dispersal of *L. caduciramulosa*, which has undergone recent geographical expansion.

With increases in transoceanic shipping and, in particular, on shipping routes between the Canary Islands and the Mediterranean Sea (where *Laurencia caduciramulosa* is regarded as an introduced species), it is reasonable to propose transmission by ocean-going vessels from the Mediterranean Sea to the Canaries. However, considering the small size and the very low abundance of *L. caduciramulosa* in the Canaries, it is difficult to determine whether this is a recent introduction, as the species may have been overlooked in the past. Further collecting should be made to determine whether *L. caduciramulosa* is spreading to other sites in the Canary Islands.

The species was originally an element of the tropical Indo-Pacific flora and has since then been reported in the Atlantic Ocean north and south of the equator. Serio et al. (2006) observed an increased proportion of tropical Indo-Pacific elements off Linosa Island in the Mediterranean Sea, among them *Laurencia caduciramulosa*. It is possible that these floristic changes relate to global warming.

Acknowledgements

We wish to thank Michio Masuda for the loan of the type specimen of *L. caduciramulosa* and Michael Wynne for the critical revision of the manuscript and for improving the English. This study was supported partly by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) to the first author, by the Ministry of Education and Sciences of the Spanish

Government (CGL 2007-60635/BOS) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). M.T.F. thanks CNPq for a Research Productivity Fellowship (Proc. 308426/2006-1).

References

- Cassano, V., M.T.M. de Széchy and M.T. Fujii. 2006. *Laurencia caduciramulosa* (Ceramiales, Rhodophyta) from Ilha Grande Bay, Rio de Janeiro, Brazil: a recently introduced species into the Atlantic Ocean? *Cryptogam. Algol.* 27: 265–277.
- Cassano, V., J.C. De-Paula, M.T. Fujii, B.A.P. Da Gama and V.L. Teixeira. 2007. Sesquiterpenes from the introduced red seaweed *Laurencia caduciramulosa* (Rhodomelaceae, Ceramiales). *Biochem. Syst. Ecol.* 36: 223–226.
- Furnari, G., M. Cormaci and D. Serio. 2001. The *Laurencia* complex (Rhodophyta, Rhodomelaceae) in the Mediterranean Sea: an overview. *Cryptogam. Algol.* 22: 331–373.
- Gómez Garreta, A., T. Gallardo, M.A. Ribera, M. Cormaci, G. Furnari, G. Giaccone and C.-F. Boudouresque. 2001. Checklist of the Mediterranean seaweeds. III. Rhodophyceae Rabenh. 1. Ceramiales Oltm. *Bot. Mar.* 44: 425–460.
- Klein, J. and M. Verlaque. 2005. *Laurencia caduciramulosa* Masuda et Kawaguchi (Ceramiales, Rhodophyta), first record on the Mediterranean coast of France. *Cryptogam. Algol.* 26: 209–216.
- Liao, M., F.A. Uy and N.A. Heyrosa. 2004. Macrobenthic marine algae and seagrasses of the Anambas Expedition 2002. *Raffles Bull. Zool. Suppl.* 11: 19–23.
- Masuda, M., S. Kawaguchi, Y. Takahashi, Y. Matsuo and M. Suzuki. 1997. A taxonomic study of the genus *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta) from Vietnam. I. *Laurencia caduciramulosa* Masuda et Kawaguchi, sp. nov. *Cryptogam. Algol.* 18: 1–10.
- Masuda, M., T. Abe, S. Kawaguchi and S.M. Phang. 2001. Taxonomic notes on marine algae from Malaysia. VI. Five species of Ceramiales (Rhodophyta). *Bot. Mar.* 44: 467–477.
- Serio, D., G. Alongi, M. Catra, M. Cormaci and G. Furnari. 2006. Changes in the benthic algal flora of Linosa Island (Straits of Sicily, Mediterranean Sea). *Bot. Mar.* 49: 135–144.
- Tsirika, A. and S. Haritonidis. 2005. A survey of the benthic flora in the National Marine Park of Zakynthos (Greece). *Bot. Mar.* 48: 38–45.
- Tsuda, R.T. and I.A. Abbott. 1985. Collecting, handling, preservation, and logistics. In: (M.M. Littler and D.S. Littler, eds) *Handbook of phycological methods, Vol. IV. Ecological field methods: macroalgae*. Cambridge University Press, Cambridge/New York. pp. 67–86.

Received 1 October, 2007; accepted 18 March, 2008

Evidence for the conspecificity of *Palisada papillosa* with *P. perforata* (Ceramiales, Rhodophyta) from the western and eastern Atlantic Ocean on the basis of morphological and molecular analyses

VALÉRIA CASSANO^{1*}, JHOANA DÍAZ-LARREA², ABEL SENTÍES², MARIANA C. OLIVEIRA³, M. CANDELARIA GIL-RODRÍGUEZ⁴ AND MUTUE T. FUJII⁵

¹*Departamento de Biologia Vegetal, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rua São Francisco Xavier 524, Maracanã, Rio de Janeiro 20550-013, Brazil*

²*Departamento de Hidrobiología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, AP. 55-535, Mexico D.F. 09340, Mexico*

³*Departamento de Botânica, Universidade de São Paulo, Rua do Matão 277, São Paulo 05508-900, Brazil*

⁴*Departamento de Biología Vegetal (Botánica), Universidad de La Laguna, Canary Islands, Spain*

⁵*Seção Ficologia, Instituto de Botânica, Av. Miguel Estéfano, 3687, 04301-902 São Paulo, Brazil*

V. CASSANO, J. DÍAZ-LARREA, A. SENTÍES, M.C. OLIVEIRA, M. CANDELARIA GIL-RODRÍGUEZ AND M.T. FUJII. 2009. Evidence for the conspecificity of *Palisada papillosa* with *P. perforata* (Ceramiales, Rhodophyta) from the western and eastern Atlantic Ocean on the basis of morphological and molecular analyses. *Phycologia* 48: 86–100. DOI: 10.2216/08-22.1.

Morphological and molecular studies were carried out on *Palisada papillosa* and *P. perforata* from the Canary Islands (type locality of *P. perforata*), Mexico and Brazil. The two species have been distinguished by features of their external morphology such as size and degree of compactness of the thalli, presence or absence of arcuate branches, branching pattern and basal system. A detailed morphological comparison between these taxa showed that none of the vegetative anatomical or reproductive characters was sufficient to separate these species. The presence or absence of cortical cells in a palisade-like arrangement, also previously used to distinguish these species, is not applicable. The species present all characters typical of the genus, and both share production of the first pericentral cell underneath the basal cell of the trichoblast, production of two fertile pericentral cells (the second and the third additional, the first remaining sterile), spermatangial branches produced from one of two laterals on the suprabaasal cell of trichoblasts, and the procarp-bearing segment with four pericentral cells. Details of the procarp are described for the species for the first time. The phylogenetic position of these species was inferred by analysis of the chloroplast-encoded *rbcL* gene sequences from 39 taxa, using one other Rhodomelacean taxon and two Ceramiaceae as outgroups. Relationships within the clade formed by *P. papillosa* and *P. perforata* have not been resolved due to the low level of genetic variation in their *rbcL* sequences (0–0.4%). Considering this and the morphological similarities, we conclude that *P. papillosa* is a taxonomic synonym of *P. perforata*. The phylogenetic analyses also supported the nomenclatural transfer of two species of *Chondrophycus* to *Palisada*, namely, *P. patentiramea* (Montagne) Cassano, Senties, Gil-Rodríguez & M.T. Fujii comb. nov. and *P. thuyoides* (Kützinger) Cassano, Senties, Gil-Rodríguez & M.T. Fujii comb. nov.

KEY WORDS: *Palisada papillosa*, *P. perforata*, Phylogeny, *rbcL*, Rhodomelaceae, Taxonomy

INTRODUCTION

In recent years, the taxonomy of the *Laurencia* J.V. Lamouroux complex has undergone several changes initiated by the use of new characters and cladistic analyses to segregate genera, subgenera and sections (Garbary & Harper 1998; Nam 1999, 2006, 2007; Nam & Saito 1995). These changes include the resurrection of *Osmundea* Stackhouse (Nam *et al.* 1994), the elevation of Tokida and Saito's subgenus *Chondrophycus* (*in* Saito 1967) to generic rank (Garbary & Harper 1998), the proposal of the genus *Palisada* K.W. Nam based on Yamada's (1931) section *Palisadae* (Nam 2006) and its later validation (Nam 2007). Therefore, the *Laurencia* complex is currently divided into four genera: *Laurencia sensu stricto*, *Osmundea*, *Chondrophycus* and *Palisada*. Molecular phylogenies have been used to clarify the relationships within the complex

and have corroborated its current classification system (Nam *et al.* 2000; McIvor *et al.* 2002; Abe *et al.* 2006; Fujii *et al.* 2006; Díaz-Larrea *et al.* 2007; Lewis *et al.* 2008).

The taxonomic status of *Palisada perforata* (Bory) K.W. Nam and *P. papillosa* (C. Agardh) K.W. Nam was established by Nam (2006, 2007). These species are closely related and morphologically similar, being distinguished by their external morphology. *Palisada perforata* forms strongly compacted turf-like mats attached by a discoid holdfast and arcuate and decumbent branches unilaterally ramified with secondary attachments at their apices. *Palisada papillosa* possesses taller thalli with branches radially ramified, and is attached by a discoid holdfast and stolon-like branches (Haroun & Gil-Rodríguez 1995; Masuda *et al.* 1998; Fujii & Senties 2005; Wynne *et al.* 2005). In addition to size of mature thalli, Nam (2006) utilized the character of presence of a palisade-like arrangement of cortical cells in *P. perforata* and its absence in *P. papillosa* to segregate the species.

* Corresponding author (valcassano@yahoo.com.br).

In this study, arguments for the conspecificity of *P. papillosa* with *P. perforata* are presented and discussed based on morphological characters and chloroplast-encoded *rbcL* gene sequences. The phylogenetic analysis also supported the transfer of *Chondrophyucus patentirameus* (Montagne) K.W. Nam and *C. thuyoides* (Kützinger) G. Furnari to the genus *Palisada*.

MATERIAL AND METHODS

Samples of *Palisada perforata* and *P. papillosa* were collected from Spain (Canary Islands), Atlantic Mexico and Brazil. Voucher specimens and material for morphological study were fixed in 4% formalin/seawater or pressed as herbarium sheets. Transverse and longitudinal hand sections were made with a stainless-steel razor blade and stained with 0.5% aqueous aniline blue solution, acidified with 1N HCl (Tsuda & Abbott 1985). Living specimens were also examined to check for presence of *corps en cerise*. Vouchers are deposited in HRJ, SP, UAMIZ and TFC Phyc. For comparison purposes, additional specimens provided by the National Herbarium Netherlands, Leiden University branch (L); from the Herbarium of the Department of Botany, University of Catania, Italy (CAT-Sectio Algae); and from the Botanical Museum Herbarium, Lund, Sweden (LD) were analyzed. Line drawings were prepared using a camera lucida mounted on a Nikon Eclipse E200 microscope (Tokyo, Japan), and photomicrographs were taken with a Sony W5 digital camera (Tokyo, Japan) coupled to a Nikon microscope. Herbarium abbreviations follow the online *Index Herbariorum* (<http://www.nybg.org/bsci/ih/ih.html>). Samples used for molecular analysis were dried in silica gel.

Total DNA was extracted, after grinding in liquid nitrogen, using the Dneasy Plant Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA) following the manufacturer's instructions. A total of 1467 base pairs of the *rbcL* gene were amplified in three overlapping parts with the primers pairs: FrbcLstart × R753, F577 × R1150 and F753 × RrbcS (Freshwater & Rueness 1994) using the master mix of the Bioneer (Daedeok-Gu, Daejeon, Korea) Premix. All PCR products were analyzed by electrophoresis in 1% agarose to check product size. The PCR products were purified with the Qiagen QIAquick Purification Kit in accordance with the manufacturer's instructions.

Sequencing was carried out with the BigDye Terminator Cycle Sequencing Reaction Kit (Applied Biosystems, NJ, USA) on an ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). The primers used for the sequencing were those used for the PCR amplification. The full sequence was obtained from both DNA strands. The analysis of the sequences was done with the computer program Sequence Navigator (Applied Biosystems) and aligned with the CLUSTAL algorithm (Thompson *et al.* 1994). The specimens sequenced in this study, plus the other available sequences used in phylogenetic analysis, are shown in Table 1, including their GenBank accession numbers (NCBI GenBank 2003).

Phylogenetic relationships were inferred with PAUP 4.0b10 (Swofford 2002) and MrBayes v.3.0 beta 4

(Huelsenbeck & Ronquist 2001). Maximum-parsimony trees (MP) were constructed using the heuristic search option, tree-bisection-reconnection branch swapping, unordered and unweighted characters, and gaps treated as missing data. Branch length was optimized using delayed transformation (DELTRAN), which favors parallelisms over reversals. Support values for the relationships discovered in each analyses were calculated by performing bootstrap analyses (Felsenstein 1985), as implemented in PAUP. Ten thousand heuristic search replicates were executed using the TBR branch-swapping algorithm. Consistency (CI), homoplasy (HI) and retention (RI) indexes were computed to evaluate the level of homoplasy in the most parsimonious tree. The model used in the Bayesian analysis was the general-time-reversible model of nucleotide substitution with invariant sites and gamma-distributed rates for the variable sites (GTR+I+G). This model was selected based on maximum likelihood ratio tests implemented by the software Modeltest version 3.06 (Posada & Crandall 1998) with a significance level of 0.01. For the Bayesian analysis, we ran four chains of the Markov chain Monte Carlo (one hot and three cold), sampling one tree every 10 generations for 1,000,000 generations starting with a random tree. The 17,680 generations were discarded as 'burn in'. A 50% consensus tree (majority rule as implemented by PAUP) was computed after the 'burn in' point. The range of *rbcL* divergence values within and among species was calculated using uncorrected 'p' distances using PAUP.

RESULTS

Morphological analyses

Palisada perforata (Bory) K.W. Nam (2007, 54)

Figs 1–27

BASIONYM: *Fucus perforatus* Bory (1803, 505, pl. 5 fig. 1).

HOLOTYPE: PC!

TYPE LOCALITY: Tenerife, Canary Islands, Spain.

NOMENCLATORIAL SYNONYMS: *Laurencia perforata* (Bory) Montagne (1840, 155); *Chondrophyucus perforatus* (Bory) K.W. Nam (1999, 463); *Fucus papillosus* Forsskål (1775, 190), *nom. illeg.* (later homonym of *Fucus papillosus* S.G. Gmelin 1768); *Chondria papillosa* C. Agardh (1822, 344); *Laurencia papillosa* (C. Agardh) Greville (1830, lii); *Chondrophyucus papillosus* (C. Agardh) Garbary & J.T. Harper (1998, 195); *Palisada papillosa* (C. Agardh) K.W. Nam (2007, 54).

HABIT: Plants forming strongly compacted turf-like mats, up to 5 cm high, or isolated tufts, up to 10 cm high, violet-brown or greenish brown in color, terete, rigid, cartilaginous in texture, not adhering to herbarium paper when dried (Figs 1–8). Thalli attached to the substratum by a discoid holdfast from which arise arcuate and decumbent branches, 0.5–1.4 mm in diameter, and secondarily attached by rhizoids or smaller discoid holdfasts (Fig. 9). Stolon-like branches can be produced from the lower

Table 1. Species used in this study for phylogenetic analysis.

Species	Collection data/reference	GenBank accession numbers	Percentage of the <i>rbcL</i> gene sequenced
<i>Bostrychia radicans</i> (Montagne) Montagne in Orbigny	USA, Mississippi, St. Louis Bay, leg. C.F.D. Gurgel, 11 Feb. 1998 (Lin <i>et al.</i> 2001)	AF259497	90
<i>Centroceras</i> sp. (as <i>C. clavulatum</i>) (C. Agardh in Kunth) Montagne in Durieu de Maisonneuve	USA, Texas, Port Aransas, Redfish Bay, leg. S. Fredericq & C.F.D. Gurgel, 18 May 1998 (Lin <i>et al.</i> 2001)	AF259490	97
<i>Ceranium brevizonatum</i> H.E. Petersen	Mexico, Yucatán, Campeche Bay, Laguna de Yulcapeten, leg. C.F.D. Gurgel, 12 Feb. 1998 (Lin <i>et al.</i> 2001)	AF259491	97.2
<i>Laurencia filiformis</i> (C. Agardh) Montagne (as <i>L. arbuscula</i> Sonder)	Brazil, São Paulo, Ubatuba, Ilha das Couves, leg. M.T. Fujii, 31 Aug. 2000 (Fujii <i>et al.</i> 2006)	AF465810	95.6
<i>L. cf. brongniartii</i>	Taiwan, Makang Harbour, leg. S. Fredericq, 11 Jul. 1993 (Fujii <i>et al.</i> 2006)	AF465814	95.6
<i>L. complanata</i> (Suhr) Kützing	South Africa, KwaZulu-Natal, Port Edward, leg. S. Fredericq & O. De Clerck, 8 Jul. 2001 (Fujii <i>et al.</i> 2006)	AF465813	97.7
<i>L. intricata</i> J.V. Lamouroux	Mexico, Yucatán, Campeche Bay, leg. C.F.D. Gurgel, 14 Feb. 1999 (Fujii <i>et al.</i> 2006)	AF465809	96.9
<i>L. intricata</i>	Mexico, Quintana Roo, Puerto Morelos, Ojo de Agua, leg. J. Díaz-Larrea & A. Senties, 16 Apr. 2004, UAMIZ 1008 (this study)	EF658644	99.8
<i>L. natalensis</i> Kylin	South Africa, KwaZulu-Natal, Palm Beach, leg. S. Fredericq, 7 Feb. 2001 (Fujii <i>et al.</i> 2006)	AF465816	100
<i>L. obtusa</i> (Hudson) J.V. Lamouroux	Ireland, County Donegal, Fanad Head (McIvor <i>et al.</i> 2002)	AF281881	84.7
<i>L. translucida</i> M.T. Fujii & Cordeiro-Marino	Brazil, Espírito Santo, Marataizes, leg. M.T. Fujii, 15 Sep. 2001 (Fujii <i>et al.</i> 2006)	AY588408	98.9
<i>Palisada corallopsis</i> (Montagne) Senties, M.T. Fujii & Díaz-Larrea	Mexico, Quintana Roo, Cancún, Chaac-Mol Beach, leg. J. Díaz-Larrea & A. Senties, 21 Aug. 2005 (Díaz-Larrea <i>et al.</i> 2007)	EF061646	98.6
<i>P. flagellifera</i> (C. Agardh) K.W. Nam	Brazil, Espírito Santo, Marataizes, leg. M.T. Fujii, 15 Sep. 2001 (Díaz-Larrea <i>et al.</i> 2007)	EF061647	98.6
<i>P. papillosa</i> (C. Agardh) K.W. Nam	Spain, Canary Islands, Tenerife, Playa Paraíso, leg. M.C. Gil-Rodríguez, A. Senties & M.T. Fujii, 14 Jul. 2006, TFC Phyc 13134 (this study)	EU256325	100
<i>P. papillosa</i>	Brazil, Rio de Janeiro, Rio das Ostras, Areias Negras, leg. V. Cassano & M.B. Barros-Barreto, 3 Aug. 2005, HRJ 10838 (this study)	EU256326	100
<i>P. papillosa</i>	Mexico, Baja California, Todos Santos, leg. S. Fredericq, 24 Oct. 1999 (Fujii <i>et al.</i> 2006)	AY588409	99.1
<i>P. papillosa</i>	Brazil, São Paulo, Ubatuba, Praia do Lamberto, leg. M.T. Fujii, 31 Aug. 2000 (Fujii <i>et al.</i> 2006)	AF465806	99.1
<i>P. papillosa</i>	Mexico, Quintana Roo, Puerto Morelos, CRIP, leg. J. Díaz-Larrea & A. Senties, 16 Apr. 2004 (Díaz-Larrea <i>et al.</i> 2007)	EF061651	100
<i>P. papillosa</i>	USA, Florida, Old Dan's Reef., leg. S. Fredericq, 8 Apr. 1988 (Fujii <i>et al.</i> 2006)	AF465807	96.7
<i>P. patentiramea</i> (Montagne) Cassano, Senties, Gil- Rodríguez & M.T. Fujii comb. nov.	Philippines (Lluisma, unpublished)	AF489862	89
<i>P. perforata</i> (Bory) K.W. Nam	Mexico, Quintana Roo, Cancún, Isla Mujeres, leg. A Senties & M.C. Gil-Rodríguez, 2 Mar. 2007, UAMIZ 1041 (this study)	EF658641	100
<i>P. perforata</i>	Spain, Canary Islands, Tenerife, Pta del Hidalgo, Faro, Bahía izquierda, leg. M.C. Gil-Rodríguez, 6 Oct. 2005, TFC Phyc 13068 (this study)	EU256327	100
<i>P. perforata</i>	Spain, Canary Islands, Tenerife, Pta del Hidalgo, Faro, Bahía izquierda, leg. M.C. Gil-Rodríguez, 6 Oct. 2005, TFC Phyc 13072 (this study)	EU256328	100
<i>P. perforata</i>	Spain, Canary Islands, Tenerife, San Telmo, Pto de la Cruz, leg. M.C. Gil-Rodríguez, A. Senties & M.T. Fujii, 14 Jul. 2006, TFC Phyc 13132 (this study)	EU256329	100
<i>P. perforata</i>	Brazil, Rio de Janeiro, Rio das Ostras, Areias Negras, leg. V. Cassano & M.B. Barros-Barreto, 3 Aug. 2005, HRJ 10839 (this study)	EU256330	100
<i>P. perforata</i>	Brazil, Rio de Janeiro, Parati, Praia Vermelha, leg. V. Cassano, 30 Dec. 2005, HRJ 10840 (this study)	EU256331	100
<i>Palisada poiteaui</i> (J.V. Lamouroux) K.W. Nam var. <i>gemmifera</i> (Harvey) Senties, M.T. Fujii & Díaz-Larrea	Mexico, Quintana Roo, Puerto Morelos, Ojo de Agua, leg. J. Díaz-Larrea & A. Senties, 16 Apr. 2004 (Díaz-Larrea <i>et al.</i> 2007)	EF061648	96.5
<i>P. poiteaui</i> var. <i>gemmifera</i>	Mexico, Quintana Roo, Playa del Carmen, leg. J. Díaz-Larrea & A. Senties, 17 Apr. 2004 (Díaz-Larrea <i>et al.</i> 2007)	EF061649	100

Table 1. Continued

Species	Collection data/reference	GenBank accession numbers	Percentage of the <i>rbcL</i> gene sequenced
<i>P. poiteaui</i> var. <i>gemmifera</i>	Cuba, La Havana, Rincon de Guanabo, leg. J. Díaz-Larrea & A. A. Mallea, 29 Jul. 2005 (Díaz-Larrea <i>et al.</i> 2007)	EF061650	98.6
<i>P. poiteaui</i> (J.V. Lamour.) K.W. Nam var. <i>poiteaui</i>	USA, Florida, Long Key, Ocean Side, leg. S. Fredericq (Díaz-Larrea <i>et al.</i> 2007)	EF061652	100
<i>P. poiteaui</i> var. <i>poiteaui</i>	Mexico, Quintana Roo, Playa del Carmen, leg. J. Díaz-Larrea & A. Senties, 15 Mar. 2005 (Díaz-Larrea <i>et al.</i> 2007)	EF061653	100
<i>P. thuyoides</i> (Kützinger) Cassano, Senties, Gil-Rodríguez & M.T. Fujii comb. nov.	Philippines (Lluisma, unpublished)	AF489863	95
<i>Palisada</i> sp.	Spain, Canary Islands, Tenerife, Playa Paraíso, leg. M.C. Gil-Rodríguez, A. Senties & M.T. Fujii, 14 Jul. 2006 (Gil-Rodríguez <i>et al.</i> unpublished)	EF685998	98.2
<i>Osmundea osmunda</i> (S.G. Gmelin) K.W. Nam	Ireland, County Donegal, St. John's Point (McIvor <i>et al.</i> 2002)	AF281877	84.8
<i>O. pinnatifida</i> (Hudson) Stackhouse	Ireland, County Donegal, St. John's Point (McIvor <i>et al.</i> 2002)	AF281875	84.8
<i>O. pinnatifida</i>	France, Brittany, Penmarch (Lin <i>et al.</i> 2001)	AF259495	97
<i>O. pinnatifida</i>	Spain, Canary Islands, Tenerife, San Telmo, Pto. de la Cruz, leg. M.C. Gil-Rodríguez, 7 Oct. 2005, TFC Phyc 13077 (this study)	EF686005	98.9
<i>O. spechabilis</i> (Postels & Ruprecht) K.W. Nam var. <i>spectabilis</i>	Mexico, Baja California, Pta Santo Thomas (McIvor <i>et al.</i> 2002)	AY172574	82.9
<i>O. truncata</i> (Kützinger) K.W. Nam & Maggs	Ireland, County Cork, Lough Hyne (McIvor <i>et al.</i> 2002)	AF281879	84.8

portion of axes (Fig. 10). Erect branches unilaterally disposed or irregularly alternate and spirally arranged, usually with 2–3 (–4) orders of branches, measuring 0.8–1.6 mm in diameter at the middle portions of the thalli. Erect branches densely placed at the uppermost portions with numerous wart-like ultimate branchlets. Ultimate branchlets cylindrical or clavate to papillate, 0.8–3.6 mm long and 0.4–1.1 mm in diameter.

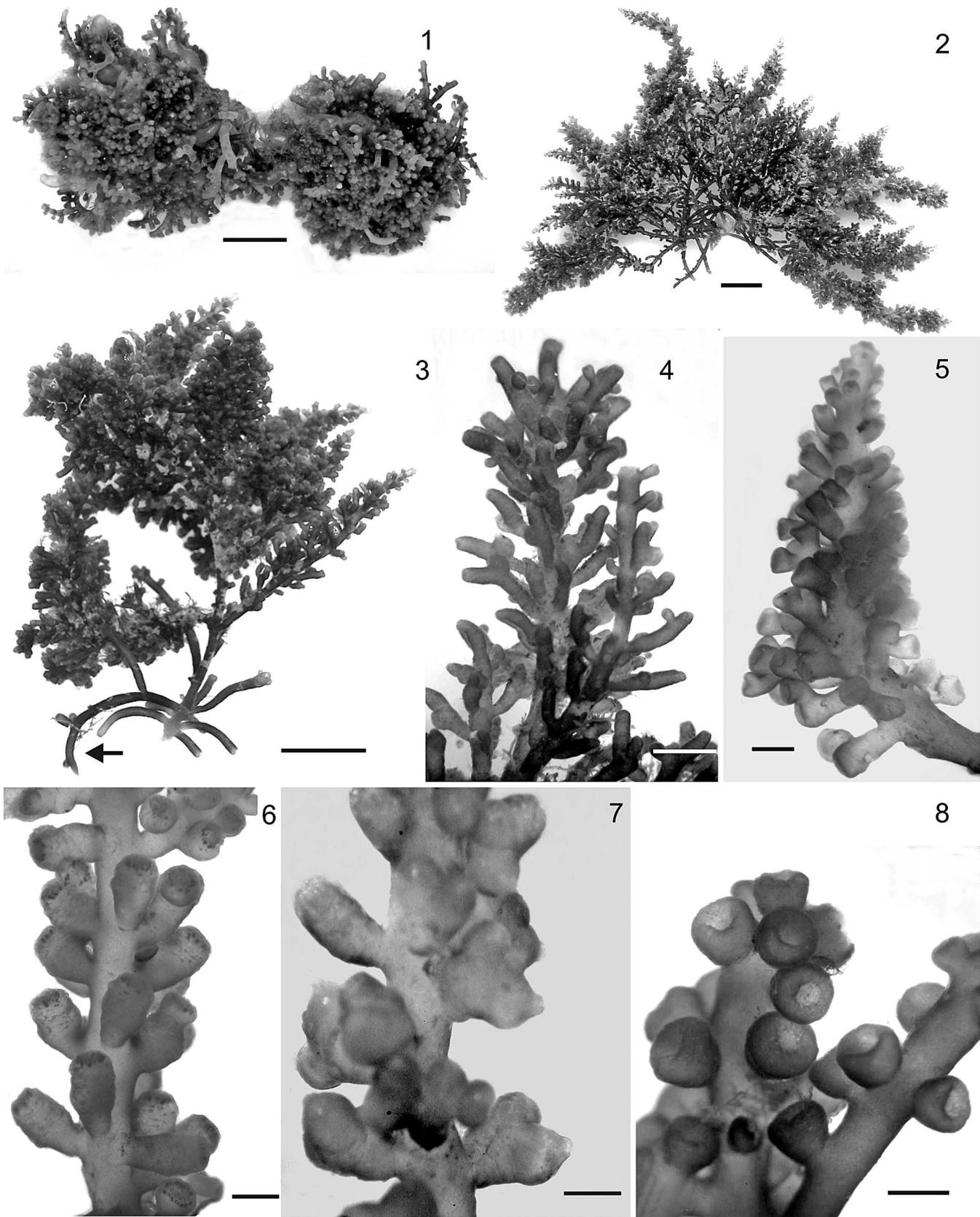
VEGETATIVE STRUCTURES: In surface view, cortical cells are regularly arranged throughout the thalli, slightly radially elongated in the upper portions, isodiametric-polygonal in the middle portions, 17.5–52.5 µm long and 15–47.5 µm wide, and elongate-polygonal in the lower portions. Secondary pit connections between cortical cells absent (Fig. 11). *Corps en cerise* absent. In transverse section, thalli with one or two layers of pigmented cortical cells; surface cortical cells quadratic to radially elongated and arranged as palisade, 20–45 µm long and 12.5–32.5 µm wide in the middle portions of the main axes (Figs 12, 13–16). Palisade-like arrangement may be lacking in the ultimate branchlets. Medullary region with four or five layers of colorless cells, rounded or slightly radially elongated, 50–155 µm long and 40–122.5 µm wide in the middle portions of the main axes. Medullary cells walls uniformly thickened, but lenticular thickenings are absent. Each vegetative axial segment cuts off two pericentral cells (Fig. 17); the first pericentral cell is produced underneath the basal cell of the trichoblast (Fig. 18). In median longitudinal section through a branchlet, outer cortical cells walls near apices not projecting beyond the surface.

REPRODUCTIVE STRUCTURES: Tetrasporangial branchlets are cylindrical or papillate, simple or compound, 0.7–3.0 mm long and 0.6–1.2 mm in diameter (Fig. 6). At the

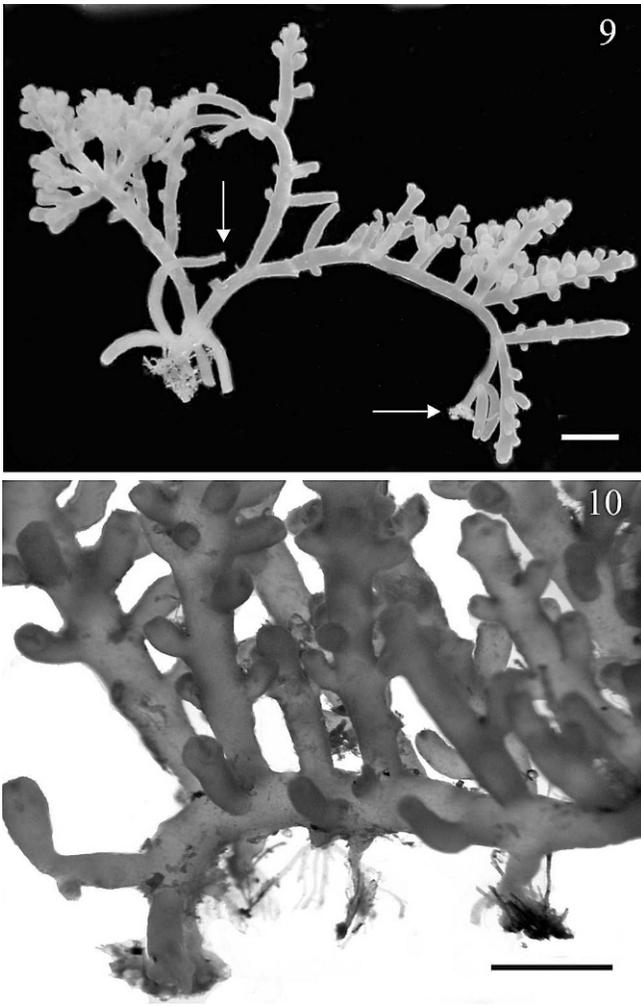
apex of fertile branches, each axial segment produces one additional pericentral cell situated oppositely to the position to the existing two normal pericentral cells. The third additional and the second pericentral cells become fertile and the first pericentral cell remains vegetative (Figs 19, 20). The second and third fertile pericentral cells cut off two presporangial cover cells distally and abaxially the tetrasporangial initial (Fig. 21). Subsequently, one postsporangial cover cell is produced and continues dividing and contributes to produce cortication around the tetrasporangium. The presporangial cover cells do not divide and display a transverse-type alignment in relation to the fertile axis in surface view. Tetrasporangial maturation is in a clockwise spiral, and the final arrangement is a right-angle pattern in relation to fertile branchlets (Fig. 22). Mature tetrasporangia are tetrahedrally divided, 50–117.5 µm in diameter.

In female thalli, each procarp-bearing segment produces four pericentral cells (Fig. 23), the fourth of which becomes the supporting cell of a four-celled carpogonial branch with two groups of sterile cells (Fig. 24). Fully developed cystocarps are conical with protuberant carpostomes, 0.7–1.2 mm in diameter, subapically arranged with the lower half immersed within the parent branch (Figs 7, 25). Carposporangia are clavate, 105–200 µm long and 25–55 µm in diameter. Details of the postfertilization stages are basically identical to those described by Nam & Sohn (1994) and Nam & Saito (1995).

Male branches are characteristically swollen, 0.8–1.6 mm in diameter (Figs 5, 8). In longitudinal section through a fertile branchlet, the spermatangial pits are cup shaped, and an axial cell row is discernible at the base (Fig. 26). Spermatangial trichoblasts arise from axial cells, consisting of fertile and sterile branches (Fig. 27); the fertile branches



Figs 1–8. *Palisada perforata*. (Fig. 1, TFC Phyc 13170; Figs 2, 5, 6, HRJ 10901; Figs 3, 4, HRJ 10836; Figs 7, 8, HRJ 10867).
Figs 1, 2. Habit of plants showing compacted turf-like mats and isolated tufts, respectively. Scale = 1 cm.
Fig. 3. Detail of a specimen showing lower portion with stolon-like branches (arrow). Scale = 1 cm.



Figs 9, 10. *Palisada perforata*. (Fig. 9, HRJ 10868; Fig. 10, HRJ 10901).

Fig. 9. Specimen showing arcuate branches with secondary attachment (arrows). Note unilateral branching. Scale = 5 mm.

Fig. 10. Basal portion of a thallus showing stolon-like branch. Scale = 2 mm.

produce many ovoid spermatangia, 6.5–12.5 μm long and 5.0–7.5 μm in diameter, and terminate in vesicular sterile cells, 22.5–37.5 μm long and 17.5–35 μm in diameter; each spermatium possess an apical nucleus (Fig. 28).

HABITAT: The specimens were collected from the lower intertidal zone to subtidal zone at exposed or protected from wave action sites.

SPECIMENS EXAMINED MORPHOLOGICALLY: *Palisada perforata* (Bory) K.W. Nam – **Spain**, Canary Islands, **Tenerife**. (leg. Montagne, L 11540/8, Herb. Lugb. Bat. no. 941.99 ...

104) (leg. Kranse, L 11540/7, Herb. Lugb. Bat. no. 941.99 ... 103); Punta del Hidalgo (leg. M.C. Gil-Rodríguez, 06 Oct. 2005, TFC Phyc 13068); Playa Paraíso (leg. M.C. Gil-Rodríguez, A. Senties & M.T. Fujii, 14 Jul. 2006, TFC Phyc 13132); Puerto de la Cruz, San Telmo (leg. M.C. Gil-Rodríguez, A. Senties, & M.T. Fujii, 13 Jul. 2006, TFC Phyc 13170); Las Galletas (leg. CANCAP 3, no. 1276, 26 Oct. 1978, L 11540/11, Herb. Lugb. Bat. no. 987.012 ... 132); Tacoronte, El Pris (leg. A. Bleckwenn & M.C. Gil-Rodríguez, 10 Feb. 1998, TFC Phyc 9951); **Gran Canaria**. Guía, Punta Ancha (leg. CANCAP 3, no. 1600, 09 Feb. 1978, L 11540/6, Herb. Lugb. Bat. n° 987.012 ... 164); Punta Camello (leg. F. Espino, Oct. 1998, BCM 4837); **Fuerteventura**. Castillo de Fuste (leg. M.C. Gil-Rodríguez & R. Haroun, 5 May 1980, TFC Phyc 2319); Punta Pesebre (leg. M.C. Gil-Rodríguez, 15 Mar. 2005, TFC Phyc 13209); **Lanzarote**. Arrecife (leg. M.E. Guadalupe, M.C. Gil-Rodríguez & M.C. Hernández-González, 25 Oct. 1991, TFC Phyc 8680); Alegranza, Punta de los Mosquitos (leg. R. Haroun *et al.*, 23 Aug. 1994, BCM 2017-2123) (HEINCKE Exped. St. 11, leg. R. Haroun *et al.*, 29 Nov. 1991, BCM 1221); Montaña Clara, Morro del Agüjero (leg. GRAMONAL'83 31 Mar. 1983, L 11540/1, Herb. Lugb. Bat. no. 986.324 ... 092, TFC Phyc 5666); **El Hierro**. La Restinga (leg. M.C. Gil Rodríguez, 15 Apr. 2005, TFC Phyc 13210), Faro de Orchilla (leg. CANCAP 2, no. 462, 07 Nov. 1977, L 11540/12, Herb. Lugb. Bat. no. 366.120); **La Palma**. Fajana de Barlovento (leg. M.C. Gil-Rodríguez & R. Haroun, 15 Jun. 1983, TFC Phyc 3072), Tijarafe (leg. CANCAP IV 04/05, Apr. 1980, L 11540/17, Herb. Lugb. Bat. no. 987.252 ... 963), San Andrés y Sauces, El Charco Azul (leg. F. Espino & R. Herrera, 29 Nov. 2002, BCM 6046); **La Gomera**. Los Órganos (leg. J. Afonso, R. Haroun & W. Wildpret, 03 Apr. 1982, TFC Phyc 2830); **Mexico**. **Quintana Roo**. Isla Mujeres (leg. A. Senties, 19 Feb. 2006, UAMIZ 1040); (leg. A. Senties & M.C. Gil-Rodríguez, 02 Mar. 2007, UAMIZ 1041); **Brazil**. **Rio de Janeiro**. Rio das Ostras, Areias Negras (leg. V. Cassano & M.B. Barros-Barreto, 03 Aug. 2005, HRJ 10839); Armação dos Búzios, Praia Rasa (leg. V. Cassano & J.C. De-Paula, 21 Jul. 2005, HRJ 10866); Parati, Praia Vermelha (leg. V. Cassano, 30 Dec. 2005, HRJ 10840), Praia da Lula (leg. V. Cassano, 09 Feb. 2005, HRJ 10868); Baía da Ilha Grande, Angra dos Reis, Ilha Grande, Praia da Feiticeira (leg. V. Cassano & J.C. De-Paula, 29 Jul. 2005, HRJ 10867); **as Palisada papillosa** (C. Agardh) K.W. Nam – **Spain**, Canary Islands, **Tenerife**. Adeje, Playa Paraíso (leg. M.C. Gil-Rodríguez, A. Senties & M.T. Fujii, 14 Jul. 2006, TFC Phyc 13134); El Médano (leg. J. Reyes-Hernández & M. Sansón, 29 Oct. 1991, TFC Phyc 7609); **Mexico**. **Quintana Roo**. Puerto Morelos (leg. A. Senties, 29 Apr. 1995, UAMIZ 850); Playa del Carmen (leg. A. Senties & M.C. Gil-Rodríguez, 27 Feb.

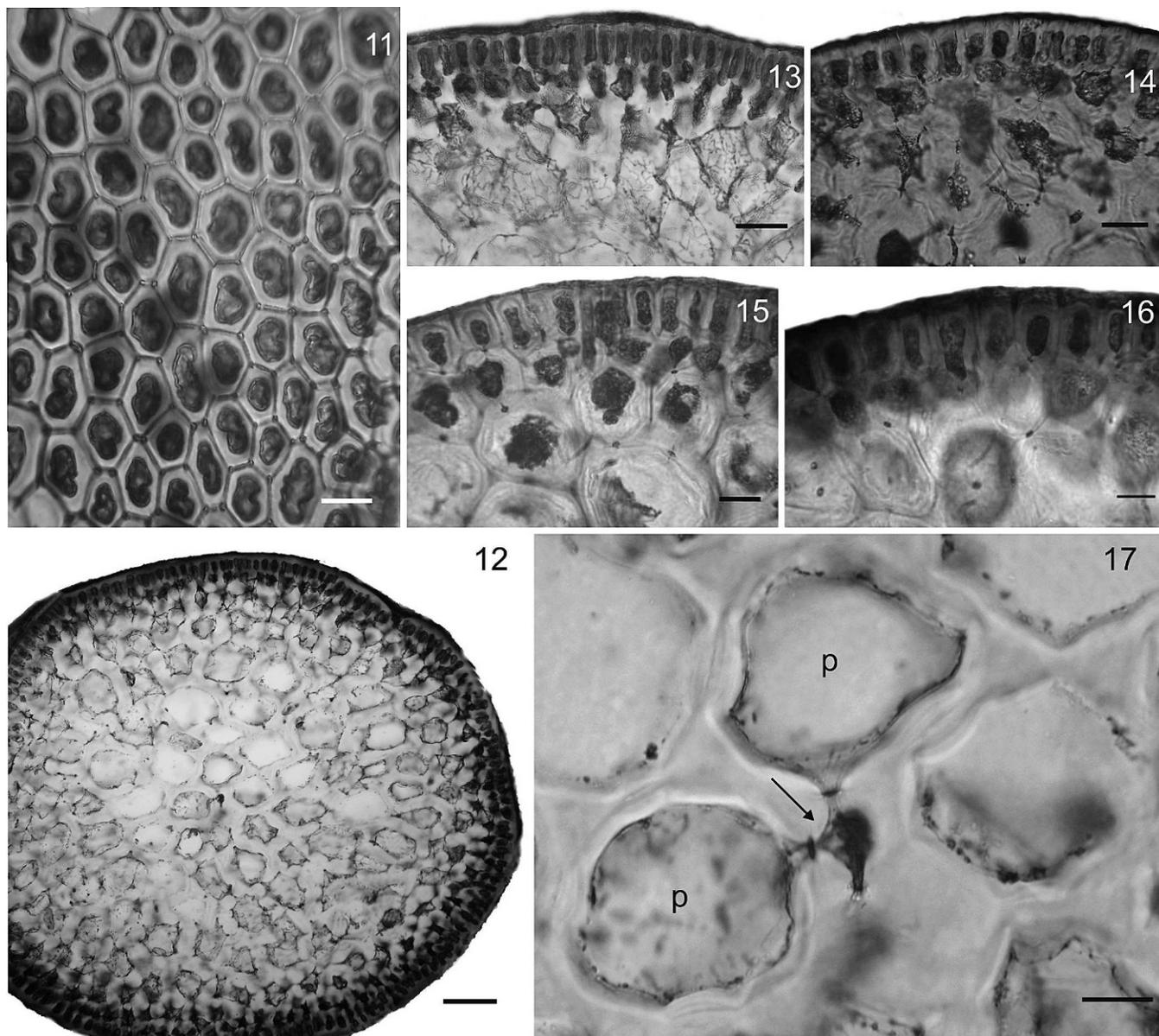
Fig. 4. Female branches. Scale = 2 mm.

Fig. 5. Male branches. Scale = 1 mm.

Fig. 6. Tetrasporangial branches. Scale = 1 mm.

Fig. 7. Detail of female branches with cystocarps. Scale = 1 mm.

Fig. 8. Detail of male branches. Scale = 1 mm.



Figs 11–17. *Palisada perforata*. (Fig. 11, HRJ 10839; Figs 12, 17, HRJ 10836; Fig. 13, 14, TFC Phyc 13170; Figs 15, 16, HRJ 10837).
Fig. 11. Cortical cells in surface view without secondary pit connections. Scale = 20 μ m.
Fig. 12. Transverse section of the thallus. Scale = 100 μ m.
Figs 13, 14. Transverse sections of main axis and ultimate branchlet, respectively, showing palisade-like arrangement of cortical cells. Scale = 50 μ m and 40 μ m, respectively.
Figs 15, 16. Transverse sections of main axis and ultimate branchlet, respectively, of a plant previously identified as *P. papillosa* showing palisade-like arrangement of cortical cells. Scale = 25 μ m.
Fig. 17. Transverse section of the upper portion of a branch showing an axial cell (arrow) with two pericentral cells (p). Scale = 25 μ m.

2007, UAMIZ 1021); **Brazil. Rio de Janeiro.** Rio das Ostras, Areias Negras (leg. V. Cassano & M.B. Barros-Barreto, 03 Aug. 2005, HRJ 10865); Armação dos Búzios, Praia Rasa (leg. V. Cassano & J.C. De-Paula, 13 Jan. 2005, HRJ 10901); Parati, Trindade, Praia do Meio (leg. V. Cassano & José B. de Carvalho, 08 Feb. 2005, HRJ 10903); Ilha do Mantimento (leg. V. Cassano, 25 Feb. 2007, HRJ 10836); Baía da Ilha Grande, Angra dos Reis, Praia Brava (leg. V. Cassano, 23 Oct. 2004, HRJ 10837); Saco de Piraquara de Fora, Ponta do Arame (leg. V. Cassano, M.T.M. Széchy & M.T. Fujii, 12 Dec. 2006, HRJ 10822); Ilha do Bonfim (leg.

V. Cassano, M.T.M. Széchy & M.T. Fujii, 13 Dec. 2006, HRJ 10904).

ADDITIONAL MATERIAL EXAMINED: Isotype: *Fucus papillosus* Forsskål (LD 36784). As *Chondrophyucus papillosus* (C. Agardh) Garbary & J. T. Harper – **Italy.** Sicily, Syracuse, Brucoli (leg. D. Serio, 29 May 1993, CAT-Sectio Algae 1698).

MATERIAL OF OTHER SPECIES EXAMINED FOR COMPARISON: *Chondrophyucus thuyoides* (Kützinger) G. Furnari – **Italy.** Sicily, Apulia, Gargano (leg. Fanelli, autumn 1997, 5 m

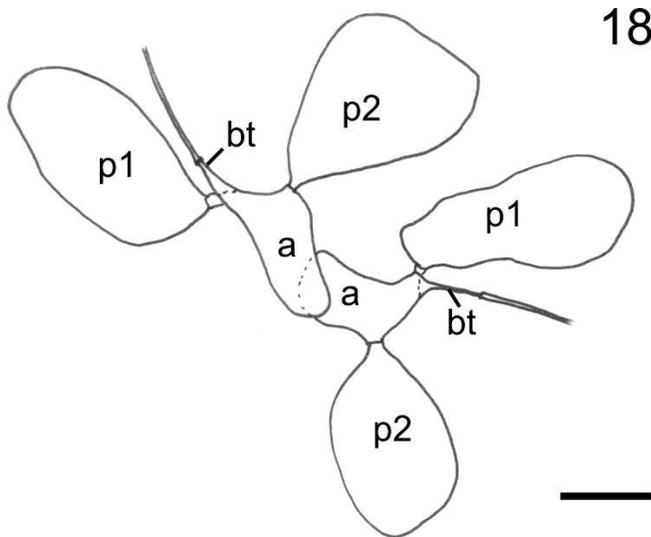


Fig. 18. *Palisada perforata*. (HRJ 10868). Transverse section near the apex of branchlet showing two superimposed vegetative axial segments with an axial cell (a) and two pericentral cells (p1, p2). Note the first pericentral cell (p1) produced underneath the basal cell of the trichoblast (bt). Scale = 10 μ m.

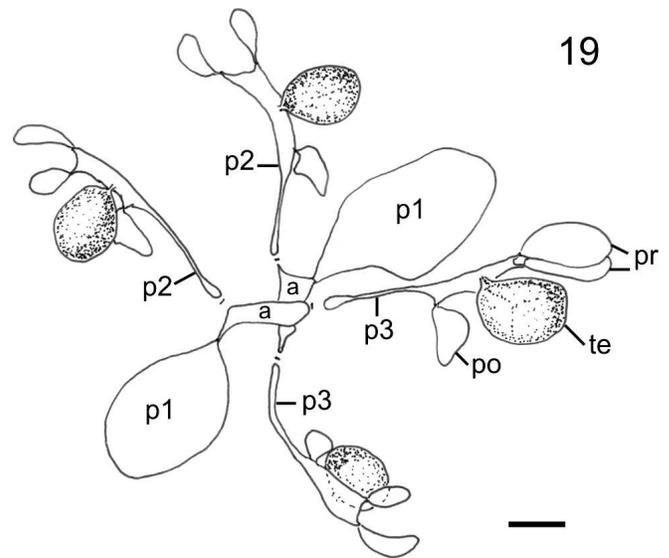


Fig. 19. *Palisada perforata*. (HRJ 10868). Diagrammatic representation. Transverse section near the apex of branchlet showing tetrasporangial axial segments. Each axial segment (a) with one vegetative pericentral cell (p1) and two fertile pericentral cells, the existing (p2) and the additional (p3). Presporangial cover cells (pr), tetrasporangial initial (te); postsporangial cover cell (po). Scale = 25 μ m.

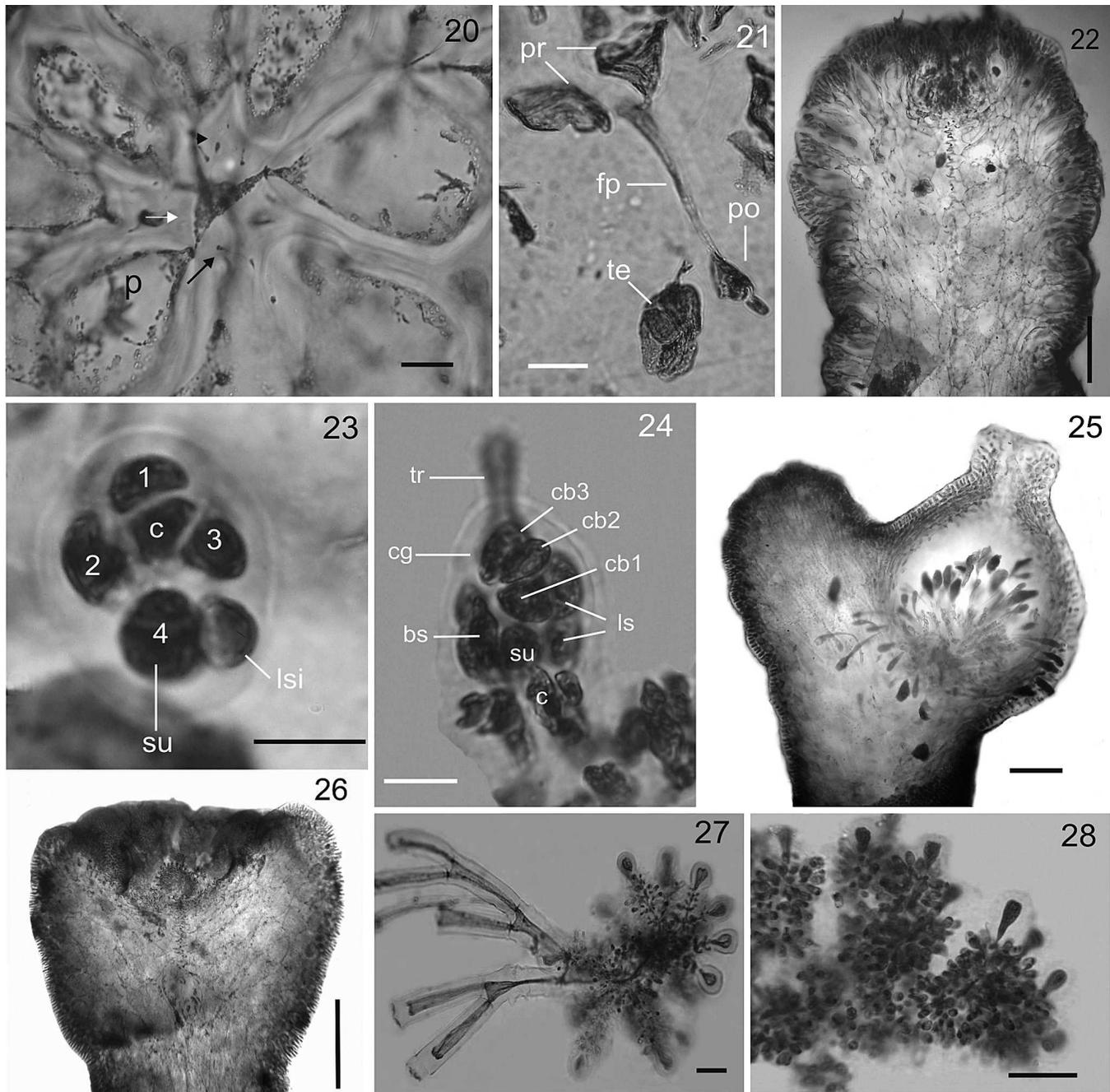
depth CAT-Sectio Algae 1635); *Chondrophyucus patentirameus* (Montagne) K.W. Nam – Spain. Terragona, Delta del Ebro (leg. F. Boisset, 20 Aug. 1996, CAT-Sectio Algae 1594).

Molecular analyses

VARIATION IN THE *rbcL* SEQUENCES: We sequenced the *rbcL* gene for 10 specimens of the *Laurencia* complex: six specimens of *Palisada perforata*, two of *P. papillosa*, one of *Laurencia intricata* J.V. Lamouroux and one of *Osmundea pinnatifida* (Hudson) Stackhouse. A total of 39 sequences were analyzed including the outgroups *Bostrychia radicans* (Montagne) Montagne, *Centroceras* sp. [as *Centroceras clavulatum* (C. Agardh) Montagne] and *Ceramium brevizonatum* E. H. Petersen (Table 1). A total of 250 nucleotides were removed from all *rbcL* sequences at the beginning or end of the sequences as many sequences from the GenBank were incomplete, producing a data set of 1217 base pairs. Intergeneric divergence varied from 6 to 10% between *Palisada* and *Laurencia* and from 9 to 12% between *Palisada* and *Osmundea*. Interspecific divergences obtained for the species of *Laurencia* varied from 3 to 8%; whereas, for those of *Palisada* varied from 4 to 10%. In the case of *P. papillosa* and *P. perforata*, the observed *rbcL* nucleotide divergences between Atlantic specimens were very low, 0–0.4%.

PHYLOGENY: The data set consisted of 802 constant characters, 321 parsimony-informative sites and 94 parsimony noninformative sites. MP produced two trees of 1069 steps (CI = 0.755, RI = 0.554, HI = 0.245). The topology of the 50% consensus tree (majority rule as implemented by PAUP) with corresponding bootstrap values is shown in Fig. 29. The topology of Bayesian tree with corresponding

Bayesian posterior probabilities values is shown in Fig. 30. The MP and Bayesian tree topologies were very similar. The analysis shows a monophyletic *Laurencia* complex with high bootstrap support in relation to the members of the outgroup. The *Laurencia* complex separated into three clades with high bootstrap support, corresponding to the genera: *Osmundea*, *Laurencia* and *Palisada*. In all analyses, the earliest diverging clade was the genus *Osmundea* with its species *O. pinnatifida* (Hudson) Stackhouse, *O. osmunda* (S.G. Gmelin) K.W. Nam, *O. truncata* (Kützinger) K.W. Nam & Maggs and *O. spectabilis* (Postels & Ruprecht) K.W. Nam var. *spectabilis*. The genera *Laurencia* and *Palisada* were sister groups forming a clade with high bootstrap support and with a posterior probability of 100%. The monophyletic clade that corresponded to the genus *Laurencia* included seven species: *Laurencia filiformis* (C. Agardh) Montagne (as *L. arbuscula* Sonder), *L. cf. brongniartii* J. Agardh, *L. intricata* J.V. Lamouroux, *L. complanata* (Suhr) Kützinger, *L. natalensis* Kylin, *L. translucida* M.T. Fujii & Cordeiro-Marino and *L. obtusa* (Hudson) J.V. Lamouroux. The monophyletic clade that corresponded to the genus *Palisada* included seven species. Within the *Palisada* assemblage, *P. poiteaui* (J.V. Lamouroux) K.W. Nam var. *poiteaui* and *P. poiteaui* var. *gemmifera* (Harvey) Senties, M. T. Fujii & Díaz-Larrea were segregated from others forming a distinct clade. The species *P. flagellifera* (J. Agardh) K.W. Nam, *P. papillosa*, *P. perforata*, *P. corallopsis* (Montagne) Senties, M.T. Fujii & Díaz-Larrea, *Chondrophyucus patentirameus* and *C. thuyoides* formed another well-supported clade. Therefore, considering the criteria established by Nam (2006) for the genus *Palisada* and the evidence presented in phylogenetic analysis, the following new combinations are proposed.



Figs 20–28. *Palisada perforata*. (Figs 20, 22, 25, HRJ 10836; Figs 21, 23, TFC Phyc 13134; Fig. 24, HRJ 10901; Fig. 26, HRJ 10866; Figs 27–28, HRJ 10868).

Fig. 20. Transverse section of tetrasporangial axial segments showing an axial cell (white arrow) and two fertile pericentral cells. The second pericentral cell (black arrow) becomes fertile; an additional third fertile pericentral cell is formed in the opposite position (arrowhead), and the first pericentral cell remains vegetative (p). Scale = 25 μ m.

Fig. 21. Detail of a fertile pericentral cell (fp) with two presporangial cover cells (pr), tetrahedrally divided tetrasporangium (te) and one postsporangial cover cell (po). Scale = 20 μ m.

Fig. 22. Longitudinal section through tetrasporangial branchlet showing right-angle arrangement of the tetrasporangia. Scale = 500 μ m.

Fig. 23. Procarp-bearing segment with four pericentral cells, the fourth becoming the supporting cell (su). Central cell of procarp-bearing segment (c), lateral sterile group initial (lsi). Scale = 10 μ m.

Fig. 24. Procarp before fertilization with four-celled carpogonial branch (cb), lateral sterile group (ls) and basal sterile group (bs). Carpogonium (cg), trichogyne (tr), supporting cell (su), central cell of procarp-bearing segment (c). Scale = 10 μ m.

Fig. 25. Longitudinal section through female branchlet with partly immersed cystocarp and protuberant carpostome. Scale = 500 μ m.

Fig. 26. Longitudinal section through male branchlet showing spermatangial branches in cup-shaped tips. Scale = 400 μ m.

Fig. 27. Detail of trichoblast type spermatangial branches. Note trichoblast with two laterals (sterile and spermatangial branches). Scale = 40 μ m.

Fig. 28. Detail of spermatangial branches with terminal vesicular sterile cells and spermatia with an apical nucleus. Scale = 40 μ m.

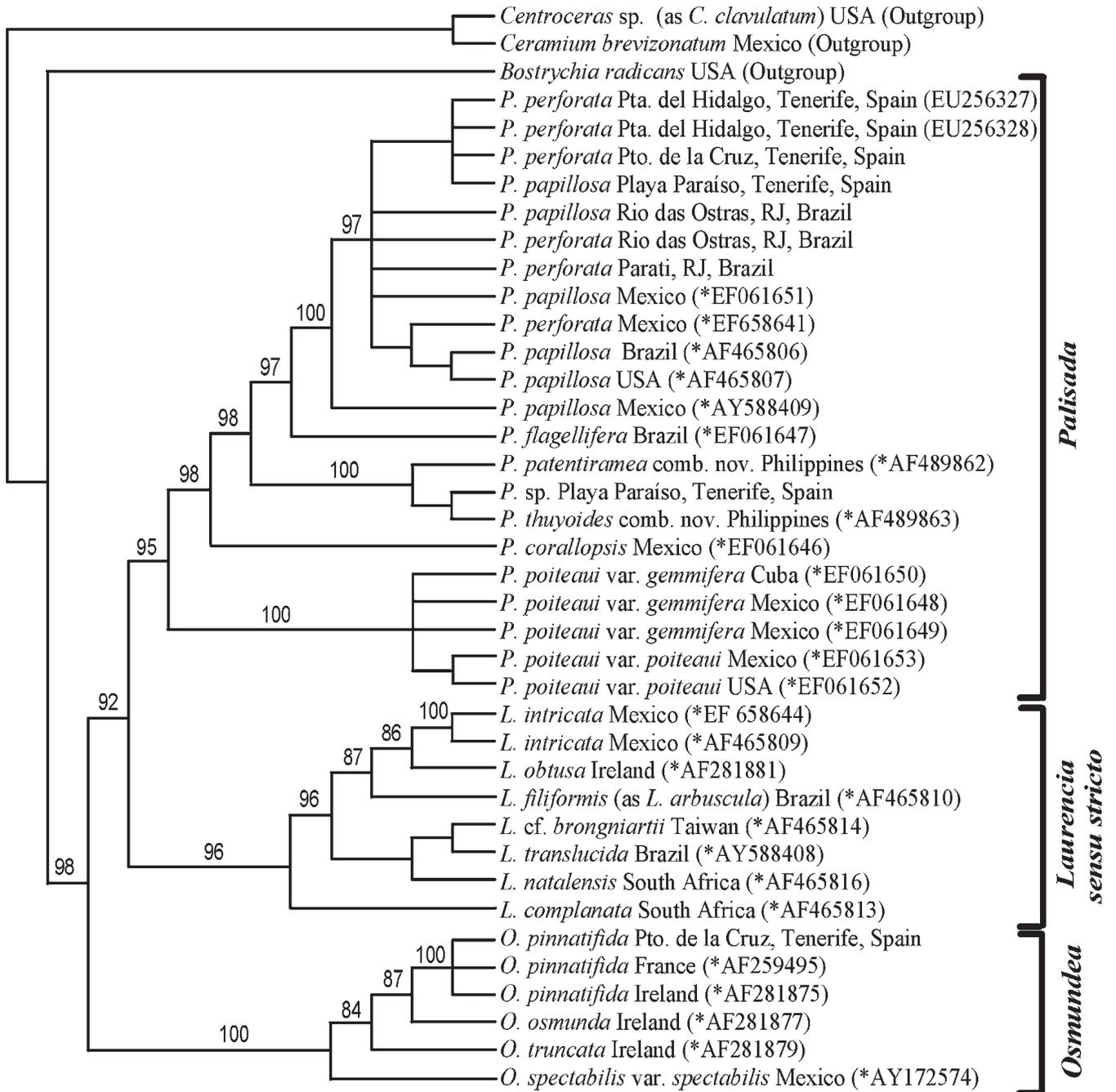


Fig. 29. Consensus majority rule tree of two maximum parsimony trees for *rbcL* sequences of the *Laurencia* complex species, rooted with *Bostrychia radicans*, *Centroceras* sp. and *Ceramium brevizonatum* as outgroups. Bootstrap values indicated at the nodes. CI = 0.755, RI = 0.554, HI = 0.245.

Palisada patentiramea (Montagne) Cassano, Senties, Gil-Rodríguez & M.T. Fujii comb. nov.

BASIONYM: *Chondria obtusa* (Hudson) C. Agardh var. *patentiramea* Montagne (1836, vol. 6, 322, pl. 18, fig. 3).

SYNONYMS: *Chondrophyucus patentirameus* [*patentiramea*] (Montagne) K.W. Nam (1999, 463); *Laurencia patentiramea* (Montagne) Kützing (1849, 854); *Laurencia obtusa* var. *patentiramea* (Montagne) Rabenhorst (1847, 155).

Palisada thuyoides (Kützing) Cassano, Senties, Gil-Rodríguez & M.T. Fujii comb. nov.

BASIONYM: *Laurencia thuyoides* Kützing (1865, vol. 15, 26, pl. 74, figs a, b).

SYNONYMS: *Chondrophyucus thuyoides* (Kützing) G. Furnari (in Furnari et al. 2001, 341, figs 1–3); *Chondrophyucus paniculatus* (C. Agardh) G. Furnari (in Boisset et al. 2000, 392, figs 18–23); *Chondria obtusa* var. *paniculata* C. Agardh (1822, 343); *Laurencia obtusa* var. *paniculata* (C. Agardh)

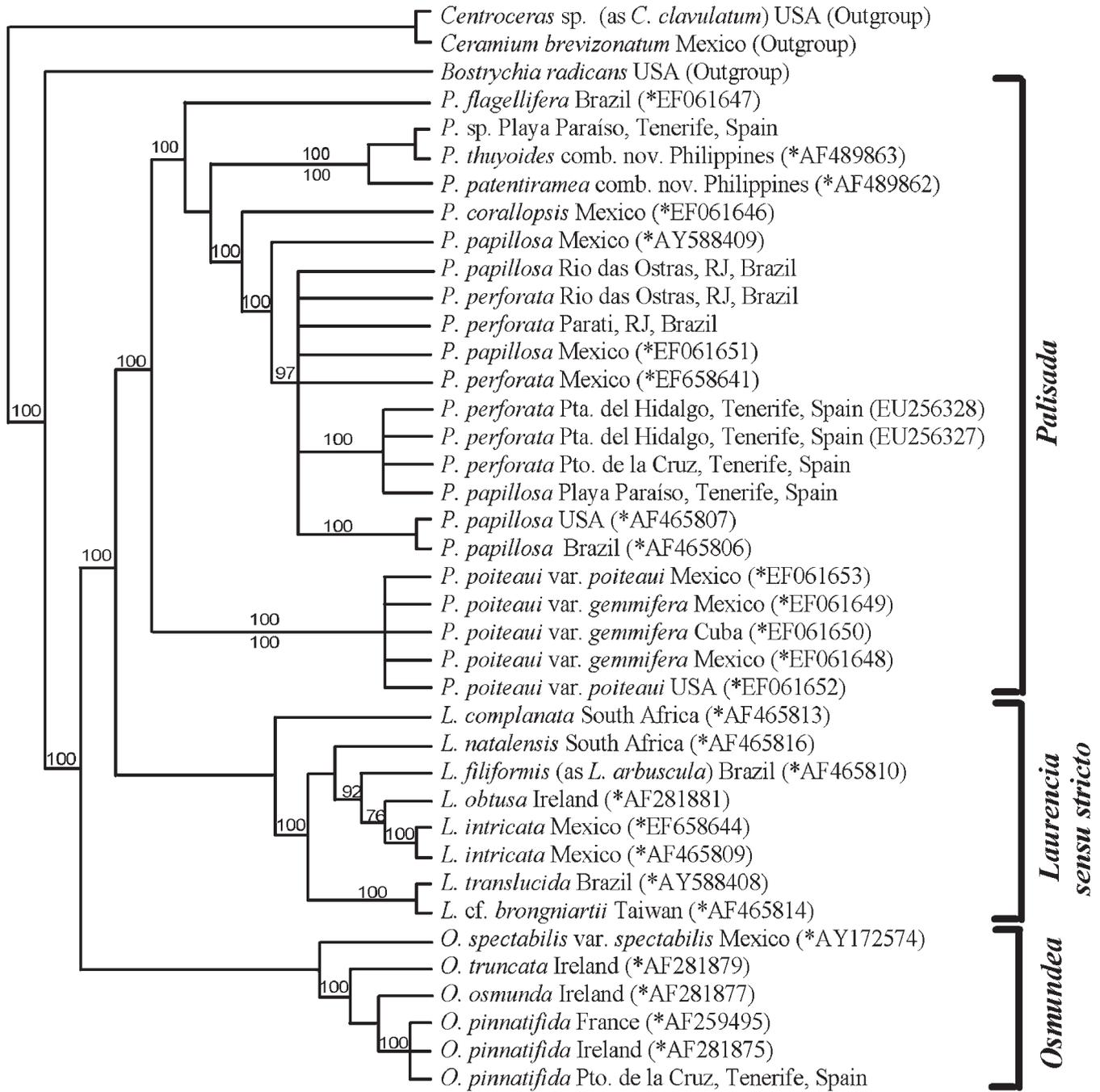


Fig. 30. Bayesian analysis of *rbcL* sequence. Fifty percent majority-rule consensus tree was computed after the ‘burn-in’ point. Evolutionary model used in the Bayesian analysis was the GTR+I+G, selected by a maximum likelihood ratio test. Bayesian posterior probabilities values are indicated at the nodes.

Zanardini (1847, 20); *Laurencia paniculata* (C. Agardh) J. Agardh (1852, 755) *nom illeg.* [later homonym of *L. paniculata* Kützinger (1849, 855)].

Palisada papillosa-*P. perforata* were monophyletic with high support in all analyses with *P. papillosa* from Baja California in the Pacific Ocean basal to the Atlantic samples. The eastern Atlantic *P. papillosa* and *P. perforata* from Tenerife, Canary Islands, form a monophyletic clade with a high posterior probability, segregating from the

western Atlantic *P. papillosa* and *P. perforata* from Florida (USA), Mexico, and southern Brazil.

DISCUSSION

Palisada perforata was first proposed as *Fucus perforatus* by Bory (1803) from Tenerife, Canary Islands; whereas,

Table 2. Morphological comparison of *Palisada* species considered in this study.

Species	Attachment	Arcuate branches	Position of the first pericentral cell relative to trichoblast	Secondary pit connections	Epidermal cells arrangement in TS	Cell wall projections	Spermatangial branches	Procarp-bearing segments	Tetrasporangial pericentral cells	Tetrasporangial axis	References
<i>Palisada patentiramea</i> (Montagne) Cassano, Senties, Gil-Rodríguez & M.T. Fujii comb. nov.	Disc and stolon-like branches	Absent	Underneath ¹	Absent	NPD	Absent	SOL	4P	Second	ISP	Boisset et al. (2000), Furnari et al. (2001)
<i>P. thuyoides</i> (Kützting) Cassano, Senties, Gil-Rodríguez & M.T. Fujii comb. nov.	Disc	Absent	Underneath ¹	Absent	PD	Absent	?	?	Second	ISP	Boisset et al. (2000), Furnari et al. (2001)
<i>P. corallopsis</i> (Montagne) Senties, M.T. Fujii & Diaz-Larrea	Disc	Absent	?	Absent	PD	Absent	?	?	Second, third,* fourth*	ISP	Fujii & Senties (2005), Senties & Diaz-Larrea (2008)
<i>P. flagellifera</i> (J. Agardh) K.W. Nam	Disc	Absent	?	Absent	PD	Absent	?	5P	Second, third,* fourth*	ISP	Fujii et al. (2006), Wynne et al. (2005), Nam (2006), this study
<i>P. papillosa</i> (C. Agardh) K.W. Nam	Disc and stolon-like branches	Absent (rarely present)	Underneath	Absent	PD	Absent	SOL	4P	Second, third*	ISP	Wynne et al. (2005), Nam (2006), this study
<i>P. perforata</i> (Bory) K.W. Nam	Disc and secondary attachment in arcuate branches	Present	Underneath	Absent	PD	Absent	SOL	4P	Second, third*	ISP	Wynne et al. (2005), Nam (2006), this study
<i>P. poiteaui</i> (J.V. Lamouroux) K.W. Nam var. <i>poiteaui</i>	Disc	Absent	?	Present	NPD	Absent	?	5P	Second, third,* fourth*	ISP	Fujii et al. (1996), Fujii & Senties (2005)
<i>P. poiteaui</i> (J.V. Lamouroux) K.W. Nam var. <i>gemmifera</i> (Harvey) Senties, M.T. Fujii & Diaz-Larrea	Disc	Absent	?	Present	NPD	Apiculate	?	5P	Second, third,* fourth*	ISP	Fujii et al. (1996), Fujii & Senties (2005), Senties & Diaz-Larrea (2008)

Modified from Nam (1999).

¹ Interpreted by Boisset et al.'s (2000) illustrations; NPD, nonpalisade; PD, palisade; P, pericentral cells; SP, sterile pericentral cells; SOL, spermatangial branches from one of the two laterals; TS, transverse section; ?, unknown; *, produced additionally.

Palisada papillosa was originally described as *Fucus papillosus* by Forsskål (1775) from the Red Sea. However, according to Silva *et al.* (1996), *Fucus papillosus*, the intended basionym of *L. papillosa*, lacks priority since it is a later homonym of *Fucus papillosus* Gmelin (1768), a name of uncertain application. *Chondria papillosa* C. Agardh (1822) is treated as a *nomen novum* and the legitimate basionym of *L. papillosa*. Later, both species were transferred to the genus *Laurencia*: *Laurencia perforata* (Bory) Montagne and *L. papillosa* (C. Agardh) Greville, following Lamouroux's (1813) circumscription of the genus: red-purple plants, little gelatinous, included in the order 'Floridées' that presented globose cystocarps situated at the tips of branches and branchlets.

Garbary & Harper (1998), on the basis of a cladistic analysis of morphological characters, segregated members of the *Laurencia* complex originally included in the subgenus *Chondrophycus* (Saito 1967; Nam & Sohn 1994) and elevated that subgenus to generic rank. They characterized these species by having the presence of two pericentral cells in vegetative axes, secondary pit connections between cortical cells mostly absent, no *corps en cerise*, spermatangial development of the trichoblast type, tetrasporangia development from pericentral cells with fertile segments producing additional fertile pericentral cells and tetrasporangia typically arranged in a right-angle pattern. Later, Nam (1999) redefined the genus *Chondrophycus* and characterized it by its possession of only two pericentral cells in vegetative axes, the trichoblast type development of the spermatangia and the production of tetrasporangia from a particular pericentral cell. In light of this circumscription, *Laurencia perforata* and *L. papillosa* were transferred to *Chondrophycus*.

Nam (2006, 2007) transferred *Chondrophycus papillosus* and *C. perforatus* to the genus *Palisada* and segregated it from *Chondrophycus*, based on cladistic analysis, using the following morphological features: the first pericentral cell is produced underneath the basal cell of the trichoblast as in *Laurencia*, the second pericentral cell in the tetrasporangial axis is always fertile and the resultant axis has one sterile pericentral cell, the spermatangial branches are produced from one of two laterals on the suprabasal cell of trichoblasts, the auxiliary cells in the postfertilization process show a normal developmental pattern after presumed fertilization and the procarp-bearing segments have four pericentral cells, except in *Palisada poiteaui* (J.V. Lamouroux) K.W. Nam var. *poiteaui* and *P. poiteaui* var. *gemmifera* (Harvey) Senties, M.T. Fujii & Díaz-Larrea, which possess five pericentral cells [Fujii *et al.* 1996, as *Laurencia poiteaui* (J.V. Lamouroux) M. Howe and as *L. gemmifera* Harvey].

Yamada (1931) included *Palisada perforata* [as *Laurencia perforata*] and *Palisada papillosa* [as *Laurencia papillosa*] in the section *Palisadae* Yamada by the presence of palisade-like arrangement of cortical cells, confirmed by the examination of both holotypes [*Fucus perforatus*, Thuret herbarium, Paris and *F. papillosus* Forsskål herbarium, Copenhagen]. Nam & Saito (1991), who re-examined the holotype of *P. papillosa*, pointed out that the cortical cells of ultimate branchlets are never elongated radially, but are elongated longitudinally, and the palisade layer is not clear

in transverse section. Thus, Nam & Saito (1991) argued that the palisade structure is not a useful criterion because it is not always evident in *P. papillosa*. Later, Nam (1999) elevated the section *Palisadae* to subgeneric rank [subgenus *Palisada* K.W. Nam] and transferred *P. papillosa* to the section *Papillosae* J. Agardh *emend.* K.W. Nam by the absence of palisade-like arrangement of cortical cells in transverse section. On the other hand, Masuda *et al.* (1997) and Furnari *et al.* (2001) argued that main axes, indeterminate branches, and also ultimate branchlets possess a palisade-like arrangement of cortical cells in transverse section; although, it may be absent in some ultimate branchlets. Despite the arguments above, Nam (2006) maintained this character as a distinguishing difference between *P. papillosa* and *P. perforata*. Our study confirmed the presence of a palisade arrangement of cortical cells in both species; although, it occasionally may be lacking in ultimate branchlets as pointed out by Masuda *et al.* (1997) and Furnari *et al.* (2001). The examination of the isotype of *Fucus papillosus* in LD showed that it is in agreement with the material from the Canary Islands, Mexico and Brazil analyzed in this study.

The habit difference observed in these species seems to be related to environmental conditions. The species are known to be polymorphic and usually assume the turf morphology when they grow in the intertidal zone and are exposed to high-energy wave action (Fujii & Senties 2005). The basal system used to segregate the species is variable. The stolon-like branches may be lacking in *P. papillosa*, and the basal branches arising from the lower portions of the erect branches may assume an arcuate habit and can also be attached by smaller holdfasts as in *P. perforata*. Fujii & Senties (2005), after comparative studies of these species, already had suggested that the specimens of *P. perforata* and *P. papillosa* from Brazil were morphological variants of the same species.

Morphological comparisons among the species of the *Palisada* clade considered in this study are shown in Table 2. *Palisada perforata* and *P. papillosa* share the following diagnostic characters: the first pericentral cell is produced underneath the basal cell of the trichoblast, a palisade-like arrangement of cortical cells, the tetrasporangial axes produce two fertile pericentral cells per segment (the second vegetative which becomes fertile and a third additional), the first pericentral cell remaining vegetative, the spermatangial branches are produced from one of two laterals on the suprabasal cell of trichoblasts and the procarp-bearing segment possesses four pericentral cells. Although the species have been widely reported, details of the procarp are described here for the first time.

The intergeneric divergence values obtained in this work (6–12%) for *rbcL* sequences are comparable to those reported by other authors for the *Laurencia* complex. Nam *et al.* (2000) recorded intergeneric divergence values between 11% (*Laurencia obtusa* vs. *Osmundea pinnatifida*) and 13% [*L. obtusa* vs. *O. hybrida* (A.P. de Candolle) W.K. Nam], and McIvor *et al.* (2002) recorded values of 11% (*O. pinnatifida* vs. *L. obtusa*) to 13% [*O. blinksii* vs. *P. papillosa* (as *C. papillosus*)]. Díaz-Larrea *et al.* (2007) obtained intergeneric divergence values from 10 to 12% for *Palisada*

(as *Chondrophyucus*) and *Laurencia* and from 10 to 13% for *Palisada* (as *Chondrophyucus*) and *Osmundea*.

The interspecific divergence values reported in this work (3–10%) for *rbcL* sequences are comparable to those reported by other authors for the genus *Osmundea*. Nam *et al.* (2000) estimated divergence percentages that varied from 5% (*O. osmunda* vs. *O. pinnatifida*) to 9% (*O. hybrida* vs. *O. truncata*), and McIvor *et al.* (2002) recorded values of 2% (*O. blinksii* vs. *O. splendens*) to 9% (*O. blinksii* vs. *O. truncata*). Díaz-Larrea *et al.* (2007) obtained interspecific divergence values for the species of *Laurencia* that varied from 6 to 8%, whereas for those of *Palisada* (as *Chondrophyucus*) varied from 6 to 9%.

The molecular phylogeny shows that the clade formed by the five populations of *P. perforata* (Bahía Izquierda and San Telmo, Canary Islands; Isla Mujeres, Mexico; Rio das Ostras and Parati, Brazil) and four populations of *P. papillosa* (Playa Paraíso, Canary Islands; Puerto Morelos, Mexico; Rio das Ostras, Brazil; Old Dan's Reef, Florida, USA) are poorly resolved as a result of the low level of genetic variation between their *rbcL* sequences (0–0.4%). This divergence value is comparable to that reported by Díaz-Larrea *et al.* (2007) for *P. poiteaui*–*P. gemmifera* (0.01–0.02%) and for three samples of *O. pinnatifida* analyzed in this work (0.4%). Within the *P. papillosa*–*P. perforata* assemblage, eastern Atlantic samples from Tenerife, Canary Islands, form a monophyletic clade, segregating from the western Atlantic *P. papillosa* and *P. perforata* from Florida (USA), Mexico, and southern Brazil. The taxon named as *Palisada papillosa* from Baja California, Mexican Pacific, may be a distinct species from the Atlantic entities, as its *rbcL* sequence divergence from the rest of the *P. papillosa* and *P. perforata* specimens is 1%. Therefore, the entity known as *P. papillosa* from Baja California needs to be critically re-examined as suggested previously by Fujii *et al.* (2006). The morphological similarities and the molecular data support the conspecificity of *C. papillosus* with *C. perforatus*, the latter epithet having priority over the former. The phylogenetic analyses also supported the nomenclatural changes for two species of *Chondrophyucus* to *Palisada*, namely, *P. patentiramea* (Montagne) Cassano, Senties, Gil-Rodríguez & M.T. Fujii comb. nov. and *P. thuyoides* (Kützinger) Cassano, Senties, Gil-Rodríguez & M.T. Fujii comb. nov.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are very grateful to Giovanni Furnari for providing the specimens from the Herbarium of the Department of Botany, University of Catania, Italy, and for kindly receiving the first author in his laboratory. We also thank Michael Wynne, Wilson Freshwater and Eurico C. Oliveira for their critical comments on the manuscript, K.W. Nam for his helpful comments, the curators of the herbaria cited in this study and our colleagues listed in the section titled Specimens Examined Morphologically for help with field material. This study was partly supported by Ministry of Education and Sciences of the Spanish Government (CGL 2007-60635/BOS), the Coordenação de Aperfeiçoamento de

Pessoal de Nível Superior (Capes) to V.C. and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Proc. 4546592006-7 to M.T.F., 470417/2006-4 to M.C.O. A.S. thanks SEP PROMEP (P/CA-117 2006-35-52). M.T.F. and M.C.O. thank CNPq for a Research Productivity Fellowship (Proc. 308426/2006-1, 301217/2007-6).

REFERENCES

- ABE T., KURIHARA A., KAWAGUCHI S., TERADA R. & MASUDA M. 2006. Preliminary report on the molecular phylogeny of the *Laurencia* complex (Rhodomelaceae). *Coastal Marine Sciences* 30: 209–213.
- AGARDH C.A. 1822. *Species algarum*, vol.1, part 2a. Berling, Lund, Sweden. pp. 169–398.
- AGARDH J.G. 1852. *Species genera et ordines algarum. Volumen secundum: algas florideas complectens*, part 3. Gleerup, Lund, Sweden. pp. 701–786.
- BOISSET F., FURNARI G., CORMACI M. & SERIO D. 2000. The distinction between *Chondrophyucus patentirameus* and *C. paniculatus* (Ceramiales, Rhodophyta). *European Journal of Phycology* 35: 387–395.
- BORY DE SAINT-VINCENT J.B.G.M. 1803. *Essais sur les îles Fortunées et l'antique Atlantide, ou précis de l'histoire général de l'archipel des Canaries*. Baudouin, Paris. 522 pp.
- DÍAZ-LARREA J., SENTIES A., FUJII M.T., PEDROCHE F.F. & OLIVEIRA M.C. 2007. Molecular evidence for *Chondrophyucus poiteaui* var. *gemmiferus* comb. et stat. nov. (Ceramiales, Rhodophyta) from the Mexican Caribbean Sea: implications for the taxonomy of the *Laurencia* complex. *Botanica Marina* 50: 250–256.
- FELSENSTEIN J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783–791.
- FORSSKÅL P. 1775. *Flora Aegyptiaco-Arabica*. Copenhagen. 219 pp.
- FRESHWATER D.W. & RUENESS J. 1994. Phylogenetic relationships of some European *Gelidium* (Gelidiales, Rhodophyta) species, based on *rbcL* nucleotide sequence analysis. *Phycologia* 33: 187–194.
- FUJII M.T. & SENTIES A. 2005. Taxonomia do complexo *Laurencia* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) do Brasil, com ênfase nas espécies dos estados de São Paulo e do Espírito Santo. In: *Monografias Ficológicas*. II (Ed. by A. Senties & K.M. Dreckmann), pp. 69–135. Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa, México, Instituto de Botânica de São Paulo, Brasil.
- FUJII M.T., COLLADO-VIDES L. & CORDEIRO-MARINO M. 1996. Morphological studies of *Laurencia gemmifera* and *Laurencia poiteaui* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) from the Nichupté Lagoon System, Quintana Roo, México. *Botanica Marina* 39: 317–326.
- FUJII M.T., GUIMARÃES S.M.P.B., GURGEL C.F.D. & FREDERICO S. 2006. Characterization and phylogenetic affinities of the red alga *Chondrophyucus flagelliferus* (Rhodomelaceae, Ceramiales) from Brazil based on morphological and molecular evidence. *Phycologia* 45: 432–441.
- FURNARI G., CORMACI M. & SERIO D. 2001. The *Laurencia* complex (Rhodophyta, Rhodomelaceae) in the Mediterranean Sea: an overview. *Cryptogamie, Algologie* 22: 331–373.
- GARBARY D.J. & HARPER J.T. 1998. A phylogenetic analysis of the *Laurencia* complex (Rhodomelaceae) of the red algae. *Cryptogamie, Algologie* 19: 185–200.
- GMELIN S.G. 1768. *Historia fucorum*. Academia Scientiarum Petropoli, St. Petersburg. 239 pp.
- GREVILLE R.K. 1830. *Algae Britannicae*. MacLachlan & Stewart, Edinburgh. 218 pp.
- HAROUN R.J. & GIL-RODRIGUEZ M.C. 1995. Reproductive strategies of *Laurencia perforata* (Bory) Montagne (Ceramiales, Rhodomelaceae) in the Canary Islands. *Nova Hedvigia* 61: 269–274.

- HUELSENBECK J.P. & RONQUIST F.R. 2001. MrBayes: Bayesian inference of phylogeny. *Biometrics* 17: 754–755.
- KÜTZING F.T. 1849. *Species algarum*, vol. 6. Lipsiae. 922 pp.
- KÜTZING F.T. 1865. *Tabulae Phycologicae*, vol. 15. Nordhausen. 36 pp.
- LAMOUREUX J.V.F. 1813. Essai sur les genres de la famille des Thallasiophytes non articulées. *Annales du Muséum d'Histoire Naturelle* (Paris) 20: 21–47, 115–139, 267–293.
- LEWIS S., GACESA P., GIL-RODRIGUEZ M.C., VALDÉS F. & FRIAS I. 2008. Molecular systematics of the genus *Laurencia*, *Osmundea* and *Palisada* (Rhodophyta) from the Canary Islands – analysis of rDNA and RUBISCO spacer sequences. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 65: 97–109.
- LIN S.M., FREDERICQ S. & HOMMERSAND M.H. 2001. Systematics of the Delesseriaceae (Ceramiales, Rhodophyta) based on LSU rDNA and *rbcL* sequences, including the Phycodryioideae, subfam. nov. *Journal of Phycology* 37: 881–899.
- MASUDA M., KAWAGUCHI S. & PHANG S.M. 1997. Taxonomic notes on *Laurencia similis* and *L. papillosa* (Ceramiales, Rhodophyta) from the Western Pacific. *Botanica Marina* 40: 229–239.
- MASUDA M., KOGAME K., ARISAWA S. & SUZUKI M. 1998. Morphology and halogenated secondary metabolites of three Gran Canarian species of *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta). *Botanica Marina* 41: 265–277.
- MCIVOR L., MAGGS C.A., GUIRY M.D. & HOMMERSAND M.H. 2002. Phylogenetic analysis of the geographically disjunct genus *Osmundea* Stackhouse (Rhodomelaceae, Rhodophyta). *Constancea* 83.9. Online publication of the Jepson Herbarium, University of California, Berkeley: http://ucjeps.berkeley.edu/constancea/83/mcivor_etal/osmundea.html.
- MONTAGNE C. 1836. Notice sur les plantes cryptogames récemment découvertes en France, contenant aussi l'indication précise des localités de quelques espèces les plus rares de la flore française. *Annales des Sciences Naturelles, Botanique Sér. 2*, 6: 28–36, 321–339.
- MONTAGNE C. 1840. Plantae Cellulaires, Section 4. In: *Histoire Naturelle des Iles Canaries* (Ed. by P.B. Webb & S. Berthelot), vol. 3(2): pp. 1–208. Béthune, Paris.
- NAM K.W. 1999. Morphology of *Chondrophycus undulata* and *C. parvipapillata* and its implications for the taxonomy of the *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta) complex. *European Journal of Phycology* 34: 455–468.
- NAM K.W. 2006. Phylogenetic re-evaluation of the *Laurencia* complex (Rhodophyta) with a description of *L. succulenta* sp. nov. from Korea. *Journal of Applied Phycology* 18: 679–697.
- NAM K.W. 2007. Validation of the generic name *Palisada* (Rhodomelaceae, Rhodophyta). *Algae* 22: 53–55.
- NAM K.W. & SAITO Y. 1991. Anatomical characteristics of *Laurencia papillosa* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) from Guam and Palau. *Micronesica* 24: 87–94.
- NAM K.W. & SAITO Y. 1995. Vegetative and reproductive anatomy of some *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta) species with a description of *L. maris-rubri* sp. nov. from the Red Sea. *Phycologia* 34: 157–165.
- NAM K.W. & SOHN C.H. 1994. *Laurencia kangjaewonii* sp. nov. (Ceramiales, Rhodophyta) from Korea. *Phycologia* 33: 397–403.
- NAM K.W., MAGGS C.A. & GARBARY D.J. 1994. Resurrection of the genus *Osmundea* with an emendation of the generic delineation of *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta). *Phycologia* 33: 384–395.
- NAM K.W., MAGGS C.A., MCIVOR L. & STANHOPE M.J. 2000. Taxonomy and phylogeny of *Osmundea* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) in Atlantic Europe. *Journal of Phycology* 36: 759–772.
- NCBI GENBANK. 2003. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> (1 October 2005).
- POSADA D. & CRANDALL K.A. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14: 817–818.
- RABENHORST L. 1847. *Deutschlands Kryptogamen Flora. Zweiter Band. Zweiter Abteilung: Algen*. Leipzig. 216 pp.
- SAITO Y. 1967. Studies on Japanese species of *Laurencia*, with special reference to their comparative morphology. *Memoirs of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University* 15: 1–81.
- SENTIES A. & DIAZ-LARREA J. 2008. Proposals of *Palisada poiteaui* var. *scemmifera* comb. nov. and *Palisada corallopsis* comb. nov. (Rhodomelaceae, Rhodophyta). *Botanica Marina* 51: 69–70.
- SILVA P., BASSON P.W. & MOE R.L. 1996. *Catalogue of the benthic marine algae of the Indian Ocean*, vol. 79. University of California Press, Berkeley. 1259 pp.
- SWOFFORD D.L. 2002. *PAUP*: phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods), version 4*. Sinauer Associates, Sunderland, MA, USA.
- THOMPSON J.D., HIGGINS D.G. & GIBSON T.J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22: 4673–4680.
- TSUDA R.T. & ABBOTT I.A. 1985. Collecting, handling, preservation, and logistics. In: *Handbook of phycological methods*, Vol. 4. *Ecological field methods: macroalgae* (Ed. by M.M. Littler & D.S. Littler), pp. 67–86. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- WYNNE M.J., SERIO D., CORMACI M. & FURNARI G. 2005. The species of *Chondrophycus* and *Laurencia* (Rhodomelaceae, Ceramiales) occurring in Dhofar, the Sultanate of Oman. *Phycologia* 44: 497–509.
- YAMADA Y. 1931. Notes on *Laurencia*, with special reference to the Japanese species. *University of California Publications in Botany* 16: 185–310.
- ZANARDINI G. 1847. Notizie intorno alle cellulari marine delle lagune e de' litorali di Venezia. *Atti del Reale Istituto Veneto di Scienze, Lettere ed Arti* 6: 185–262.

Received 1 April 2008; accepted 31 October 2008

Associate editor: David Ballantine

LAURENCIA MARILZAE SP. NOV. (CERAMIALES, RHODOPHYTA) FROM THE CANARY ISLANDS, SPAIN, BASED ON MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR EVIDENCE¹

M^a Candelaria Gil-Rodríguez²

Departamento de Biología Vegetal (Botánica), Universidad de La Laguna, 38071 La Laguna, Tenerife, Islas Canarias, Spain

Abel Senties, Jhoana Díaz-Larrea

Departamento de Hidrobiología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, A.P. 55-535, Mexico, D.F. 09340, Mexico

Valéria Cassano

Departamento de Biologia Vegetal, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rua São Francisco Xavier, 524, Maracanã, Rio de Janeiro 20550-013, Brazil

and Mutue Toyota Fujii

Instituto de Botânica, Av. Miguel Estéfano, 3687, 04301-012 São Paulo, Brazil

Laurencia marilzae Gil-Rodríguez, Senties et M.T. Fujii sp. nov. is described based on specimens that have been collected from the Canary Islands. This new species is characterized by distinctive yellow–orange as its natural habitat color, a terete thallus, four pericentral cells per vegetative axial segment, presence of secondary pit-connections between adjacent cortical cells, markedly projecting cortical cells, and also by the presence of *corps en cerise* (one per cell) present in all cells of the thallus (cortical, medullary, including pericentral and axial cells, and trichoblasts). It also has a procarp-bearing segment with five pericentral cells and tetrasporangia that are produced from the third and fourth pericentral cells, which are arranged in a parallel manner in relation to fertile branchlets. The phylogenetic position of this taxon was inferred based on chloroplast-encoded *rbcl* gene sequence analyses. Within the *Laurencia* assemblage, *L. marilzae* formed a distinctive lineage sister to all other *Laurencia* species analyzed. Previously, a large number of unique diterpenes dactylo-melane derivatives were isolated and identified from this taxon. *L. marilzae* is morphologically, genetically, and chemically distinct from all other related species of the *Laurencia* complex described.

Key index words: Canary Islands; *Laurencia marilzae*; molecular phylogeny; Rhodomelaceae; taxonomy

Abbreviations: GTR+I+G, general-time-reversible model of nucleotide proportion of invariable sites and shape parameter of the gamma distribution; MP, maximum parsimony; *rbcl*, LSU of the RUBISCO gene

The taxonomy of the *Laurencia* J. V. Lamour. complex has undergone several major changes, and currently four genera are assigned to this complex. These changes have led to the resurrection of the genus *Osmundea* (Nam et al. 1994), the elevation of subgenus *Chondrophycus* (in Saito 1967) to generic rank (Garbary and Harper 1998) with generic features as defined by Nam (1999), and recently the genus *Palisada* based on Yamada's (1931) section *Palisadae* (Nam 2006, 2007). Eighteen species of the *Laurencia* complex have been recorded from the Canary Islands (Gil-Rodríguez and Haroun 1993, Haroun et al. 2002), representing 72% of the species described from the east Atlantic Ocean coast (Lawson and John 1982, Maggs and Hommersand 1993, Nam et al. 2000, Gil-Rodríguez and Haroun 2002, Neto et al. 2005).

The *Laurencia* complex in the Canary Islands has been studied taxonomically since the beginning of the 19th century (Bory de Saint-Vincent 1803, Montagne 1840, Børgesen 1930, Gil-Rodríguez and Haroun 1992, 1993, Hernández-González and Gil-Rodríguez 1994, Masuda et al. 1998, Schletter et al. 2000, Gil-Rodríguez et al. 2003). Ecological and biogeographical aspects of this complex were studied by a number of authors (Haroun and Prud'homme van Reine 1993, Haroun and Gil-Rodríguez 1995, Gil-Rodríguez and Haroun 2002).

The members of *Laurencia* are well known as they synthesize structurally elaborate halogenated natural products (Martín and Darias 1978, Erickson 1983, Norte et al. 1994, 1996, 1997, 1998, Fernández et al. 2000, 2005, Manríquez et al. 2001, Teixeira 2002). These metabolites play a major role in mediating ecological interactions, such as herbivory (Hay and Fenical 1988, Hay and Steinberg 1992), in which these compounds act as defenses against grazing or

¹Received 7 March 2008. Accepted 27 July 2008.

²Author for correspondence: e-mail mcgil@ull.es.

as deterrents against epibiota, due to antifouling activity (Da Gama et al. 2002).

Recently, a species of *Laurencia* from the Canary Islands drew our attention by its distinctive yellow-orange color, different from any other *Laurencia* species in the area. From this species (as *Laurencia* sp. TFC Phyc. 9860), several new diterpene metabolites, which possess a carbon skeleton named dactylomelane, were isolated and structurally determined (Fernández et al. 2005). Anatomical observations on this material revealed the uncommon occurrence of refractile inclusions (*corps en cerise*) in all cells of the thallus. *Corps en cerise* are believed to be the sites of production and/or accumulation of halogenated metabolites (Howard et al. 1980, Young et al. 1980). Recently, Salgado et al. (2008), by studying the localization of bromo-containing products in *Laurencia obtusa* from Brazil, confirmed that *corps en cerise* are the main bromine location site and, consequently, of the halogenated substances (for taxonomic authors, see Table S1 in the supplementary material).

Based on its new chemical compounds allied with detailed morphological studies and chloroplast-encoded *rbcl* gene sequences, a new species of *Laurencia*, *L. marilzae*, is here proposed.

MATERIALS AND METHODS

Samples of *L. marilzae* were collected intertidally from Punta del Hidalgo (28°34'29" N, 16°19'50" W) and Paraiso Floral (28°07'39" N, 16°46'21" W), Tenerife, Canary Islands, Spain. Previous collections deposited in TFC (Herbario Departamento de Botánica, Universidad de La Laguna, Canary Islands, Spain) were reexamined and included here (Appendix S1 in the supplementary material).

Morphological studies. Anatomical studies were carried out on both fresh specimens and plants fixed in 4% formalin seawater. Sections for microscopic observations were made by hand using a stainless steel razor blade under a Leica MZ12.5 stereoscopic dissection microscope (Wetzlar, Germany) and stained with 0.5% aqueous aniline blue solutions acidified with 1 N HCl (Tsuda and Abbott 1985). Slide preparations were mounted in 80% corn syrup (Karo) (Best Foods, Englewood Cliffs, NJ, USA) after staining for 5–10 min, according to Womersley (1984). Photomicrographs were taken with a Sony W5 digital camera (Tokyo, Japan) coupled to Zeiss Axiophot 2 microscope (Göttingen, Germany). Voucher specimens were deposited in the herbaria TFC, UAMIZ, SP, HRJ. Herbarium abbreviations follow the online *Index Herbariorum* (<http://sciweb.nybg.org/science2/IndexHerbariorum.asp>).

DNA analysis. Samples used for molecular analysis were dried in silica gel. The specimens are shown in Table S1, including their GenBank access numbers.

Total DNA was extracted, after grinding in liquid nitrogen, by using the DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA) according to the manufacturer's instructions. A total of 1,467 base pairs of the *rbcl* gene was amplified in three parts with the primer pairs: FrbcLstart-R753, F577-R1150, and F753-RrbcS (Freshwater and Rueness 1994) by using the master mix of the Bioneer (Daedeok-Gu, Daejeon, Korea) Premix. All PCR products were analyzed by electrophoresis in 1% agarose to check product size. The PCR products were purified with the Qiagen QIAquick purification Kit in accordance with the manufacturer's instructions. Sequencing was carried out

with the BigDye Terminator Cycle Sequencing Reaction Kit (Applied Biosystems, Princeton, NJ, USA) on an "ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer" (Applied Biosystems). The primers used for the sequencing were the same as the ones used for the amplification. The analysis of the sequences was achieved by using the computer program Sequence Navigator (Applied Biosystems).

Phylogenetic analysis. Phylogenetic relationships were inferred with PAUP* 4.0b10 (Swofford 2002) and MrBayes v.3.0 beta 4 (Huelsenbeck and Ronquist 2001). Maximum-parsimony trees (MP) were constructed by using the heuristic search option, tree-bisection-reconnection (TBR) branch swapping, unordered and unweighted characters. Branch length was optimized by using delayed transformation (DELTRAN), which favors parallelisms over reversals. Support values for the relationships discovered in this analysis were calculated by performing bootstrap (Felsenstein 1985) analysis, as implemented in PAUP*. Ten thousand heuristic search replicates were executed by using the TBR branch-swapping algorithm.

The model used in the Bayesian analysis was the general-time-reversible model of nucleotide substitution with Invariant sites and gamma-distributed rates for the variable sites (GTR+I+G). This model was selected based on maximum-likelihood (ML) ratio test implemented by the software Modeltest version 3.06 (Posada and Crandall 1998) with a significance level of 0.01. For the Bayesian analysis, we ran four chains of the Markov chain Monte Carlo (one hot and three cold), sampling 1 tree every 1,000 generations for 3,000,000 generations starting with a random tree. Stationarity was reached at generation 15,800. Therefore, trees saved until generation 15,000 were the "burn in" of the chain, and inferences about the phylogeny were based on those trees sampled after generation 15,000. A 50% consensus tree (majority rule as implemented by PAUP*) was computed after the "burn in" point.

The range of *rbcl* divergence values within and among species was calculated using uncorrected "p" distances using PAUP*.

RESULTS

Laurencia marilzae sp. nov.

Diagnosis: Alga, colore flavo aurantiaco, in naturali habitatione caespites 7 cm altos forman. Axes cylindrici usque ad 1.5 mm in diametro affixi ad substratum basali disco, quamquam etiam adsint parvae auxiliares adhaerentiae, quae oriuntur ex ramis basalibus; thalli cartilaginea structura atque irregulariter pyramidalis ambitu; ramificatio irregularitatem alternam et spiraliter disposita, generatim usque ad 2–3 (4) ordines ramificationis; ultimis rami cylindrici ad clavatos; unum "corps en cerise" in omnibus thalli cellulis, et in cellulis axialibus segmenti et in medullis cellulis; corticalium cellularum parietes valde projectae sunt; in transversali sectione corticales cellulae numquam radiatim elongatae nec paliformes nec cum secundariis connexionibus; medullosae cellulae cum incrassatis uniformiter parietibus, sed sine lenticularibus crassitudinibus; quattuor pericentrales cellulae per vegetativum segmentum axiale; prima cellula pericentralis sub cellula basali trichoblastorum exoriens; segmentum, ferens procarpium, quinque pericentralibus cellulis, quarum quinta sustinens est; cystocarpium maturum forma subconicali cum prominente ostiolo; tetraspo-

rangia in tertia quartaque pericentrali cellul facta, dispositione parallela ramorum fertilium axe. Habitat: frequens in locis valde expositis fluctibus.

Plants yellow–orange color in natural habitat forming tufts up to 7 cm high; terete axes up to 1.5 mm in diameter, arising from a discoid holdfast; smaller auxiliary holdfasts present formed from descending basal branches; thalli cartilaginous in texture, irregularly pyramidal in outline; branching irregularly alternate and spirally arranged, usually with 2–3 (4) orders of branches; ultimate branchlets are cylindrical-clavate; *corps en cerise*, one per cell, present in almost all cells of the thalli, including axial segment and other medullary cells; cortical cell walls markedly projecting; in transverse section, cortical cells neither elongated radially nor arranged as a palisade with secondary pit connections; medullary cells with walls uniformly thickened, but lenticular thickenings are absent; four pericentral cells per vegetative axial segment; procarp-bearing segment with five pericentral cells, the fifth becoming the supporting cell; mature cystocarps subconical without protuberant ostiole; tetrasporangia are produced from third and fourth pericentral cells, in parallel arrangement in relation to fertile branchlets.

Morphology: Plants forming yellow–orange tufts up to 7 cm high (Fig. 1a), with terete axes, cartilaginous in texture, irregularly pyramidal in outline, not adhering to herbarium paper when dried. Thalli attached to the substratum by a discoid holdfast and from descending branches formed from the lower portion of axes, which may attach the thalli secondarily by smaller holdfasts (Fig. 1b). Erect

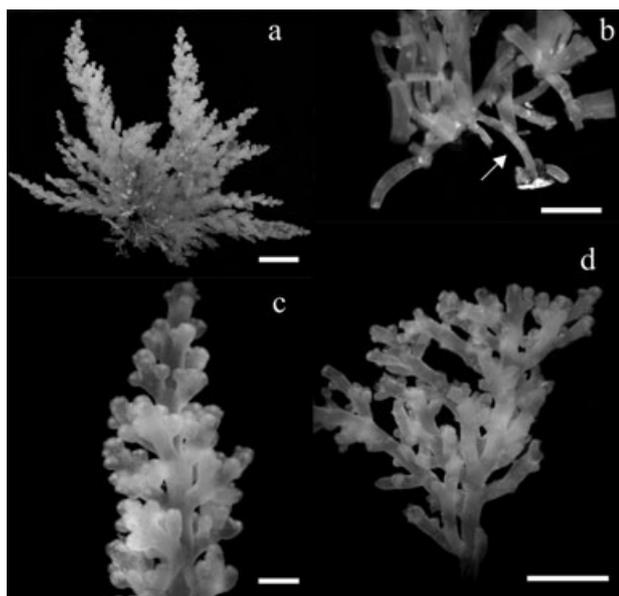


FIG. 1. *Laurencia marilzae* sp. nov. (a) Habit of a plant. Scale bar, 1 cm. (b) Detail of basal portion of the thallus (arrow). Scale bar, 1 mm. (c) Tetrasporangial branches. Scale bar, 2 mm. (d) Female branches. Scale bar, 2 mm.

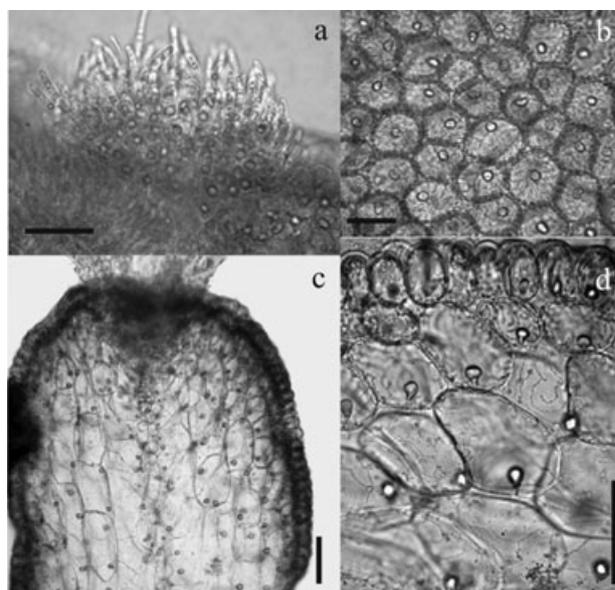


FIG. 2. *Laurencia marilzae* sp. nov. showing a single *corp en cerise* present in all cells of the thallus. (a) Apical region of the branch with abundant trichoblasts; each cell of trichoblast bearing a *corp en cerise*. Scale bar, 20 µm. (b) Cortical cells in superficial view. Scale bar, 50 µm. (c) Longitudinal section of a branch showing *corps en cerise* in cortical and medullary cells. Scale bar, 100 µm. (d) Longitudinal section in detail showing *corps en cerise* in medullary cells. Scale bar, 50 µm.

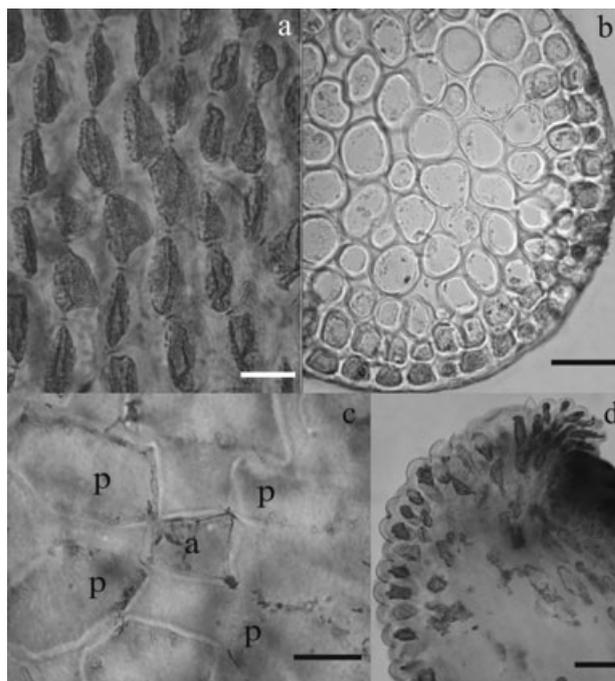


FIG. 3. *Laurencia marilzae* sp. nov. (a) Cortical cells of the middle portion of the thallus in surface view showing secondary pit connections. Scale bar, 20 µm. (b) Transverse section of the thallus. Scale bar, 50 µm. (c) Transverse section of the upper portion of a branch showing an axial cell (a) with four pericentral cells (p). Scale bar, 25 µm. (d) Longitudinal section of a branch showing projecting cortical cells. Scale bar, 40 µm.

branches irregularly alternate and spirally arranged (Fig. 1, c and d), usually with 2–3 (4) orders of branches. The main axes are 740–1,100 μm in diameter in the lower portions of the thalli, 992–1,440 μm in diameter in the middle portions, and 720–1,060 μm in diameter at the apices. First-order branches up to 3 cm long and 800–1,152 μm in diameter bearing simple or compound second-order branches up to 0.4 cm long and 640–850 μm in diameter. Ultimate branchlets cylindrical-clavate, 800–3,680 μm long and 540–820 μm in diameter (Fig. 1, c and d).

Vegetative structures: Trichoblasts are subdichotomously branched to 3 or 4 orders at the apex of each branch. A single *corp en cerise* presents in each cell of the thallus (trichoblasts, cortical and medullary cells, including axial and pericentral cells) (Fig. 2, a–d). In surface view, cortical cells are regularly arranged in longitudinal rows and connected to each other by secondary pit connections (Fig. 3a). Cortical cells are isodiametric-polygonal in the upper portions of the thalli, 22–55 μm long and

28–45 μm wide; longitudinally elongated in the middle portions, 45–90 μm long and 28–53 μm wide; and elongate-polygonal in the lower portions of the thalli, 30–88 μm long and 25–50 μm wide. In transverse section, thalli with one layer of pigmented cortical cells and four or five layers of colorless medullary cells (Fig. 3b). Cortical cells measuring 30–55 μm long and 28–48 μm wide in the middle portions of main branches. Medullary cells are rounded or slightly radially elongated, measuring 75–148 μm long and 40–100 μm wide in the middle portions of the main axes. Medullary cell walls lack lenticular thickenings. Intercellular spaces and secondary cortication are present in the older portions of thalli. Each vegetative axial segment cuts off four pericentral cells (Fig. 3c), which are slightly larger than surrounding medullary cells (Fig. 3b). In median longitudinal section, cortical cells near apices of branchlet project markedly (Fig. 3d).

Reproductive structures: Tetrasporangial branchlets are cylindrical-clavate, simple or compound, measuring 576–3,984 μm long and 528–864 μm in diameter

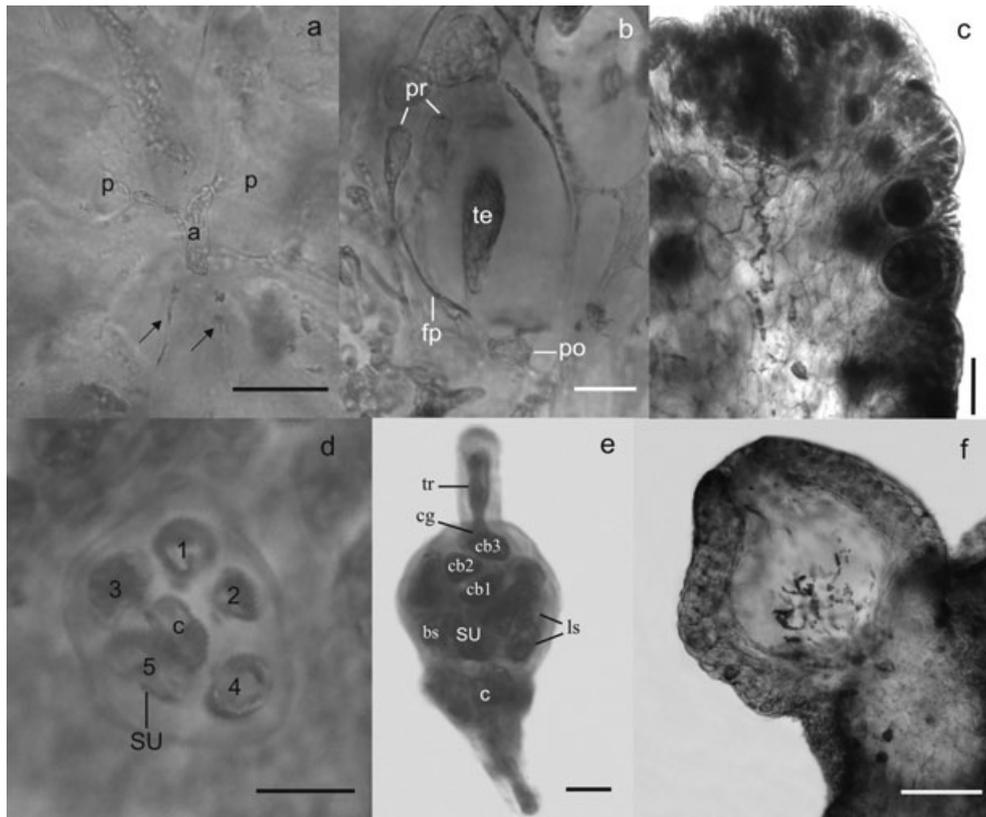


FIG. 4. *Laurencia marilzae* sp. nov. (a) Transverse section near the apex of branchlet showing tetrasporangial axial segment; axial cell (a) with two vegetative pericentral cells (p) and two fertile pericentral cells (arrows). Scale bar, 25 μm . (b) Detail of a fertile pericentral cell (fp) with two presporangial cover cells (pr), the tetrasporangial initial (te), and one postsporangial cover cell (po). Scale bar, 25 μm . (c) Longitudinal section through a tetrasporangial branchlet showing parallel arrangement of the tetrasporangia. Scale bar, 100 μm . (d) Procarp-bearing segment with five pericentral cells, the fourth becoming the supporting cell (su); central cell of procarp-bearing segment (c). Scale, 10 μm . (e) Procarp before fertilization with four-celled carpogonial branch (cb), lateral sterile group (ls), and basal sterile group (bs); carpogonium (cg), trichogyne (tr), supporting cell (su), central cell of procarp-bearing segment (c). Scale bar, 10 μm . (f) Longitudinal section through cystocarp. Scale bar, 200 μm .



FIG. 5. *Laurencia marilzae* sp. nov. thalli in natural habitat growing in the lower intertidal zone, intermingled with other macroalgae.

(Fig. 1c). At the apex of fertile branches, each axial segment produces tetrasporangia from the third and fourth pericentral cells (Fig. 4a). The fertile pericentral cells cutting off two presporangial cover cells distally and the tetrasporangial initial subdistally in abaxial position, and subsequently, one postsporangial cover cell is produced that continues

dividing and contributes to produce the corticating system around the tetrasporangium (Fig. 4b). The presporangial cover cells do not divide and display a transverse-type alignment in relation to the fertile axis in surface view. Tetrasporangia in parallel arrangement in relation to fertile branchlets (Fig. 4c). Mature tetrasporangia are tetrahedrally divided, measuring 65–125 µm in diameter.

In female thalli, the procarp forms with five pericentral cells (Fig. 4d), the fifth becoming the supporting cell of a four-celled carpogonial branch, a trichogyne and two groups of sterile cells (Fig. 4e); it undergoes the typical postfertilization process of *Laurencia*. Carposporangia are clavate, 62–160 µm long and 18–30 µm in diameter. Fully developed cystocarps are subconical without protuberant ostiole, 760–1,060 µm in diameter (Fig. 4f).

Habitat: *L. marilzae* is an annual plant that grows rapidly during winter-spring months and decays in late summer, near lower intertidal zone intermingled with other macroalgae. Plants always occur on overhanging rocks subject to strong wave-action (Fig. 5).

Holotype: Punta del Hidalgo, Northern Tenerife, Canary Islands, Spain, collected on 12.vii.2006 by M. C. Gil-Rodríguez, A. Senties & M. T. Fujii, tetrasporophyte. Deposited in TFC Phyc 13129.

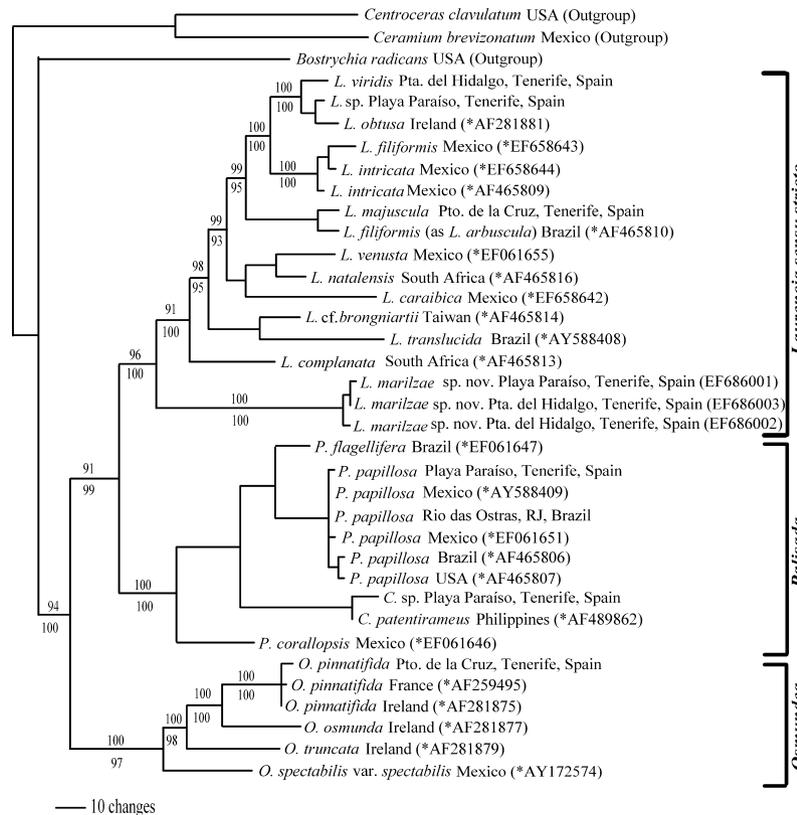


FIG. 6. Phylogenetic relationships of the *Laurencia* complex based on Bayesian analysis of *rbcL* DNA sequences. Fifty percent majority-rule consensus tree sampled after the run reached stationarity at generation 15,800 (total number of generations ran = 3.0×10^6). Evolutionary model used in the Bayesian analysis was the GTR+I+G, selected by a maximum-likelihood ratio test. Bootstrap (above) and Bayesian posterior probabilities (below) values are indicated at the nodes. (*) GenBank sequences.

Isotypes: UAMIZ, SP, HRJ, BM, P, L, BCM, MA.

Etymology: Species named in honor of the late Dr. Marilza Cordeiro-Marino, a Brazilian phycologist of the Instituto de Botânica, for her significant contributions to the knowledge of the *Laurencia* complex.

Molecular analyses: A total of 36 sequences were analyzed including *Ceramium brevizonatum*, *Centroceras clavulatum*, and *Bostrychia radicans* (Montagne) Montagne as outgroups. The topology of majority-rule Bayesian trees is shown in Figure 6.

The analyses show that the *Laurencia* complex is monophyletic with high bootstrap and posterior probabilities values in relation to the members of the outgroups. The *Laurencia* complex was separated into three clades, corresponding to the three genera: *Laurencia*, *Osmundea*, and *Palisada*. In all the analyses, the earliest diverging clade was *Osmundea*, with *Laurencia* and *Palisada* as sister taxa. The clade that corresponded to *Palisada* included five species: three of *Palisada* (*P. corallopsis*, *P. flagellifera*, and *P. papillosa*) and two species of *Chondrophycus* (*C. patentirameus* and *Chondrophycus* sp.), suggesting that these two later species should be transferred to *Palisada*. The clade that corresponded to the genus *Laurencia* included 13 species. *L. marilzae* forms a strongly supported sister clade to all other *Laurencia* species. There is little genetic variation among the samples of this species analyzed (0.06%–0.2%).

DISCUSSION

The presence of four pericentral cells per axial segment, cortical cells with secondary pit connections, and lack of lenticular thickenings place the new species in the section *Laurencia* (Yamada 1931, Saito 1967, Saito and Womersley 1974).

L. marilzae is morphologically close to *L. majuscula* reported for the Mediterranean Sea (Serio et al. 2000, Furnari et al. 2001) and for Sultanate of Oman (Wynne et al. 2005). Both species share the presence of cortical cells that are projected beyond the surface in apical and subapical portions of the thallus and one *corp en cerise* per cell. However, *L. marilzae* possesses *corps in cerise* in all cells of the thallus, while in *L. majuscula* they occur primarily in cortical cells and in the trichoblasts and rarely in medullary cells. The taxon identified as *L. majuscula* from the Canary Islands by Masuda et al. (1998) clearly differs from the present species by having *corps in cerise* only in superficial cortical cells and trichoblasts, being two, three, or four in cortical cells and one in trichoblasts. The DNA sequence obtained from the sample of *L. majuscula* from the Canary Islands supports the distinction between these species. The morphological and chemical comparison among *Laurencia* species reported for the Canary Islands is shown in Table 1.

The genus *Laurencia* produces principally bromine-containing natural metabolites with sesquiterpene skeletons, although there are several examples of bromine diterpenes as well (Erickson 1983).

TABLE 1. Comparison of *Laurencia marilzae* sp. nov. with morphologically related species reported from the Canary Islands, Spain.

Species	Vegetative structure			Tetrasporangia		Female structure		Chemical constituents		References
	Type of attachment	<i>Corps en cerise</i> per cell	Cortical cell walls (projection)	Lenticular thickenings	Tetrasporangia P (position)	Procarp-bearing segment	Cystocarp shape	Major secondary metabolites		
<i>L. intricata</i>	Stolon-like branches	Two-four	Present	Absent	3rd, 4th	With 5P	Ovoid	caespitoid (sesquiterpene)	Nam and Saito (1995), Masuda et al. (1998), Furnari et al. (2001)	
<i>L. majuscula</i>	Discoid holdfast and stolon-like branches	One-four	Present (slight)	Absent	3rd, (2nd), 4th	Unknown	Urceolate	elatol, isoobtusol (sesquiterpenes)	Masuda et al. (1998), Serio et al. (2000), Furnari et al. (2001)	
<i>L. microcladia</i>	Stolon-like branches	One (rarely two or three)	Present	Present	3rd, 4th	Unknown	Urceolate	not available	Martin et al. (1989), Nam et al. (1994), Furnari et al. (2001)	
<i>L. obtusa</i>	Stolon-like branches	One	Absent	Absent	3rd, 4th	With 5P	Ovoid	elatol, obtusol, obtusano, isoobtusol (sesquiterpenes)	Gil-Rodríguez and Haroun (1992), Norte et al. (1994, 1997)	
<i>L. viridis</i>	Stolon-like branches	One	Absent	Absent	Unknown	Unknown	Urceolate	viridiano (sesquiterpene)	Fernández et al. (2005), This study	
<i>L. marilzae</i> sp. nov.	Discoid holdfast and auxiliary holdfasts	One (in all cells of the thallus)	Present (markedly)	Absent	3rd, 4th	With 5P	Subconical	dactyloelane (diterpene)		

P, pericentral cells.

All species show the following characters in common: four pericentral cells per axial segment, cortical cells with secondary pit connections, without palisade-like arrangement, tetrasporangia with parallel arrangement, and spermatangial development of trichoblast-type.

Within *Laurencia* complex, *L. marilzae* is the first example with a large number of diterpenes dactylo-melane derivatives (Fernández et al. 2005). In contrast, four sesquiterpenes were previously reported for *L. majuscula* from different localities. The sesquiterpenes pacifenol and dehydrochloroprepacifenol were isolated from *L. majuscula* from the Mediterranean Sea (Caccamese et al. 1986, 1987), whereas isobtusol and elatol were reported for *L. majuscula* from the Gran Canaria (Masuda et al. 1998), differing from the diterpenes reported for *L. marilzae*.

The interspecific divergence values are comparable to those reported by other authors for the genus *Osmundea*. Nam et al. (2000) estimated divergence percentages which varied from 5% (*O. osmunda* vs. *O. pinnatifida*) to 9% (*O. hybrida* vs. *O. truncata*), and McIvor et al. (2002) recorded values of 2% (*O. blinksii* vs. *O. splendens*) to 9% (*O. blinksii* vs. *O. truncata*). Díaz-Larrea et al. (2007) obtained interspecific divergence values for the species of *Laurencia*, which varied from 6% to 8%, whereas those for *Palisada* (as *Chondrophycus*) varied from 6% to 9%.

L. marilzae formed a distinctive and well-supported clade within the *Laurencia* complex. The high levels of genetic variation between the samples of *L. marilzae* from the rest of *Laurencia* species suggest that this species should be assigned to a new taxon within *Laurencia* sensu stricto. As verified by Nam (2006), our results obtained from the *rbcL* analysis confirm the existence of the *Laurencia* complex as a monophyletic clade including *Palisada*, *Laurencia*, and *Osmundea* separated into clearly defined clades. *Laurencia* and *Palisada* appear as closely related groups, with the separation of the two genera confirmed in our analysis by the presence of four and two periaxial cells per each axial segment, respectively.

This work was supported by the Ministry of Education and Sciences of the Spanish Government (CGL 2007-60635/BOS), and partially by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) Proc. 308426/2006-1, 478941/2006-4 to M. T. F., Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) to V. C., and Secretaría de Educación Pública - PROMEP (P / CA-117 2006-35-52) to A. S. The authors thank G. Furnari, M. Wynne, and G. Zuccarello for criticizing this manuscript and Francisco González Luis (University of La Laguna) for kindly translating the diagnosis into Latin.

Børghesen, F. 1930. Marine algae of the Canary Islands especially from Tenerife and Gran Canaria. Part III. Ceramiales. *Kongel. Danske Vidensk. Selsk. Biol. Medd.* 9:1–159.

Bory de Saint-Vincent, J. B. G. M. 1803. *Essais sur les îles Fortunées et l'antique Atlantide, ou précis de l'histoire general de l'archipel des Canaries*. Baudouin, Paris, 522 pp., 4 pls., 3 maps.

Caccamese, S., Compagnini, A. & Toscano, R. M. 1986. Pacifenol from the Mediterranean red alga *Laurencia majuscula*. *J. Nat. Prod.* 49:173–4.

Caccamese, S., Compagnini, A., Toscano, R. M., Nicolo, F. & Chapuis, G. 1987. A new labile bromoterpenoid from the red alga *Laurencia majuscula*: dehydrochloroprepacifenol. *Tetrahedron* 43:5393–9.

Da Gama, B. A. P., Carvalho, A. G. V., Coutinho, R. & Yoneshigue-Valentin, Y. 2002. The effects of seaweeds metabolites on biofouling. *Biofouling* 18:13–20.

Díaz-Larrea, J., Sentías, A., Fujii, M. T., Pedroche, F. F. & Oliveira, M. C. 2007. Molecular evidence for *Chondrophycus poiteaui* var. *gemmiferus* comb. et stat. nov. (Ceramiales, Rhodophyta) from the Mexican Caribbean Sea: implications for the taxonomy of the *Laurencia* complex. *Bot. Mar.* 50:250–6.

Erickson, K. L. 1983. Constituents of *Laurencia*. In Scheur, P. J. [Ed.] *Marine Natural Products*, vol. 5. Academic Press, New York, pp. 131–257.

Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783–91.

Fernández, J. J., Souto, M. L., Gil, L. V. & Norte, M. 2005. Isolation of naturally occurring dactylo-melane metabolites as *Laurencia* constituents. *Tetrahedron* 61:8910–5.

Fernández, J. J., Souto, M. L. & Norte, M. 2000. Marine polyether triterpenes. *Nat. Prod. Rep.* 17:235–46.

Freshwater, D. W. & Rueness, J. 1994. Phylogenetic relationships of some European *Gelidium* (Gelidiales, Rhodophyta) species, based on *rbcL* nucleotide sequence analysis. *Phycologia* 33:187–94.

Fujii, M. T., Guimaraes, S. M. P. B., Gurgel, C. F. & Fredericq, S. 2006. Characterization and phylogenetic affinities of the red alga *Chondrophycus flagelliferus* (Rhodomelaceae, Ceramiales) from Brazil on the basis of morphological and molecular evidence. *Phycologia* 45:432–41.

Furnari, G., Cormaci, M. & Serio, D. 2001. The *Laurencia* complex (Rhodophyta, Rhodomelaceae) in the Mediterranean Sea: an overview. *Cryptogam. Algal.* 22:331–73.

Garbary, D. J. & Harper, J. T. 1998. A phylogenetic analysis of the *Laurencia* complex (Rhodomelaceae) of the red algae. *Cryptogam. Algal.* 19:185–200.

Gil-Rodríguez, M. C. & Haroun, R. 1992. *Laurencia viridis* sp. nov. (Ceramiales, Rhodomelaceae) from the Macaronesian Archipelagos. *Bot. Mar.* 35:227–37.

Gil-Rodríguez, M. C. & Haroun, R. 1993. The genus *Laurencia* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) in the Canary Islands. *Cour. Forschungsinst. Senckenb.* 159:113–7.

Gil-Rodríguez, M. C. & Haroun, R. 2002. Vegetative and reproductive phenology of *Chondrophycus perforatus* and *Laurencia viridis* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) in Tenerife, Canary Islands. *Constancia* 83.20 [online publication of the Jepson Herbarium, U. C., Berkeley], <http://ucjeps.berkeley.edu/constancia/83/>.

Gil-Rodríguez, M. C., Haroun, R., Ojeda, A., Berecibar, E., Domínguez, P. & Herrera, B. 2003. Protoctistas. In Moro, L., Martín, J. L., Garrido, M. J. & Izquierdo, I. [Eds.] *Lista de especies marinas de Canarias (algas, hongos, plantas y animales)*. Consejería de Política Territorial y Medio Ambiente del Gobierno de Canarias, Tenerife, Canarias, pp. 3–30.

Haroun, R. & Gil-Rodríguez, M. C. 1995. Reproductive strategies of *Laurencia perforata* (Bory) Montagne, (Ceramiales, Rhodomelaceae) in the Canary Islands. *Nova Hedwigia* 61:269–74.

Haroun, R. J., Gil-Rodríguez, M. C., Díaz de Castro, J. & Prud'Homme van Reine, W. F. 2002. A check-list of the marine plants from the Canary Islands (Central Eastern Atlantic Ocean). *Bot. Mar.* 45:139–69.

Haroun, R. & Prud'homme van Reine, W. F. 1993. A biogeographical study of *Laurencia* and *Hypnea* species of the Macaronesian Region. *Cour. Forschungsinst. Senckenb.* 159:119–25.

Hay, M. E. & Fenical, W. 1988. Marine plant herbivore interaction: the ecology of chemical defense. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 19:111–45.

Hay, M. E. & Steinberg, P. D. 1992. The chemical ecology of plant-herbivore interactions in marine versus terrestrial communities. In Rosenthal, J. A. & Berenbaum, M. R. [Eds.] *Herbivores: Their Interaction with Secondary Plant Metabolites, Ecological and Evolutionary Process*, vol. 2. Academic Press, San Diego, pp. 372–408.

Hernández-González, M. C. & Gil-Rodríguez, M. C. 1994. Existence of plants bearing tetrasporangia and spermatangial

- receptacles (mixed phases) in the genus *Laurencia* Lamouroux (Rhodomelaceae). *Nova Hedwigia* 59:189–94.
- Howard, B. M., Nonomura, A. M. & Fenical, W. 1980. Chemotaxonomy in marine algae: secondary metabolite synthesis by *Laurencia* in unialgal culture. *Biochem. Syst. Ecol.* 8:329–36.
- Huelsenbeck, J. P. & Ronquist, F. R. 2001. MrBayes. Bayesian inference of phylogeny. *Biometrics* 17:754–5.
- Lawson, G. W. & John, D. M. 1982. The marine algae and coastal environment of tropical West Africa. *Nova Hedwigia* 70:1–455.
- Lin, S., Fredericq, S. & Hommersand, M. H. 2001. Systematics of the Delesseriaceae (Ceramiales, Rhodophyta) based on LSU rDNA and *rbcl* sequences, including the Phycodryoideae, subfam. nov. *J. Phycol.* 37:881–99.
- Maggs, C. A. & Hommersand, M. H. 1993. *Seaweeds of the British Isles. Volume 1. Rhodophyta. Part 3A. Ceramiales*. Natural History Museum, London, 444 pp.
- Manríquez, C. P., Souto, M. L., Gavín, J. A., Norte, M. & Fernández, J. J. 2001. Several new squalene-derived triterpenes from *Laurencia*. *Tetrahedron* 57:3117–23.
- Martín, J. D., Caballero, P., Fernández, J. J., Norte, M., Rérez, R. & Rodríguez, M. L. 1989. Metabolites from *Laurencia obtusa*. *Phytochemistry* 28:3365–7.
- Martín, J. D. & Darias, J. 1978. Algal sesquiterpenoids. In Scheuer, P. J. [Ed.] *Marine Natural Products, vol. 1*. Academic Press, New York, pp. 125–73.
- Masuda, M., Kogame, K., Arisawa, S. & Suzuki, M. 1998. Morphology and halogenated secondary metabolites of three Gran Canaria species of *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta). *Bot. Mar.* 41:265–77.
- McIvor, L., Maggs, C. A., Guiry, M. D. & Hommersand, M. H. 2002. Phylogenetic analysis of the geographically disjunct genus *Osmundea* Stackhouse (Rhodomelaceae, Rhodophyta). *Constancia* 83.9 [online publication of the Jepson Herbarium, U.C., Berkeley], http://ucjeps.berkeley.edu/constancia/83/mcivor_etal/osmundea.html.
- Montagne, C. 1840. Plantes Cellulaires. In Webb, P. B. & Berthelot, S. [Eds.] (1835–1850). *Histoire Naturelle des îles Canaries. Phytographia Canariensis*. Tomo III (Parte 2, Sección 4). Bethune, Paris, 208 pp.
- Nam, K. W. 1999. Morphology of *Chondrophycus undulatus* and *C. parvipapillata* and its implications for the taxonomy of the *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta) complex. *Eur. J. Phycol.* 34:455–68.
- Nam, K. W. 2006. Phylogenetic re-evaluation of the *Laurencia* complex (Rhodophyta) with a description of *L. succulenta* sp. nov. from Korea. *J. Appl. Phycol.* 18:679–97.
- Nam, K. W. 2007. Validation of the generic name *Palisada* (Rhodomelaceae, Rhodophyta). *Algae* 22:53–5.
- Nam, K. W., Maggs, C. A. & Garbary, D. J. 1994. Resurrection of the genus *Osmundea* with an emendation of the generic delineation of *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta). *Phycologia* 33:384–95.
- Nam, K. W., Maggs, C. A., McIvor, L. & Stanhope, M. J. 2000. Taxonomy and phylogeny of *Osmundea* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) in Atlantic Europe. *J. Phycol.* 36:759–72.
- Nam, K. W. & Saito, Y. 1995. Vegetative and reproductive anatomy of some *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta) species with a description of *L. maris-rubri* sp. nov. from the Red Sea. *Phycologia* 34:157–65.
- Neto, N., Tittley, I. & Raposeiro, P. M. 2005. *Flora marinha do litoral dos Açores*. Secretaria Regional do Ambiente e do Mar. Nova Gráfica, SNESup, San Miguel, Azores, 148 pp.
- Norte, M., Fernández, J. J. & Souto, M. L. 1994. Viridianol, a rearranged sesquiterpene with a novel carbon skeleton from *Laurencia viridis*. *Tetrahedron Lett.* 35:4607–10.
- Norte, M., Fernández, J. J. & Souto, M. L. 1996. Viridiols, two new diterpenes from *Laurencia viridis*. *Nat. Prod. Lett.* 8:263–9.
- Norte, M., Fernández, J. J. & Souto, M. L. 1997. New polyether squalene derivatives from *Laurencia*. *Tetrahedron* 5:4649–54.
- Norte, M., Fernández, J. J. & Souto, M. L. 1998. Evaluation of the cytotoxic activity of polyethers isolated from *Laurencia*. *Bioorg. Med. Chem.* 6:2237–43.
- Posada, D. & Crandall, K. A. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14:817–8.
- Saito, Y. 1967. Studies on Japanese species of *Laurencia*, with special reference to their comparative morphology. *Mem. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 15:1–81.
- Saito, Y. & Womersley, H. B. S. 1974. The southern Australian species of *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta). *Aust. J. Bot.* 22:815–74.
- Salgado, L. T., Viana, N., Andrade, L. R., Leal, R. N., Da Gama, B., Attias, M., Pereira, R. C. & Amado Filho, G. M. 2008. Intracellular storage, transport and exocytosis of halogenated compounds in marine red alga *Laurencia obtusa*. *J. Struct. Biol.* 162:345–55.
- Schnetter, R., Gil-Rodríguez, M. C., Medina, M., Döring, J., Henne, K.-D. & Hernández-González, M. C. 2000. Distinction of gametophytes and tetrasporophytes by microfluorometry in *Osmundea pinnatifida* (Rhodophyta) from Canary Islands. *Phycologia* 39:147–52.
- Serio, D., Cormaci, M. & Furnari, G. 2000. *Laurencia majuscula* (Harvey) Lucas (Rhodophyta, Rhodomelaceae): a little known, but probably widely distributed species in the Mediterranean Sea. *Biol. Mar. Mediterranea* 7:737–40.
- Swofford, D. L. 2002. *PAUP. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods)*. Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Teixeira, V. T. 2002. Produtos naturais marinhos. In Pereira, R. C. & Soares-Gomes, A. [Eds.] *Biologia Marinha*. Interciência, Engenho Novo, pp. 249–79.
- Tsuda, R. T. & Abbott, I. A. 1985. Collecting, handling, preservation and logistics. In Littler, M. M. & Littler, D. S. [Eds.] *Handbook of Phycological Methods, Ecological Field Methods: Macroalgae, vol. IV*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 67–86.
- Womersley, H. B. S. 1984. *The Marine Benthic Flora of Southern Australia. Part I*. Government Printer, South Australia, Adelaide, 329 pp., 102 figs., 16 plates.
- Wynne, M. J., Serio, D., Cormaci, M. & Furnari, G. 2005. The species of *Chondrophycus* and *Laurencia* (Rhodomelaceae, Ceramiales) occurring in Dhofar, the Sultanate of Oman. *Phycologia* 44:497–509.
- Yamada, Y. 1931. Notes on *Laurencia*, with special reference to the Japanese species. *Univ. Calif. Publ. Bot.* 16:185–310.
- Young, D. N., Howard, B. M. & Fenical, W. 1980. Subcellular localization of brominated secondary metabolites in the red alga *Laurencia snyderae*. *J. Phycol.* 16:182–5.

Supplementary Material

The following supplementary material is available for this article:

Table S1. Samples used for the phylogenetic analysis.

Appendix S1. Specimens examined morphologically.

This material is available as part of the online article.

Please note: Wiley-Blackwell are not responsible for the content or functionality of any supplementary materials supplied by the authors. Any queries (other than missing material) should be directed to the corresponding author for the article.



Palisada perforata (Rhodomelaceae, Ceramiales) en el Caribe mexicano

Palisada perforata (Rhodomelaceae, Ceramiales) from the Mexican Caribbean

Abel Sentíes G.^{1*}, Jhoana Díaz-Larrea¹, Valéria Cassano², M^a. Candelaria Gil-Rodríguez³ y Mutue T. Fujii⁴

¹Departamento de Hidrobiología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Apartado postal 55-535, 09340 México, D. F., México.

²Departamento de Biología Vegetal, Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Maracanã, 20550-013 RJ, Brasil.

³Departamento de Biología Vegetal (Botánica), Universidad de La Laguna. 38071 La Laguna, Tenerife, España.

⁴Instituto de Botânica, Seção Ficologia. Caixa postal 3005, 01061-970 São Paulo, Brasil.

* Correspondencia: asg@xanum.uam.mx

Resumen. *Palisada perforata* fue originalmente descrita para el litoral de Tenerife (islas Canarias, España), está ampliamente distribuida en el océano Atlántico oriental en la zona tropical y subtropical, mientras que en el lado occidental sólo está registrada como dudosa en Venezuela y Brasil. Además de las características típicas del género, esta especie presenta un crecimiento cespitoso con ejes decumbentes y arqueados y ramificación unilateral. En el presente trabajo los autores aportan por primera vez una descripción concisa de las estructuras vegetativas y tetraspóricas y se amplía la distribución geográfica de *P. perforata* con un nuevo registro en el Caribe mexicano.

Palabras clave: *Palisada*, morfología, *Laurencia* sensu lato, Rhodophyta, taxonomía.

Abstract. *Palisada perforata* was originally described from Tenerife (Canary Islands, Spain). This species has a wide distribution in tropical and subtropical zones of the Eastern Atlantic Ocean, but in the Western Atlantic there is only a doubtful record for Venezuela and Brazil. This species presents all typical features of the genus *Palisada*, being characterized by turf-like growth, the presence of arcuate and decumbent branches with erect branches disposed unilaterally. In the present paper we provide a detailed description of the vegetative and tetrasporangial structures. The geographical distribution of *P. perforata* in the Western Atlantic ocean was amplified with a new record in the Mexican Caribbean.

Key words: *Palisada*, morphology, *Laurencia* sensu lato, Rhodophyta, taxonomy.

Introducción

En las últimas 2 décadas el sistema de clasificación del complejo *Laurencia* J.V. Lamouroux ha tenido cambios significativos, entre los que destacan la resurrección del género *Osmundea* Stackhouse (Nam et al., 1994); la elevación del subgénero *Chondrophyucus* Tokida et Saito in Saito (1967) a nivel genérico (Garbary y Harper, 1998); el establecimiento reciente del género *Palisada* K.W. Nam (Nam, 2007); modificaciones nomenclaturales, registros nuevos y la creación de nuevas especies (Wynne y Ballantine, 1991; Gil-Rodríguez y Haroun, 1992; Cordeiro-Marino et al., 1994; Ballantine y Aponte, 1995; Fujii y Cordeiro-Marino, 1996; Furnari et al., 2002; Cassano et al., 2006; Fujii et al., 2006, entre otros).

En la actualidad, el complejo *Laurencia* lo integran los géneros: *Laurencia* sensu stricto J.V. Lamouroux, *Osmundea*, *Chondrophyucus* y *Palisada*. Las diferencias

básicas entre ellos, son: el número de células pericentrales por cada segmento axial vegetativo, el origen de los tetrasporángios, la posición de la primera célula pericentral en relación al tricoblasto, presencia y ausencia de fertilidad de la segunda célula pericentral, número de células pericentrales estériles en el segmento tetrasporangial, el origen y tipo de ramas espermatangiales y el número de células pericentrales en el segmento que origina el procarpo (Nam et al., 1994; Nam, 1999, 2006, 2007; Furnari et al., 2001).

Alrededor de 15 especies de *Laurencia* sensu lato han sido registradas en el Caribe mexicano (Sentíes y Fujii, 2002); no obstante, en esta región sólo *L. venusta* Yamada (Sentíes et al., 2001), *Chondrophyucus gemmiferus* (Harvey) Garbary et J. Harper y *C. poiteaui* (J.V.Lamour.) K.W. Nam (como *Laurencia gemmifera* y *L. poiteaui*, respectivamente; Fujii et al., 1996) han sido caracterizadas adecuada y ampliamente en términos morfológicos. Recientemente, Díaz-Larrea et al. (2007) y Sentíes y Díaz-Larrea (2008) realizaron estudios moleculares en el complejo *Laurencia*

en el Caribe mexicano proponiendo la combinación de *Palisada poiteaui* (J.V. Lamouroux) K.W. Nam var. *gemmifera* (Harvey) Sentíes, Fujii et Díaz-Larrea.

Con la reciente propuesta de elevación de la sección *Palisadae* al nivel genérico, las especies (9 en total) del género *Chondrophyucus* registradas para el Atlántico occidental (Wynne 2005) fueron trasladadas a *Palisada* por ajustarse claramente con los caracteres morfológicos, por lo que las 4 especies de *Chondrophyucus* (Sentíes y Fujii, 2002) registradas en el Caribe mexicano pertenecen ahora a *Palisada*.

La combinación de *P. perforata* (Bory) K.W.Nam la estableció Nam (2007); sin embargo, desde que fue descrita por primera vez como *Fucus perforatus* (Bory 1803), no se incluyeron detalles de su morfología, principalmente la reproductiva. Es por ello que en este trabajo se hace un análisis detallado de su morfología vegetativa y reproductiva (tetrasporangial), se compara y amplía su distribución y se establece este nuevo registro para la región tropical del Atlántico occidental, específicamente en el Caribe mexicano.

Materiales y métodos

Se recolectaron manualmente ejemplares de *Palisada perforata* (febrero 2006 y marzo 2007), en el lado oriental de isla Mujeres, Quintana Roo, México (21° 12'07.79" N 86°42'40.64" O). Los ejemplares frescos y de herbario se fijaron y preservaron en formalina con agua de mar al 4%. Los cortes anatómicos fueron hechos a mano usando una navaja de rasurar bajo el microscopio estereocópico, colocando para su coloración una solución acuosa con azul de anilina al 0.5%, acidificada con HCl 1N (Tsuda y Abbott, 1985). Las medidas celulares se dan en largo por ancho. La figura a línea se elaboró con una cámara clara adaptada a un microscopio Nikon Eclipse E200 (Tokyo, Japón) y las fotomicrográficas se tomaron utilizando una cámara digital Sony W5 (Tokyo, Japón) acoplada a un microscopio Nikon.

En cada recolecta fueron examinados entre 5 y 10 ejemplares y se depositaron en el Herbario Metropolitano de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (UAMIZ), México (Holmgren et al., 1990). Asimismo, se analizaron ejemplares de Brasil con la intención de comparar material de la región del Atlántico occidental.

Descripción

Palisada perforata (Bory) K. W. Nam, 2007. *Algae* 2007, vol. 22, p. 54 (Figs. 1-11)

Basiónimo. *Fucus perforatus* Bory (1803), *Essai sur les îles Fortunées*, vol. 1. pl 5, p. 505, Pl. 5, f. 1, B.C. excl. A.

Laurencia perforata (Bory) Montagne (1840, p. 155)

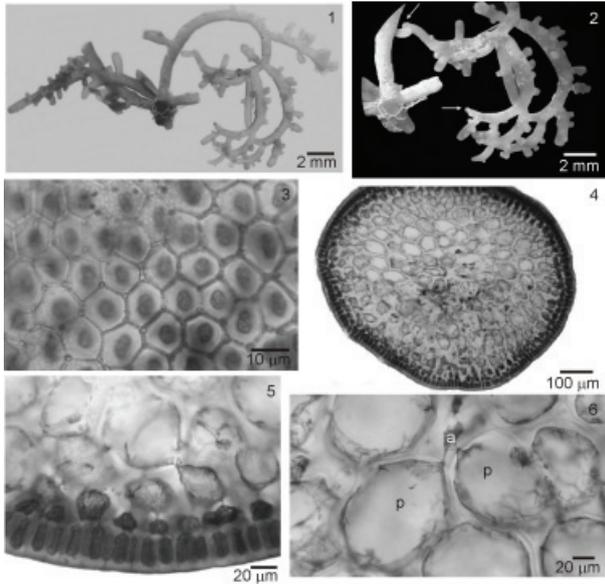
Chondrophyucus perforatus (Bory) K.W. Nam (1999, p. 463)

Localidad tipo. Tenerife, Islas Canarias, España.

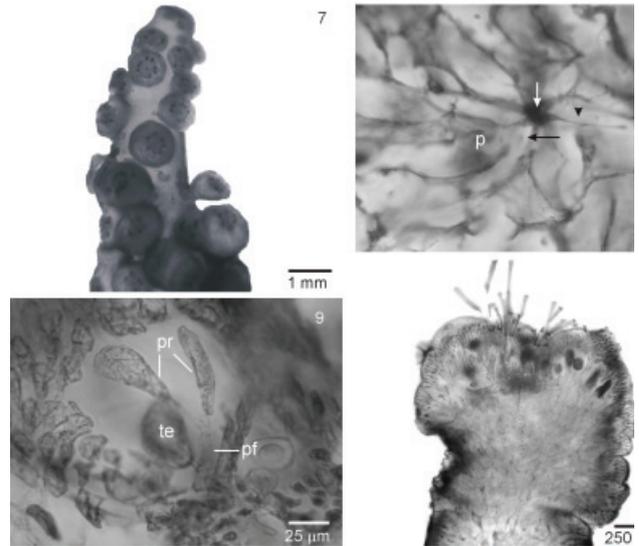
Morfología y anatomía vegetativa. Plantas perennes formando densos tufo o alfombras sobre las rocas, con 1-5 cm de altura, adheridas al sustrato por un conjunto de pies discoidales asociados a ramas laterales basales. Color marrón-violeta, consistencia cartilaginosa rígida, no adhiriéndose al papel de herbario cuando están secas. Los ejes pueden ser erectos o arqueados y decumbentes, con ramificación muy comúnmente unilateral, alterna o irregular, con 3, eventualmente con 4 órdenes de ramificación (Fig. 1). Las ramas claviformes con tricoblastos hialinos. Algunos de los ejemplares examinados muestran anastomosis en las ramas, las cuales están interconectadas por medio de pequeños discos basales secundarios que salen de los ápices de las ramas cuando convergen con otras ramas. Algunas ramas arqueadas desarrollan proliferaciones rizoidales que forman a su vez nuevos discos secundarios (Fig. 2). Ejes principales con diámetro entre 500-875 (1 040) µm.

En vista superficial del talo, células epidérmicas dispuestas uniformemente en toda la planta, poligonales, isodiamétricas a ligeramente alargadas radialmente, con 31-53 x 16-42 µm. Uniones secundarias entre las células epidérmicas adyacentes ausentes (Fig. 3). En corte transversal del talo, 1 o 2 capas de células epidérmicas pigmentadas y de 4 a 5 capas de células medulares (Fig. 4). Células epidérmicas externas de cuadráticas a rectangulares y dispuestas en empalizada, con 24-35 x 19-25 µm (Fig. 5). Región medular con células incoloras, de pared gruesa, redondas o ligeramente alargadas, disminuyendo gradualmente de tamaño en dirección al centro del talo. Eje vegetativo con 2 células pericentrales por segmento axial, redondeadas, un poco alargadas, con 68-112 x 51-80 µm (Fig. 6). Engrosamientos lenticulares ausentes. En corte longitudinal del talo, paredes de las células epidérmicas próximas al ápice no proyectadas.

Morfología reproductiva. Ramas tetrasporofíticas cortas, papiliformes, 0.5-2.0 mm x 930-1140 µm (Fig. 7). En el ápice de la rama fértil, cada segmento axial produce una célula pericentral adicional en la posición opuesta a las otras 2 preexistentes. De éstas, la segunda y tercera células son fértiles, la primera permanece vegetativa (Figs. 8 y 11). Cada célula pericentral fértil produce 2 células de cobertura pre-esporangiales, la inicial del tetrasporangio y una célula post-esporangial (Figs. 9 y 11). En vista superficial, las células de cobertura pre-esporangiales están alineadas



Figuras 1-6. Talo vegetativo de *Palisada perforata* (UAMIZ-1040). 1, hábito de ejemplar del Caribe mexicano mostrando ramas arqueadas y decumbentes con ramificación unilateral. 2, Detalle de la base mostrando ramas arqueadas con fijación secundaria (flechas). 3, Vista superficial del talo mostrando ausencia de uniones secundarias entre las células epidérmicas adyacentes. 4, Corte transversal del talo. 5, Corte transversal con células epidérmicas dispuestas en empalizada. 6, Detalle de corte transversal que muestra 2 células pericentrales (p) que se originan de la célula axial (a).



Figuras 7-10. Talo tetrasporofítico de *Palisada perforata* (UAMIZ-1041). 7, Rama tetrasporangial apical. 8, Corte transversal mostrando célula axial (flecha blanca) y células pericentrales (flechas negras); la primera permanece vegetativa (p); la segunda pericentral pre-existente esta fértil (flecha) y una tercera pericentral adicional fértil es formada en la posición opuesta (cabeza de flecha). 9, Corte transversal mostrando célula pericentral fértil (pf) con 2 células de cobertura pre-esporangiales (pr) y la inicial del tetrasporangio (te). 10, Corte longitudinal mostrando los tetrasporangios dispuestos en ángulo recto.

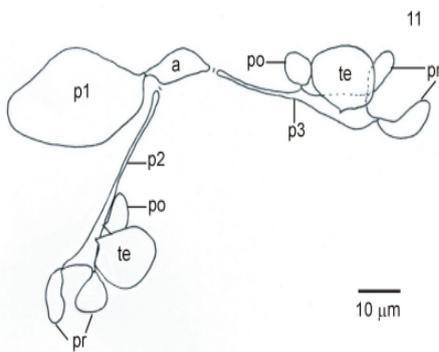


Figura 11. Esquema de corte transversal próximo al ápice de una rama tetrasporangial, mostrando célula axial (a) y 3 células pericentrales, la primera permanece vegetativa (p1), la segunda (pre-existente) y tercera (adicional) están fértiles (p2 y p3), portando cada una, la inicial del tetrasporangio (te), 2 células de cobertura pre-esporangiales (pr) y 1 post-esporangial (po).

transversalmente en relación con el eje de la rama fértil y permanecen no divididas. La célula de cobertura pos-esporangial se divide varias veces y contribuye al sistema de corticación del talo. Tetrasporangios tetrahédricamente divididos, 80-120 x 60-100 µm dispuestos radialmente en la rama, en arreglo del tipo ángulo recto (Figs. 7 y 10).

Hábitat. Crece formando densas alfombras en la región intermareal, sobre sustratos rocosos en zonas sometidas a periodos prolongados de desecación durante la marea baja y en lugares con oleaje moderado.

Material examinado. (A. Sentíes, 19.II.2006, UAMIZ-1040) (A. Sentíes y MC Gil-Rodríguez, 02.III.2007, talo tetraspórico, UAMIZ-1041). **Material adicional.** Herbario BM (E. Bourgeau-Planta Canariensis, Tenerife, 1845. Isotypus # 1193); Herbario de Leiden (Montagne, Canarias, 1839. Herb. Lugd. bat n° 941 99....104), Herbario de la Facultad de Biología de la Universidad de La Laguna, Tenerife (M. López Hernández, 12.VII.1979, Dupl. Phyc. TFC 2006; MC Gil-Rodríguez, 20.V.1984, Phyc. TFC 2886; MC Gil-Rodríguez 8.II.2007, Dupl. Phyc. TFC 13148) y Herbario del Jardín Botánico de Río de Janeiro

(V. Cassano, 30.XII.2005, talo tetraspórico, HRJ 10840, SP 371.774; V. Cassano, 3.VIII.2005, talo tetraspórico, HRJ 10839, SP 371.777).

Distribución mundial. Esta especie se encuentra ampliamente distribuida. Se tienen registros en los siguientes océanos y países: Atlántico oriental: islas Azores (Portugal), islas Canarias (España), Gabon, Gambia, São Tomé (África occidental). Atlántico occidental: México (Caribe). Pacífico: Japón, Vietnam, Micronesia. Índico: India, Kenya, Madagascar, Sri Lanka, Tanzania. Mediterráneo: Francia, Italia. (Guiry y Guiry, 2006).

Discusión

Palisada perforata fue establecida por Bory (1803) como *Fucus perforatus*, basándose en ejemplares de las Islas Canarias, España, caracterizada principalmente por su crecimiento cespitoso con ejes arqueados y decumbentes y ramificación unilateral. Esta especie se incluye dentro de *Palisada* por la presencia de 2 células pericentrales en cada segmento axial vegetativo, tetrasporangios producidos a partir de células pericentrales particulares y eje tetrasporangial con una célula pericentral estéril y la segunda pericentral siempre fértil (Nam, 2006). Además pertenece al subgénero *Palisada* (Yamada) Nam, por la ausencia de uniones intercelulares secundarias entre las células epidérmicas, una célula pericentral estéril en los segmentos axiales de los tetrasporangios y el arreglo en ángulo recto de los mismos. Finalmente, se incorpora en la sección *Palisadae* Nam por la presencia de las células epidérmicas en forma de empalizada en corte transversal (Nam, 1999).

Siguiendo la descripción original de Bory (1803), complementada con los atributos analizados por Yamada (1931) y algunos caracteres morfológicos adicionales de Montagne (1840), Nam (1999), Haroun y Gil-Rodríguez (1995) y Gil-Rodríguez y Haroun (2002), los ejemplares recolectados en isla Mujeres, Caribe mexicano, fueron identificados como *P. perforata*. Estas plantas concuerdan completamente con los ejemplares de la localidad tipo. Asimismo, la comparación con los ejemplares de Brasil permitió discernir que se trata de la misma especie presente en las costas del Atlántico occidental.

La opinión de Yamada (1931) acerca de la identidad del tipo de *Fucus perforatus* de Bory, queda en un contexto superfluo sobre los 3 caracteres que definen esta especie (células epidérmicas alargadas radialmente y dispuestas en empalizada en corte transversal, no proyectadas en vista superficial y la ausencia de engrosamientos lenticulares en las paredes de las células medulares). Sin embargo, concuerdan y se complementan con las descripciones

posteriores y con el material de la localidad tipo recolectado por Montagne (1840), por lo que la descripción de esta especie se ha ido ampliando con caracteres morfológicos, principalmente. En este contexto, es ésta la primera vez que se describen detalladamente los atributos tetrasporangiales.

La ausencia de estructuras reproductivas gametangiales en este estudio confirma la aseveración de Haroun y Gil-Rodríguez (1995), quienes en un trabajo sobre las estrategias reproductivas de *Laurencia perforata* afirman que el proceso de propagación vegetativa es común en esta especie, sobre todo cuando las poblaciones se expresan en lugares expuestos al oleaje.

Palisada perforata es una representante típica de aguas tropicales y subtropicales, con amplia distribución (Gil-Rodríguez y Afonso-Carrillo, 1980; Lawson y John, 1982; Silva et al., 1996; Wynne, 2005). Los únicos registros de este taxón en el Atlántico occidental han sido en Venezuela, como registro dudoso, (Lemus, 1984) y en algunos estados de Brasil (Oliveira-Filho, 1969; Pedrini, 1980; Cocentino, 1994; Nunes, 1998). Sin embargo, la presencia de *P. perforata* en Brasil se ha considerado incierta, debido a la plasticidad de su hábito que en ocasiones hace que se confunda con *P. papillosa* (C. Agardh) K.W. Nam. Estas especies sólo se diferencian por estructuras externas, concretamente por la presencia de ramas arqueadas y decumbentes y por la ramificación unilateral en *P. perforata* (Fujii y Sentíes, 2005), dejando la posibilidad de que estos taxones sean coespecíficos. Estudios futuros más intensivos, contemplando datos moleculares, revelarán la posición taxonómica de esta especie.

Agradecimientos

A Kurt M. Dreckmann, por las sugerencias y críticas al artículo y al Dr. Santiago Gómez, de la Universidad Central de Venezuela, por el envío de literatura. Esta investigación se realizó con financiamiento parcial del proyecto "Macroalgas marinas tropicales" de la División de CBS-UAMI, PROMEP-SEP (P/CA-117 2006-35-52) y del Ministerio de Educación y Ciencia de España (CGL 2007-60635/BOS). MTF agradece a CNP pela Bolsa de Produtividade em Pesquisa.-traducir al castellano

Literatura citada

- Ballantine, D.L. y N. E. Aponte. 1995. *Laurencia coelenterata* (Rhodomelaceae, Rhodophyta), a new diminutive species from the Dry Tortugas, Florida. *Botanica Marina* 38:417-421.
- Bory de Saint-Vincent, J.BGM. 1803. *Essai sur les îles Fortunées*

- et l'antique Atlantide ou précis de l'histoire général de l'Archipel des Canaries, Paris. 522 p.
- Cassano, V., M.T. M. Szechy y M.T. Fujii. 2006. *Laurencia caduciramulosa* (Ceramiales, Rhodophyta) from Ilha Grande Bay, Rio de Janeiro, Brazil: a recent introduction into the Atlantic Ocean?. *Cryptogamie, Algologie* 27:265-277.
- Cocentino, A.L.M. 1994. Família Rhodomelaceae (Ceramiales Rhodophyta) na praia de Serrambi – Ipojuca – PE – Brasil. Dissertação de mestrado, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 193 p.
- Cordeiro-Marino, M., M.T. Fujii y F. Pinheiro-Joventino. 1994. Morphological and cytological studies of *Laurencia furcata* Cordeiro-Marino and Fujii (Rhodophyta, Rhodomelaceae): a new species from Brazil. *Cryptogamic Botany* 4:373-380.
- Díaz-Larrea, J., A. Sentíes, M.T. Fujii, F.F. Pedroche y M. C. Oliveira. 2007. Molecular evidence for *Chondrophyucus poiteaui* var. *gemmiferus* comb. et stat. nov. (Ceramiales, Rhodophyta) from the Mexican Caribbean Sea: implications for the taxonomy of the *Laurencia* complex. *Botanica Marina* 50:50-256.
- Fujii, T.M. y A. Sentíes, G. 2005. Taxonomia do complexo *Laurencia* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) do Brasil, com ênfase nas espécies dos estados de São Paulo e do Espírito Santo. In *Monografías ficológicas*, vol. II, A. Sentíes G. y K. M. Dreckmann, (eds.) Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa/Red Latinoamericana de Botánica, México, D. F. p. 69-135.
- Fujii, M. T. y M. Cordeiro-Marino. 1996. *Laurencia translucida* sp. nov. (Ceramiales, Rhodophyta) from Brazil. *Phycologia* 35:542-549.
- Fujii M.T., L. Collado-Vides y M. Cordeiro-Marino. 1996. Morphological studies of *Laurencia gemmifera* and *Laurencia poiteaui* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) from the Nichupté Lagoon System, Quintana Roo, Mexico. *Botanica Marina* 39:317-326.
- Fujii, M. T., S. M. P. B. Guimarães, C. F. D. Gurgel y S. Fredericq. 2006. Characterization and phylogenetic affinities of the alga *Chondrophyucus flagelliferus* (Rhodomelaceae, Ceramiales) from Brazil on the basis of morphological and molecular evidence. *Phycologia* 45:432-441.
- Furnari G., F. Boissett., M. Cormaci y D. Serio. 2002. Characterization of *Chondrophyucus tenerrimus* (Cremades) comb. nov. (Ceramiales, Rhodophyta), a species often misidentified as *C. papillosus* (C. Agardh) Garbary & J. Harper in the Mediterranean Sea. *Cryptogamie, Algologie* 23:223-235.
- Furnari G., M. Cormaci y D. Serio. 2001. The *Laurencia* complex (Rhodophyta, Rhodomelaceae) in the Mediterranean Sea: an overview. *Cryptogamie, Algologie* 22:331-373.
- Garbary D. J. y J.T. Harper. 1998. A phylogenetic analysis of the *Laurencia* complex (Rhodomelaceae) of the red algae. *Cryptogamie, Algologie* 19:185-200.
- Gil-Rodríguez, M. C. y J. Afonso-Carrillo. 1980. Catálogo de algas marinas bentónicas (Cyanophyta, Chlorophyta, Phaeophyta y Rhodophyta) para el Archipiélago Canario. Aula de Cultura de Tenerife, Santa Cruz de Tenerife. 47 p.
- Gil-Rodríguez, M. C. y R. Haroun. 2002. Vegetative and reproductive phenology of *Chondrophyucus perforatus* and *Laurencia viridis* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) in Tenerife, Canary Islands. *Constancea* 83.20, 15 pág. University of California Electronic Publications in Botany. (<http://ucjeps.berkeley.edu/constancea/83/>). FECHA CONSULTA??
- Guiry, M. D. y G. M. Guiry. 2006. AlgaeBase version 4.2. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algabase.org> FECHA CONSULTA??
- Haroun, R. J. y M. C. Gil-Rodríguez. 1995. Reproductive strategies of *Laurencia perforata* (Bory) Montagne (Ceramiales, Rhodomelaceae) in the Canary Islands. *Nova Hedwigia* 61: 269-274.
- Holmgren, P. K., W. H. Holmgren y L.C. Barnett. 1990. Index herbariorum (Regnum vegetabile, vol. 120), part I: The herbaria of the world. New York Botanical Garden, New York. 693 p.
- Lawson, G. W. y D. M. John. 1982. The marine algae and coastal environment of tropical West Africa. *Nova Hedwigia* 70:1-455.
- Lemus, C. A. J. 1984. Las algas marinas del golfo de Paria, Venezuela. II. Rhodophyta. *Boletín del Instituto Oceanográfico, Universidad de Oriente, Cumaná* 23:55-112.
- Montagne, C. 1840. Plantes cellulaires. In *Historie Naturelle des Iles Canaries*, t. III (parte 2, secc. 4), P. B. Webb y S. Berthelot, Paris. 208 p.
- Nam, K. W. 1999. Morphology of *Chondrophyucus undulata* and *C. parvipapillata* and its implications for the taxonomy of the *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta) complex. *European Journal of Phycology* 34:455-468.
- Nam, K. W. 2006. Phylogenetic re-evaluation of the *Laurencia* complex (Rhodophyta) with a description of *L. succulenta* sp. nov. from Korea. *Journal of Applied Phycology* 18:679-697.
- Nam, K. W. 2007. Validation of the generic name *Palisada* (Rhodomelaceae, Rhodophyta). *Algae* 22:53-55.
- Nam, K. W., C. A. Maggs y D. J. Garbary. 1994. Resurrection of the genus *Osmundea* with an emendation of the generic delineation of *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta). *Phycologia* 33:384-395.
- Nunes, J. M. de C. 1998. Marine benthic rhodophytes of Salvador oceanic fringe, Bahia State, Brazil. *Insula (Florianópolis)* 27:27-37.
- Oliveira-Filho, E. C. 1969. Algas marinhas do sul do Espírito Santo (Brasil) I. Ceramiales. *Boletim de Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras. Universidade de São Paulo, São Paulo*. 407 p.
- Pedrini, A. G. 1980. Algas marinhas bentônicas da Baía de Sepetiba e arredores (Rio de Janeiro). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 397 p.
- Sentíes, G. A. y M. T. Fujii. 2002. El complejo *Laurencia* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) en el Caribe mexicano. In *Monografías Ficológicas*, vol. I, A. Sentíes G. y K. M. Dreckmann (eds.). Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa/ Red Latinoamericana de Botánica. México, D. F. p. 121-192.
- Sentíes, G., A., M. T. Fujii y D. Rodríguez. 2001. *Laurencia venusta* (Ceramiales, Rhodophyta): a new record from the

- Atlantic Ocean. *Botanica Marina* 44:95-99.
- Senties, A. y J. Díaz-Larrea. 2008. Proposals of *Palisada poiteaui* var. *gemmifera* comb. nov. and *Palisada corallopsis* comb. nov. (Rhodomelaceae, Rhodophyta). *Botanica Marina* 51:69-70.
- Silva, P., P.W. Basson y R.L. Moe. 1996. *Catalogue of the Benthic Marine Algae of the Indian Ocean*. vol. 79. University of California Press, Berkeley, 1259 p.
- Tsuda, R.T. y I.A. Abbott. 1985. Collecting, Handling, Preservation, and Logistics. In *Handbook of Phycological Methods*, vol. IV. Ecological Field Methods: Macroalgae, M. M. Littler y D. S. Littler (eds.). Cambridge University Press, Cambridge. p. 67-86
- Wynne, M.J. 2005. A checklist of benthic marine algae of the tropical and subtropical western Atlantic: second revision. *Nova Hedwigia* 129:1-152.
- Wynne, M.J. y D.L. Ballantine. 1991. *Laurencia iridescens* sp. nov. Rhodomelaceae, Ceramiales) from the Caribbean Sea. *Phycologia* 30:394-401.
- Yamada, Y. 1931. Notes on *Laurencia*, with special reference to the Japanese species. *University of California Publications in Botany* 16:185-310.